



2019 Том / Volume VII

№ 6

Научно-практический журнал
Scientific and Practical Journal

ISSN 2307-9266
e-ISSN 2413-2241

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACY & PHARMACOLOGY



Обзоры, лекции
Reviews, Lectures

Фармакогнозия, ботаника
Pharmacognosy, Botany

**Фармацевтическая технология
и биотехнология**
Pharmaceutical Technology
and Biotechnology

**Фармацевтическая
и токсикологическая химия**
Pharmaceutical and Toxicological
Chemistry

**Фармакология и клиническая
фармакология**
Pharmacology and Clinical
Pharmacology

**Информационные технологии
в фармации**
Information Technologies in Pharmacy

**Организация и экономика
фармацевтического дела**
Organization and Economy
of Pharmacy

**Экономика и менеджмент
медицины**
Economy and Management
of Medicine

Фармацевтическое образование
Pharmaceutical Education

Краткие сообщения
Brief Reports

**Дискуссии, рецензии, юбилеи,
научные школы, история
фармации и фармакологии**
Discussions, Referee Reports,
Anniversaries, Schools
of Thought, History
of Pharmacy and
Pharmacology



Научно-практический журнал

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Периодичность 6 номеров в год

Том 7, Выпуск 6, 2019

Свидетельство регистрации СМИ:
ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016 г.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Главный редактор

Петров Владимир Иванович академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Заместители главного редактора

Озеров Александр Александрович доктор химических наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Воронков Андрей Владиславович доктор медицинских наук, профессор, г. Пятигорск, Россия

Редакционная коллегия

Фармакогнозия, ботаника

Куркин Владимир Александрович доктор фармацевтических наук, профессор, г. Самара, Россия

Зилфикаров Ифрат Назимович профессор РАН, доктор фармацевтических наук, г. Москва, Россия

Фармацевтическая технология и биотехнология

Саканян Елена Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Москва, Россия

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Информационные технологии в фармации

Вавер Ивона PhD, профессор, г. Варшава, Польша

Фармакология и клиническая фармакология

Ханферьян Роман Авакович доктор медицинских наук, профессор, г. Москва, Россия

Буске Паскаль MD, профессор, г. Страсбург, Франция

Кампизи Коррадино профессор, MD, PhD, г. Генуя, Италия

Организация и экономика фармацевтического дела / Экономика и менеджмент медицины

Наркевич Игорь Анатольевич доктор фармацевтических наук, профессор, г. Санкт-Петербург, Россия

Сомасундарам Субраманиан MD, Россия/Индия

Статьи, представленные в разделы **Обзоры, лекции / Фармацевтическое образование / Краткие сообщения / Дискуссии, рецензии, юбилеи, научные школы, история фармации и фармакологии** могут быть рассмотрены любыми членами редакционной коллегии.

Ответственный секретарь: Корянова Ксения Николаевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Переводчик: Давыденко Любовь Григорьевна, кандидат филологических наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Технический редактор: Доценко Марина Александровна, г. Пятигорск, Россия

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

Адрес издательства: 357532, г. Пятигорск, пр-т Калинина, 11.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России

Телефон: +7 (8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы. Индекс 94183

Формат А4, тираж 1000 экз. Цена свободная.

Журнал «Фармация и фармакология» включен в перечень рецензируемых научных изданий, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК), Scopus, Web of Science (ESCI), РИНЦ, eLibrary, ВИНТИ, РГБ, КиберЛенинка, Соционет, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Отпечатано в соответствии с предоставленными материалами в ООО «Амирит», 410004, г. Саратов, ул. Чернышевского, 88.

© ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 2019
© Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, 2019
© Авторы, 2019

Scientific and Practical Journal

PHARMACY & PHARMACOLOGY

Scientific and practical journal

Volume VII, Issue 6, 2019

The mass media registration certificate:
ПИ №ФС77-67428 от 13.10.2016

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Editor-in-Chief

Vladimir I. Petrov

Academician RAS, PhD (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Aleksandr A. Ozerov

PhD (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Andrew V. Voronkov

PhD (Medicine), Professor, Pyatigorsk, Russia

Editorial Board

Pharmacognosy, Botany

Vladimir A. Kurkin

PhD (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Ifrat N. Zilfikarov

PhD (Pharmacy), Professor of the RAS, Moscow, Russia

Pharmaceutical Technology and Biotechnology

Elena I. Sakanyan

PhD (Pharmacy), Professor, Moscow, Russia

Pharmaceutical and Toxicological Chemistry / Information Technologies in Pharmacy

Iwona Wawer

PhD, Professor, Warsaw (Poland)

Pharmacology and Clinical Pharmacology

Roman A. Khanfer`yan

PhD (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet

MD, PhD Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino

Professor, MD, PhD, Genoa, Italy

Organization and Economy of Pharmacy / Economy and Management of Medicine

Igor A. Narkevich

PhD (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, Russia

Somasundaram Subramanian

MD, Russia/India

Manuscripts presented in sections **Reviews, Lectures / Pharmaceutical Education / Brief Reports / Discussions, Referee Reports, Anniversaries, School of Thought, History of Pharmacy and Pharmacology** can be considered by any members of the editorial board.

Executive Editor: Koryanova Ksenia N., PhD (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Translator: Davydenko Lubov G., PhD (Philology), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Technical editor: Dotsenko Marina A., Pyatigorsk, Russia

Founder: Volgograd State Medical University. 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

Editors office address: 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

Phone number: +7(8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Union catalogue. Russian Press / Newspapers and journals. Code 94183

A4 size, 1000 issues circulation. Price free

Journal "Pharmacy & Pharmacology" is recommended International Committee Of Medical Journal Editors and included in Higher Attestation Commission, Scopus, Web of Science (ESCI), Russian citation database, eLibrary, ARISTI (All-Russian Institute of Scientific and Technical Information), RSL (Russian State Library), CyberLeninka, Socionet, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Printed in the LLC "Amirit" in accord with provided materials, 410004, Saratov, 88, Chernishevsky Str.

© Volgograd State Medical University, 2019

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2019

©Authors, 2019

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS**Оригинальные статьи / Research Articles****Фармакология и клиническая фармакология / Pharmacology and Clinical Pharmacology**

*М.В. Корокин, В.О. Солдатов, А. Титце,
И.В. Голубев, А.Е. Белых, М.В. Кубекина,
О.А. Пученкова, Т.А. Денисюк, В.В. Гуреев,
Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, М.А. Жученко,
М.А. Затолокина, М.В. Покровский*

11-АМИНОКИСЛОТНЫЙ ПЕПТИД, ИМИТИРУЮЩИЙ
СТРУКТУРУ А-СПИРАЛИ В ЭРИТРОПОЭТИНА,
УЛУЧШАЕТ ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ,
НО СТИМУЛИРУЕТ ТРОМБООБРАЗОВАНИЕ
У КРЫС312

*А.К. Ажигова, Б.В. Фельдман, Л.А. Андреева,
Д.Д. Теплый, М.А. Самотруева, Н.Ф. Мясоедов*

СТРУКТУРНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ТЕРМИЧЕСКОЙ
ОЖОГОВОЙ РАНЫ У КРЫС В УСЛОВИЯХ
ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕЙРОПЕПТИДОВ
СЕМАКС И СЕЛАНК321

А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, С.А. Нигарян

ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ
ФЕНОЛОКИСЛОТ В УСЛОВИЯХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ
ГОЛОВНОГО МОЗГА332

*М.В. Черников, М.А. Оганова, С.А. Калашникова,
Л.В. Полякова, Н.А. Хромова*

ПРОТИВОЯЗВЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ДИНИТРАТА
2-ФЕНИЛ-9-ДИЭТИЛАМИНОЭТИЛИМИДАЗО[1,2-А]
БЕНЗИМИДАЗОЛА ПРИ ЭТАНОЛ-
ПРЕДНИЗОЛОНОВОМ ПОВРЕЖДЕНИИ
СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА339

*M.V. Korokin, V.O. Soldatov, A.A. Tietze,
I.V. Golubev, A.E. Belykh, M.V. Kubekina,
O.A. Puchenkova, T.A. Denisyuk, V.V. Gureyev,
T.G. Pokrovskaya, O.S. Gudyrev, M.A. Zhuchenko,
M.A. Zatolokina, M.V. Pokrovskiy*

11-AMINO ACID PEPTIDE IMITATING
THE STRUCTURE OF ERYTHROPOIETIN
A-HELIX B IMPROVES ENDOTHELIAL FUNCTION,
BUT STIMULATES THROMBOSIS
IN RATS312

*A.K. Azhikova, B.V. Feldman, L.A. Andreeva,
D.D. Teply, M.A. Samotrueva, N.F. Myasoedov*

STRUCTURAL TRANSFORMATIONS OF THERMAL
BURN WOUNDS IN RATS UNDER
THE INFLUENCE
OF SEMAX AND SELANK NEUROPEPTIDES321

A.V. Voronkov, S.A. Nigaryan, D.I. Pozdnyakov

CEREBROPROTECTIVE EFFECT
OF SOME PHENOLIC ACIDS
UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL
BRAIN ISCHEMIA332

*M.V. Chernikov, M.A. Oganova, S.A. Kalashnikova,
L.V. Polyakova, N.A. Khromova*

ANTIULCER ACTIVITY
OF 2-PHENYL-9-DIETHYLAMINO-ETHYLIMIDAZO [1,2-A]
BENZIMIDAZOLE DINITRATE
IN ETHANOL-PREDNISOLONE
DAMAGE TO GASTRIC MUCOSA339

Фармакогнозия, ботаника / Pharmacognosy, Botany

*А. Аффуф, Ю.Н. Карпенко, Д.К. Гуляев,
В.Д. Белоногова, Е.И. Молохова,
О.Л. Блинова, А.А. Гилева*

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ
ЯКОРЦЕВ СТЕЛЮЩИХСЯ346

*A. Affaf, Yu.N. Karpenko, D.K. Gulyaev,
V.D. Belonogova, E.I. Molokhova,
O.L. Blinova, A.A. Gileva*

PHYTOCHEMICAL STUDY
OF *TRIBULUS TERRESTRIS* L.346

Организация и экономика фармацевтического дела / Organization and Economy of Pharmacy

*Л.М. Ганичева, Е.А. Иоанниди, О.А. Панфилова,
И.Н. Тюренков, Ю.С. Князева, Н.Ш. Кайшева*

ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ОСТРЫМИ
ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В ВОЛГОГРАДСКОМ
РЕГИОНЕ И АССОРТИМЕНТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ СТАЦИОНАРНОГО ЛЕЧЕНИЯ,
2016–2018 гг.356

*L.M. Ganicheva, E.A. Ioannidi, O.A. Panfilova,
I.N. Tyurenkov, Yu.S. Knyazeva, N.Sh. Kaysheva*

DYNAMICS OF THE ACUTE VIRAL HEPATITISES
MORBIDITY AND RANGE OF MEDICINAL PREPARATIONS
FOR TREATMENT IN HOSPITAL ENVIRONMENT IN THE
VOLGOGRAD REGION (THE RUSSIAN FEDERATION),
2016–2018356

УДК: 615.225



11-АМИНОКИСЛОТНЫЙ ПЕПТИД, ИМИТИРУЮЩИЙ СТРУКТУРУ А-СПИРАЛИ В ЭРИТРОПОЭТИНА, УЛУЧШАЕТ ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ, НО СТИМУЛИРУЕТ ТРОМБООБРАЗОВАНИЕ У КРЫС

М.В. Корокин¹, В.О. Солдатов¹, А. Титце², И.В. Голубев¹, А.Е. Белых³, М.В. Кубекина⁴,
О.А. Пученкова¹, Т.А. Денисюк³, В.В. Гуреев¹, Т.Г. Покровская¹, О.С. Гудырев¹, М.А. Жученко⁵,
М.А. Затолокина³, М.В. Покровский¹

¹ ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

² Гётеборгский университет, факультет химии и молекулярной биологии,
отдел органической и медицинской химии
41271, Швеция. Гетеборг, ул. Медицины Арегатан, 9С

³ ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»
305041, Россия, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3

⁴ ФГБУН «Институт биологии гена РАН»
119334, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, 34/5

⁵ НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИГенетика
123098, Россия, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1

E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Получено 06.12.2019

Рецензия (1) 20.12.2019

Рецензия (2) 26.12.2019

Принята к печати 27.12.2019

Цель. 11-аминокислотный пептид, имитирующий природную структуру α -спирали В эритропоэтина (Р- α В) обладает специфическим сродством к гетеродимерному комплексу EPOR/CD131. В нашем исследовании мы решили проверить может ли Р- α В позиционироваться в качестве средства для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Материалы и методы. Исследование выполнено на половозрелых самцах крыс линии Wistar. Дисфункцию эндотелия моделировали путем 7-дневного внутрибрюшинного введения L-NAME в дозе 2,5 мг/100 г. В качестве терапии использовали Р- α В или эритропоэтин (ЕРО) в дозе 2,5 мкг/100 г $\times$ 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г. Функцию эндотелия оценивали путем проведения эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазодилатации. В дополнение к этому проводили гистологическую оценку состояния стенки абдоминальной аорты и анализ экспрессии генов eNos, Tnf и Il-1 β . Для оценки протромботических свойств Р- α В и ЕРО вводили в дозах 2,5 и 5 мкг/100 г (3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г и 15 мкг/100 г, соответственно) и на 8-й день оценивали время железа (III) хлорид-индуцированного тромбоза сонной артерии.

Результаты. Р- α В и ЕРО не влияют на L-NAME-индуцированную гипертензию, однако улучшают функцию эндотелия, о чем свидетельствуют результаты функциональных проб на эндотелийзависимую и эндотелийнезависимую вазодилатацию, а также гистологическая картина аорты. При этом Р- α В демонстрирует значительно большую эндотелиопротективную активность, снижая коэффициент эндотелиальной дисфункции с $5,1 \pm 0,15$ до $2,72 \pm 0,12$. Кроме того, Р- α В значительно увеличил экспрессию eNos, и снизил уровень экспрессии мРНК генов Tnf и Il-1 β . При проведении железа (III) хлорид-индуцированного тромбоза сонной артерии обнаружено, что Р- α В (в дозе 5 мкг/100 г $\times$ 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 15 мкг/100 г) обладает меньшей, чем ЕРО, но статистически значимой протромботической активностью.

Заключение. Р- α В может позиционироваться в качестве атеропротектора ввиду способности предотвращать гибель эндотелиоцитов, а также снижать ремоделирование и провоспалительную активацию сосудистой стенки. Тем не менее протромботические свойства Р- α В ограничивают его применение в качестве средства для профилактики и лечения атеросклероз-ассоциированных заболеваний.

Ключевые слова: атеросклероз, эритропоэтин, крысы, Р- α В, цибенитид, эндотелий

Список сокращений: Р- α В – α -спираль В эритропоэтина; ЕРО – эритропоэтин; L-NAME – N-нитро-L-аргинин метиловый эфир; eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота; ЭД – эндотелиальная дисфункция; КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление.

Для цитирования: М.В. Корокин, В.О. Солдатов, А. Титце, И.В. Голубев, А.Е. Белых, М.В. Кубекина, О.А. Пученкова, Т.А. Денисюк, В.В. Гуреев, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, М.А. Жученко, М.А. Затолокина, М.В. Покровский. 11-аминокислотный пептид, имитирующий структуру α -спирали в эритропоэтина, улучшает функцию эндотелия, но стимулирует тромбообразование у крыс. *Фармация и фармакология*. 2019;7(6): 312-320. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-312-320

© М.В. Корокин, В.О. Солдатов, А. Титце, И.В. Голубев, А.Е. Белых, М.В. Кубекина, О.А. Пученкова, Т.А. Денисюк, В.В. Гуреев, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, М.А. Жученко, М.А. Затолокина, М.В. Покровский, 2019

For citation: M.V. Korokin, V.O. Soldatov, A.A. Tietze, I.V. Golubev, A.E. Belykh, M.V. Kubekina, O.A. Puchenkova, T.A. Denisuk, V.V. Gureyev, T.G. Pokrovskaya, O.S. Gudyrev, M.A. Zhuchenko, M.A. Zatolokina, M.V. Pokrovskiy. 11-amino acid peptide imitating the structure of erythropoietin α -helix b improves endothelial function, but stimulates thrombosis in rats. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(6): 312-320. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-312-320

11-AMINO ACID PEPTIDE IMITATING THE STRUCTURE OF ERYTHROPOIETIN A-HELIX B IMPROVES ENDOTHELIAL FUNCTION, BUT STIMULATES THROMBOSIS IN RATS

M.V. Korokin¹, V.O. Soldatov¹, A.A. Tietze², I.V. Golubev¹, A.E. Belykh³, M.V. Kubekina⁴, O.A. Puchenkova¹, T.A. Denisyuk³, V.V. Gureyev¹, T.G. Pokrovskaya¹, O.S. Gudyrev¹, M.A. Zhuchenko⁵, M.A. Zatolokina³, M.V. Pokrovskiy¹

¹Belgorod State National Research University

85, Pobeda St., Belgorod, Russia 308015

²University of Gothenburg, Department of Chemistry and Molecular Biology,

Department of Organic and Medicinal Chemistry.

PO Box 462 9 C, Medicine Aregatan St., Göteborg, Sweden

³Kursk State Medical University

3, Karl Marx St., Kursk, Russia 305041

⁴Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences

34/5, Vavilov St., Moscow, Russia 119334

⁵Scientific Research Centre, Kurchatov Institute

1, Akademik Kurchatov Square, Moscow, Russia 123098

E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Received 6 December 2019

Review (1) 20 December 2019

Review (2) 26 December 2019

Accepted 27 December 2019

An 11-amino acid peptide imitating the natural structure of B erythropoietin α -helix (P- α B), has a specific affinity to the heterodimeric complex EPOR/CD131.

The aim of the study was to test whether P- α B can be positioned as a preventing and treating agent for cardiovascular diseases.

Materials and methods. The study was performed on sexually mature male Wistar rats. Endothelial dysfunction was modulated by a 7-days intraperitoneal administration of L-NAME at the dose of 2.5 mg/100 g. P- α B, or erythropoietin (EPO), was used for therapy at the dose of 2.5 μ g/100 g $\times$ 3 times for 7 days, the total dose was 7.5 μ g/100 g. The function of endothelium was estimated by an endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilatation. In addition, a histological assessment of the abdominal aortic wall state and the analysis of *eNos*, *Tnf* and *Il-18* genes expression were performed. To estimate prothrombotic properties, P- α B and EPO were administered, at the doses of 2.5 and 5 μ g/100 g (3 times a day for 7 days, the total doses were 7.5 μ g/100 g and 15 μ g/100 g, respectively) and on the 8th day, the time of ferric (III) chloride-induced carotid artery thrombosis was estimated.

Results. The results of the functional tests for endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilatation, as well as the histological picture of the aorta have evidenced that P- α B and EPO do not affect L-NAME-induced hypertension but improve the endothelium function. At the same time, P- α B shows a significantly higher endothelial-protective activity, reducing the coefficient of endothelial dysfunction from 5.1 ± 0.15 to 2.72 ± 0.12 . In addition, P- α B has significantly increased the expression of *eNos* and reduced the expression level of *Tnf* and *Il-18* mRNA genes. Carrying out Ferric (III) chloride-induced carotid artery thrombosis has revealed that P- α B (5 μ g/100 g $\times$ 3 times a day for 7 days, total dose was 15 μ g/100 g) has a lower but statistically significant prothrombotic activity than EPO.

Conclusion. P- α B can be positioned as an atheroprotector because of its ability to prevent the death of endothelial cells, as well as to reduce remodeling and proinflammatory activation of the vascular wall. However, the prothrombotic properties of P- α B limit its use as a preventing and treating agent for atherosclerosis-associated diseases.

Keywords: atherosclerosis, erythropoietin, rats, P- α B, cibemotide, endothelium

Abbreviations: P- α B – α -helix of B erythropoietin; EPO – erythropoietin; L-NAME – N(ω)-nitro-L-arginine methyl ester; eNOS – endothelial nitric oxide synthase; ED – endothelial dysfunction; EDC – endothelial dysfunction coefficient; SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure.

ВВЕДЕНИЕ

Перманентный рост атеросклероз-ассоциированных заболеваний в общей структуре причин смертности и инвалидизации населения развитых стран диктует необходимость их углубленного изучения и совершенствования методов коррекции [1, 2]. При этом опыт, накопленный, начиная с первых работ Н.Н. Аничкова [3], демонстрирует, что атеросклеротическое повреждение сосудистой стенки является длительным многофакторным процессом [4]. В соответствии с современным пониманием патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, интеграль-

ную роль в развитии атеросклероза и связанных с ним осложнений играет эндотелиальная дисфункция (ЭД) [5–7]. Изменения в спектре секретируемых и экспрессируемых эндотелием молекул и нарушение его барьерной функции в конечном итоге приводят к инфильтрации сосудистой стенки атероматозными массами и образованию атеросклеротических бляшек [8]. Возникающий патогенетический каскад становится актуальной мишенью для фармакологического воздействия [1, 2].

Эффективным способом предотвратить повреждение эндотелия является применение молекул

с универсальной цитопротективной активностью [9]. Одной из таких молекул является эндогенный гликопротеин эритропоэтин (ЕРО) [10]. Ряд проведенных нами работ продемонстрировал, что ЕРО способен значительно улучшать морфофункциональное состояние сосудистой стенки при моделировании ЭД у крыс [11–14]. Тем не менее, многолетний опыт показывает, что многообещающие результаты доклинических исследований ЕРО слабо транслируются в клиническую реальность и его главной нишей остается лечение анемии [15–17].

В 2004 г. Michael Brines и др. [17] доказали, что негематопоэтические эффекты ЕРО реализуются через гетеродимерный комплекс EPOR/CD131. Обнаружение того факта, что эритропоэтические и тканезащитные свойства ЕРО реализуются посредством двух различных рецепторных систем, привело к созданию предпосылок для принципиально нового направления в поиске инновационных молекул с цитопротекторной активностью. В 2008 г. те же авторы [18] представили обобщенные результаты изучения цитопротекторной активности 11-аминокислотного пептида на основе α -спирали В эритропоэтина, имитирующей пространственную часть молекулы, которая взаимодействует с гетеродимерным EPOR/CD131 рецептором, но не взаимодействует с гомодимерным EPOR/EPOR рецептором. Данное соединение (P- α B, цибенитид, PubChem CID: 91810664) продемонстрировал способность существенно улучшать морфофункциональное состояние тканей при диабетическом отеке сетчатки, ишемии-реперфузии почек, а также значительно улучшать когнитивные функции в модели галантамин-индуцированной амнезии, при отсутствии какого-либо влияния на эритропоэз.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – оценка эндотелиопротективной и атеропротективной активности P- α B, а также оценка протромботических свойств данной молекулы для выявления препятствий в клиническом применении P- α B в качестве средства для лечения и профилактики сердечно-сосудистых катастроф.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

Животные были получены из питомника Charles River Laboratories (Массачусетс, США). Содержались в центре доклинических исследований НИИ Фармакологии живых систем. После прохождения 14-дневного карантинного режима, крысы были стратифицированы по массе и рассажены по 9 особей в отдельные конвенциональные клетки в соответствии с принадлежностью к экспериментальной группе. До и во время выполнения исследования животные содержались в помещениях с искусственным освещением (режим 12 ч/12 ч) при температуре 21–23°C, влажности 38–50% и имели свободный доступ к корму и воде. Номер заключения независимого этического комитета 06-09/02-1 от 16.05.2019 г.

Эксперимент был выполнен на 76 крысах-самцах (200–220 г) линии Wistar. При работе соблюдались требования Закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 24.06.1998 года, правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и ГОСТ Р 53434-2009), директивы Европейского сообщества (86/609 EC) и Правил лабораторной практики, принятых в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 708 от 29.08.2010 г.).

Моделирование эндотелиальной дисфункции

Дисфункцию эндотелия моделировали путем 7-дневного внутривентрального введения блокатора эндотелиальной синтазы оксида азота L-NAME (Sigma Aldrich, США) в дозе 2,5 мг/100 г. Для оценки эндотелиопротективного эффекта P- α B в сравнении с ЕРО из 36 крыс-самцов линии Wistar (200–220 г) были сформированы 4 группы по 9 животных:

- 1) ЭД + ЕРО (ООО «Фармапарк») (2,5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г);
- 2) ЭД + P- α B (ООО «Фармапарк») (2,5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г);
- 3) ЭД + Растворитель (0,9% раствор натрия хлорида 0,1 мл/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 0,3 мл/100 г);
- 4) Интактные + Растворитель (0,9% раствор натрия хлорида 0,1 мл/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 0,3 мл/100 г).

Ровно через 24 часа после последнего введения L-NAME каждому животному под наркозом (Золазепам (Virbac, Франция) 6 мг/100 г + Хлоралгидрат (Panreac, Испания)) катетеризировали левую сонную артерию для внутрисосудистого измерения артериального давления с помощью аппарата Biopac MP150. На фоне непрерывного измерения артериального давления стимулировали эндотелийзависимую (Ацетилхолин 4 мкг/100 г) и эндотелийнезависимую (Натрия нитропруссид, 3 мкг/100 г) вазодилатацию. Вазоактивные агенты вводили с интервалом 15 минут через катетер, установленный в бедренной вене. При выполнении всех манипуляций животным был присвоен уникальный код и хирург не знал принадлежность животного к группе. Отношение площади над кривой падения давления при введении натрия нитропрусида к площади над кривой падения давления при введении ацетилхолина принимали за коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД).

После проведения функциональных сосудистых проб животных эвтаназировали обескровливанием и забирали абдоминальный отдел аорты для гистологических исследований, а также оценки экспрессии мРНК генов *eNos*, *Il-1b* и *Tnf*.

Гистология

Образцы абдоминальной аорты фиксировали в 10%-растворе формальдегида с последующей залив-

кой в парафин в автомате карусельного типа «STP-120» (Microm International GmbH, Германия). Заливку блоков со стандартной ориентацией кусочков осуществляли на станции для заливки биологического материала в парафин «EC 350» (Microm International GmbH, Германия). Для обеспечения стандартизации заливку в парафин осуществляли в виде мультиблоков по 5-6 кусочков. Срезы для гистологического исследования толщиной 5 мкм изготавливали на полуавтоматическом ротационном микротоме с системой транспортировки и расправления срезов «HM 340E» (Microm International GmbH, Германия). Окраску гематоксилином и эозином осуществляли в автомате для окраски гистологических срезов и мазков (Microm International GmbH, Германия). Описательное исследование гистологических препаратов выполняли под микроскопом Axio Scope A1 (Carl Zeiss Microimaging GmbH, Германия).

Определение экспрессии eNos, Tnf и IL-1 β методом количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР)

Ткань аорты забирали, гомогенизировали и 10 минут инкубировали при 37°C в растворе «Extract RNA». После лизирования образца в реагенте его подвергли хлороформной чистке, а образовавшийся осадок РНК промывали изопропиловым спиртом и 70%-ным этиловым спиртом. Концентрацию полученной РНК измеряли на спектрофотометре IMPLENNanoPhotometer®. Выход РНК составлял примерно 1000 нг/мкл.

Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLVRTSK021 в соответствии с протоколом фирмы-производителя (Evrogen). Смесь аккуратно перемешивали и в течение 2 минут прогревали при 70°C для расплавления вторичных структур РНК и последующего отжига праймера OligoDT. После переносили образцы в лед. Всю реакционную смесь инкубировали 60 мин при 40°C в термоциклере T100™ ThermalCycler (Bio-Rad). Для остановки реакции прогревали смесь при 70°C в течение 10 минут. Полученную кДНК разводили до концентрации 1 нг/мкл.

Уровень экспрессии гена оценивали относительно значений референсного гена Gapdh. Расчет экспрессии в конкретной точке производился по формуле: Экспрессия гена = $2^{-(Ct(Gapdh)-Ct(Ген\ интереса))}$ (таб. 1).

Изучение протромботической активности

40 крыс, были разделены на 5 равных групп:

- 1) EPO (2,5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г);
- 2) EPO (5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 15 мкг/100 г);
- 3) P- α B (2,5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г);

4) P- α B (5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 15 мкг/100 г);

5) 0,9% раствор натрия хлорида (0,1 мл/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 0,3 мл/100 г).

Через 24 часа после последней инъекции препарата (растворителя для контрольной группы) животных наркотизировали и фиксировали к операционному столу. Затем выполняли разрез длиной 10 мм слева от срединной линии шеи, выделяли общую сонную артерию и аккуратно отделяли ее от окружающих тканей, не повреждая блуждающий нерв. С использованием ультразвукового доплерографа Минимакс-Допплер (Санкт-Петербург, Россия) на выделенной артерии определяли точку наилучшего сигнала, после чего прикладывали ватку, смоченную 50% раствором железа (III) хлорида и засекали время до снижения исходного сигнала до $\approx 10\%$. При выполнении всех манипуляций животным был присвоен уникальный код и хирург не знал принадлежность животного к группе.

Статистический анализ

Статистическую обработку проводили с использованием программной среды вычислений R. Характер распределения признаков в статистической выборке определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка и критерия Шпигельхальтера (библиотека normtest), оценку равенства дисперсий – с помощью критерия Левене (библиотека lawstat). В зависимости от типа распределения признаков и равенства дисперсий значимость полученных результатов оценивали с применением параметрического (ANOVA) или непараметрического (критерий Краскела-Уоллиса) однофакторного дисперсионного анализа, а в качестве post-hoc анализа для выявления различий при межгрупповых сравнениях использовали непарный t-критерий Стьюдента или критерий Манна-Уитни, соответственно, с поправкой Бенджамини-Хохберга на множественную проверку гипотез. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка эндотелиальной дисфункции

8-дневное введение L-NAME (2,5 мг/100 г) привело к значительному росту артериального давления. При этом терапия EPO и P- α B статистически значимо не повлияла на значения систолического и диастолического артериального давления (таб. 2).

В то же время проведение функциональных проб с ацетилхолином и натрия нитропруссидом выявило значимый эффект терапии в отношении NO-продуцирующей функции эндотелия (рис.1А). Группа, получавшая L-NAME и 0,9% раствор натрия хлорида, продемонстрировала почти 5-кратное увеличение КЭД ($5,1 \pm 0,15$ у.е. при $1,21 \pm 0,09$ у интактных животных). В группе с применением EPO и P- α B этот показатель составил $3,81 \pm 0,14$ и $2,72 \pm 0,12$, соответственно.

Таблица 1 – Праймеры для определения экспрессии мРНК целевых и референсных генов

Название праймеров	Последовательность нуклеотидов 5'→3'	Температура плавления (°C)	Длина ПЦР-продукта (пар нуклеотидов)
Il-1b F	TCGTGCTGTCTGACCCATGT	61,47	126
Il-1b R	AGGCCACAGGGATTTTGTCTG	60,61	
eNos F	GCCAACTCAAGGCAGGAGAC	60,96	129
eNos R	ATCCCCGGAAGGGTGCAATA	60,99	
Tnf-alpha F	TGAACTTCGGGGTGATCGGT	61,19	152
Tnf-alpha R	CGCTTGGTGGTTTGCTACGA	61,2	
Gapdh F	AGTGCCAGCCTCGTCTCATA	60,68	141
Gapdh R	TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT	61,11	

Таблица 2 – Влияние ЕРО и 11-аминокислотного пептида Р-αВ на артериальное давление крыс при моделировании L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции

Группа	САД (мм рт.ст.)	ДАД (мм рт.ст.)
Интактные	121,5±3,4	97,5±3,1
ЭД + NaCl (0,9%)	189,9±4,8	133,2±4,1
ЭД + ЕРО	186,0±5,1	133,2±4,5
ЭД + Р-αВ	190,3±4,3	134,3±3,9

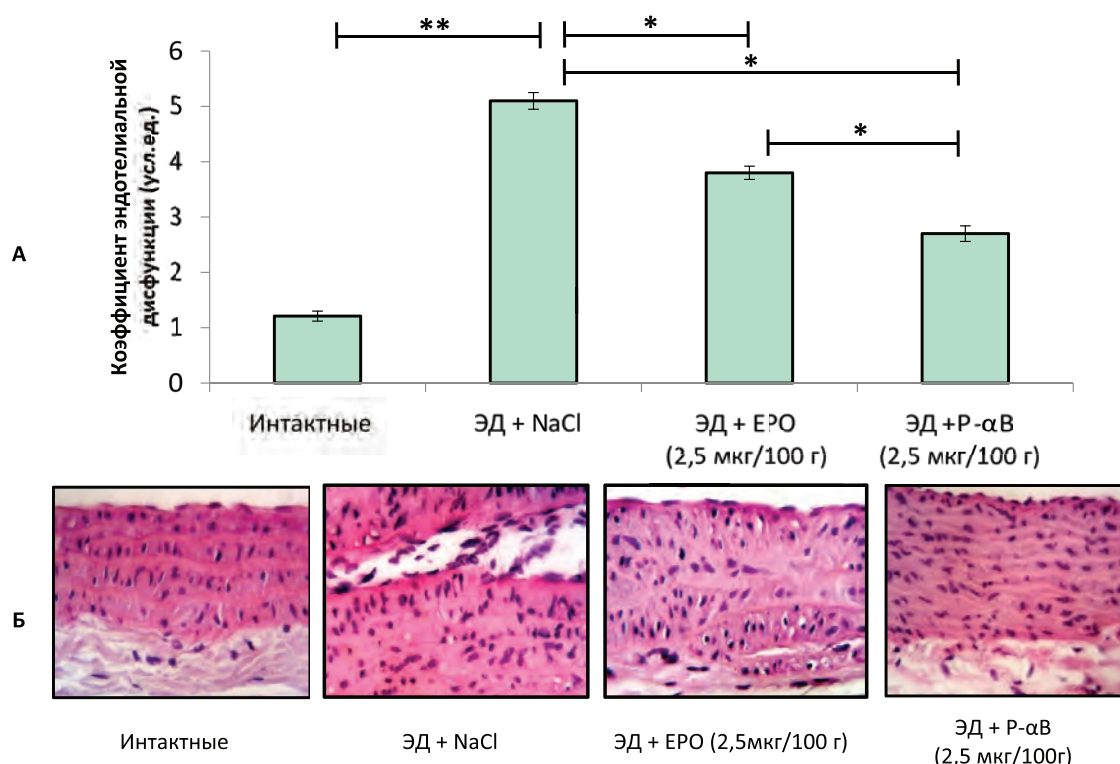


Рисунок 1 – Морфофункциональное состояние сосудистой стенки

Примечание: А) Влияние ЕРО и Р-αВ на коэффициент эндотелиальной дисфункции, рассчитанный как отношение площади над кривой падения давления при проведении эндотелийнезависимой вазодилатации к площади над кривой падения давления при проведении эндотелийзависимой вазодилатации; Б) Гистологическая картина стенки абдоминальной аорты. Интактные – Эндотелиальная выстилка непрерывна, эндотелиоциты плоские. Признаков отека и инфильтрации нет. Архитектоника не нарушена, соотношение слоев сохранено; ЭД + 0,9% раствор натрия хлорида – Наблюдается отек наружной оболочки, круглоклеточная инфильтрация средней оболочки и вакуольная дистрофия гладких миоцитов. Плотность клеток высокая. Соотношение слоев изменено, в сравнении с интактными животными, эндотелиоциты набухшие, большинство из них слущено с поверхности базальной мембраны; ЭД + ЕРО – Наблюдается полиморфноклеточная инфильтрация наружной оболочки сосуда, на фоне нарушений архитектоники средней оболочки и начальными признаками фиброза; ЭД + Р-αВ – В препарате визуализируется полная сохранность архитектоники слоев стенки сосуда. Эндотелиальная выстилка сохранена, эндотелиоциты расположены в один слой на базальной мембране. Признаков периваскулярно-го и периваскулярного отека нет (Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. 400). * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$.

Гистологическая картина стенки аорты

При гистологическом исследовании определена аналогичная тенденция, характеризующая эндотелиопротективную активность ЕРО и Р-αВ (рис. 15).

– L-NAME + 0,9% раствор натрия хлорида. В группе животных с L-NAME-индуцированной ЭД выявлены значительные морфологические изменения в сравнении с интактными животными, которые заключались в наличии признаков периваскулярного и перицеллюлярного отека, воспаления всех оболочек стенки сосуда (аорты). В периваскулярной ткани отмечалось наличие единичных диапедезных кровоизлияний, а в просвете сосуда наличие пристеночных микротромбов. В области эндотелиальной выстилки наблюдалось набухание эндотелиоцитов, слущивание их с поверхности базальной мембраны. В небольших участках с сохраненным эндотелием ядра клеток располагались вдоль стенки кровеносного сосуда. В единичных эндотелиоцитах отмечался кариолизис и вакуолизация цитоплазмы, сморщивание клеток, вплоть до их гибели. Имела место круглоклеточная инфильтрация средней и наружной оболочек. В средней оболочке, в гладких миоцитах отмечалась вакуольная дистрофия. В наружной оболочке наблюдалось разволокнение и наличие признаков отека. Плотность клеток как в средней, так и в наружной оболочках высокая.

– L-NAME+ЕРО (2,5 мкг/100 г). В данной группе наблюдалась полиморфноклеточная инфильтрация наружной оболочки сосуда, на фоне незначительных нарушений архитектоники эластических мембран, наличии функционально активных фибробластов (клетки с темно-базофильной цитоплазмой, крупных размеров визуализируемые в центре средней оболочки), что может свидетельствовать о начальных признаках фиброза. Визуализировалось небольшое количество реактивно-измененных гладких миоцитов, расположенных между окончатыми эластическими мембранами. При этом, большинство эндотелиоцитов имели уплощенную форму и располагались непрерывно, их ядра ориентированы параллельно базальной мембране.

–L-NAME+ Р-αВ (2,5 мкг/100 г). При изучении гистологических срезов в группе животных после фармакологической коррекции Р-αВ была выявлена почти полная сохранность архитектоники слоев стенки сосуда. Соотношение толщины слоев не имело визуальных отличий в сравнении с данными интактной группы животных. Наблюдалось сохранение эндотелиальной выстилки, расположение эндотелиоцитов в один слой на базальной мембране, плоская форма клеток и слабо оксифильная цитоплазма. Ядра палочковидной формы, ориентированы вдоль кровеносного сосуда. Признаков перицеллюлярного и периваскулярного отека не визуализировалось.

Выявлена немного повышенная плотность клеток на единице площади среза, однако без признаков деструкции, которая наблюдалась у животных без фармакологической терапии.

Экспрессия eNos, Tnf и IL-1β по данным количественной ПЦР

При моделировании L-NAME-индуцированной ЭД в сравнении с интактными животными во всех группах выявлено увеличение относительной экспрессии мРНК гена *eNos*. При этом экспрессия *eNOS* растет в ряду: ЭД+ 0,9% раствор натрия хлорида <ЭД+ЕРО <ЭД+Р-αВ. Уровень мРНК генов провоспалительных цитокинов *Tnf* и *IL-1β* характеризовалось наибольшим увеличением в группе ЭД без терапии, а применение ЕРО и Р-αВ снижало степень их экспрессии (рис. 2).

Оценка протромботической активности

При оценке времени наступления железа (III) хлорида-индуцированного тромбоза у животных, в течение 8 дней, получавших ЕРО и Р-αВ, было обнаружено дозозависимое сокращение времени тромбообразования. Более значимый протромботический эффект продемонстрировал ЕРО, который сократил время тромбообразования до 16,7±1,2 мин (2,5 мкг/100 г) и 14,2±1,3 мин (5 мкг/100 г) по сравнению с 19,5±0,9 мин в группе без применения препаратов. Р-αВ в дозе 1,25 мкг/100 г статистически значимо не повлиял на время тромбообразования, а в дозе 2,5 мкг/100 г ускорил тромбоз сонной артерии до 16,2±1,1 мин (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Наша работа показала, что 11-аминокислотный пептид Р-αВ, обладающий избирательным сродством к гетеродимерному рецептору EPOR/CD131, способен снижать повреждение эндотелия при L-NAME-индуцируемом дефиците оксида азота. Блокада *eNOS* привела к стойкой гипертензии, спровоцировавшей морфологические изменения стенки сосудов, которые выражались в ее гипертрофии, некрозе и нарушении архитектоники.

С использованием молекулярно-биологического анализа мы обнаружили повышение экспрессии мРНК гена *eNos*, что по всей видимости является компенсаторной реакцией на гипертензию. Наряду с этим вырос уровень провоспалительных цитокинов – *TNF-α* и *IL-1β*. Троекратное применение Р-αВ в дозе 2,5 мкг/100 г не повлияло на артериальную гипертензию, связанную с введением L-NAME, однако привело к более выраженному увеличению экспрессии мРНК гена *eNos*. Возможно, это объясняется тем, что за счет антиапоптотических свойств Р-αВ повысил количество функционирующих клеток, которые способны синтезировать *eNOS*.

Примечательно, что в группе с применением ЕРО, несмотря на снижение КЭД, уровень мРНК гена *eNos* достоверно не увеличился относительно контроля. Это согласуется с данными, полученными Sultan F. и др., демонстрирующими, что ЕРО, способен угнетать экспрессию *eNOS* [19]. По всей видимости, это свойство качественно отличает вазотропную активность Р-αВ от других препаратов эритропоэтинового ряда.

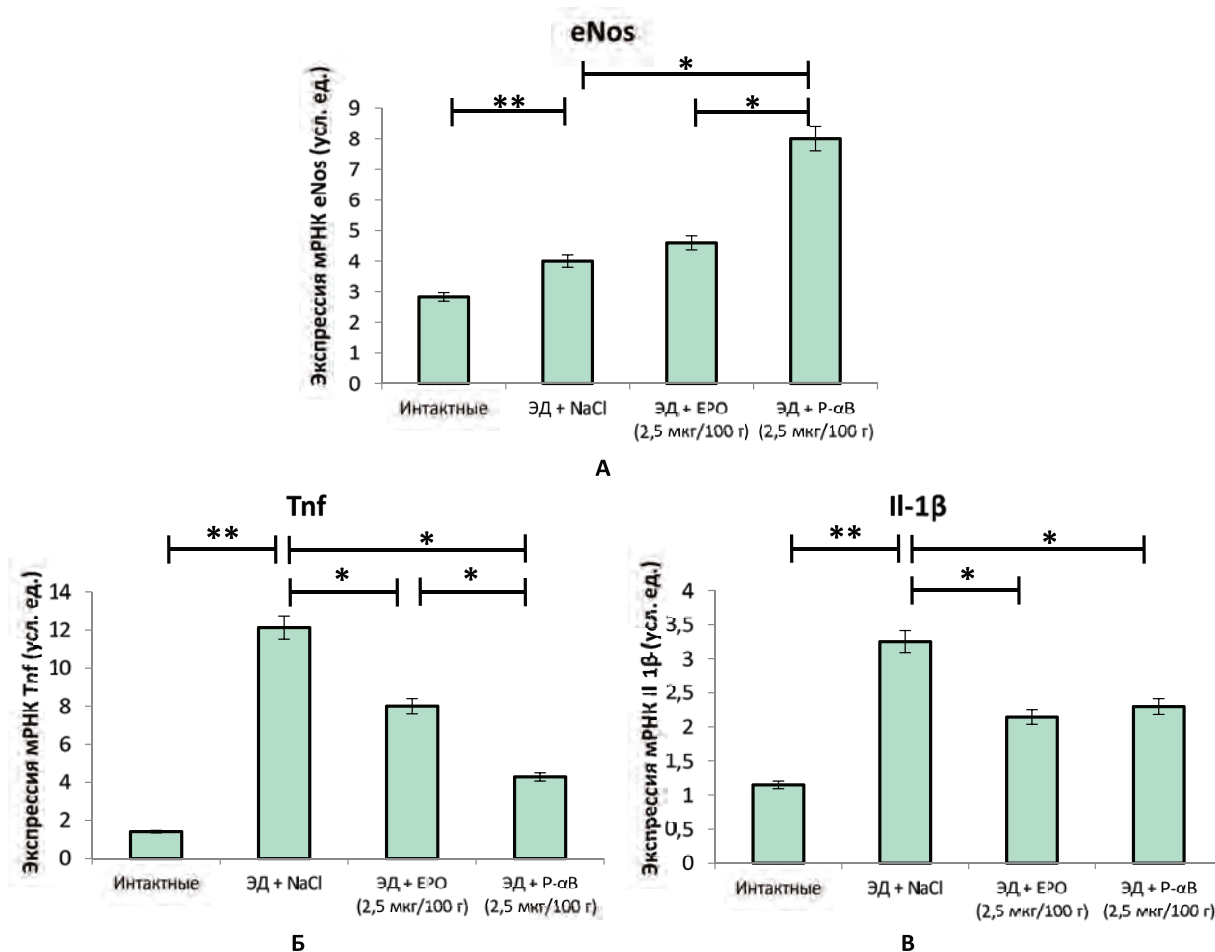


Рисунок 2 – Влияние ЕРО и Р-αВ на экспрессию мРНК генов eNos, Tnf и II-1β в абдоминальной аорте на фоне моделирования L-NAME-индуцированной ЭД (по данным количественной ПЦР)

Примечание: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$.

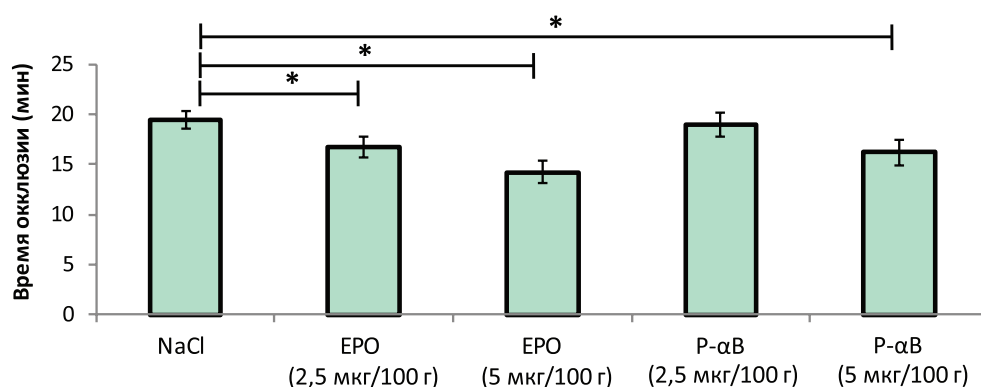


Рисунок 3 – Влияние ЕРО и Р-αВ на время FeCl₃-индуцированной тромботической окклюзии сонной артерии (снижение доплерографического сигнала до уровня ≈10% от исходного)

Примечание: * – $p \leq 0,05$.

Полученные результаты также свидетельствуют, что Р-αВ способен предотвращать воспалительную активацию в модели L-NAME-индуцированной ЭД. Этот феномен скорее всего связан как с антиапоптотической активностью соединения, так и с собственной противовоспалительной активностью молекул эритропоэтинового ряда. Данное свойство очень значимо для потенциального атеропротектора, поскольку снижение цитокиновой активации необходимо для стабилизации атеросклеротической бляшки и предупреждения ее разрыва.

Наконец, последний этап исследования с использованием FeCl₃-индуцированного тромбоза сонной артерии у крыс выявил, что Р-αВ обладает протромботическими свойствами. Протромботическая активность Р-αВ выражена в меньшей степени, чем у ЕРО и в нашем исследовании не проявилась в тех дозах, в которых он демонстрирует эндотелиопротективное действие (2,5 мкг/100г × 3 в течение 7 дней). Тем не менее, данное свойство является значимым ограничением в позиционировании Р-αВ в качестве средства для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с атеросклерозом.

Мы видим перспективу в модификации Р-αВ путем присоединения пептидных мотивов, обладающих антиагрегантной активностью. Для устранения протромботической активности к Р-αВ могут быть добавлены аминокислотные последовательности Arg-Gly-Asp и Lys-Gly-Asp. Известно, что Arg-Gly-Asp и Lys-Gly-Asp обладают выраженными антиагрегантными свойствами [20–22]. В ряде отечественных работ также были выявлены антипротромботические и

антиагрегантные свойства другого вспомогательного аминокислотного трипептида Pro-Gly-Pro. [23–25]. Кроме того, Pro-Gly-Pro стабилизирует молекулу в биологических средах за счет ингибирования активности протеолитических ферментов [26] и обладает способностью блокировать ангиотензин-превращающий фермент [27], один из важнейших проатерогенных факторов, который катализирует реакцию образования ангиотензина II и способствует ремоделированию сосудистой стенки [28]. Ключевым вопросом остается характер (позиция, линкеры и т.д.) для встраивания данных аминокислотных последовательностей в базисную молекулу. Биоинформатический анализ позволит определить наиболее оптимальные локализации для присоединения трипептидов, позволяющие не влиять на интересующие фармакофоры, сохранив и эндотелиопротективную, и антиагрегантную активность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

11-аминокислотный пептид, имитирующий α-спираль В эритропоэтина, обладает выраженным эндотелиопротективным и, потенциально, атеропротективным действием ввиду способности предотвращать гибель эндотелиоцитов, а также снижать ремоделирование и провоспалительную активацию сосудистой стенки. Тем не менее, протромботическая активность Р-αВ ограничивает его применение в качестве средства для профилактики и лечения атеросклероз-ассоциированных заболеваний и обуславливает необходимость дальнейших модификаций данной молекулы.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполняется при поддержке Минобрнауки России. Соглашение о субсидии № 05.605.21.0109 (уникальный идентификатор соглашения RFMEFI60519X0191).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

М.В. Корокин – написание статьи, разработка дизайна исследования, пробоподготовка образцов для гистологического исследования, морфологическое описание срезов стенки аорты; **В.О. Солдатов** – написание статьи, разработка дизайна исследования; **А. Титце** – синтез пептида, анализ литературы; **И.В. Голубев** – введение препаратов животным, моделирование L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции; **А.Е. Белых** – выделение мРНК, проведение реакции обратной транскрипции, анализ экспрессии мРНК генов eNos, Tnf и Il-1β, перевод статьи; **М.В. Кубекина** – выделение мРНК, проведение реакции обратной транскрипции, анализ экспрессии мРНК генов eNos, Tnf и Il-1β, формализация списка литературы, работа с графическим материалом; **О.А. Пученкова** – участие во всех этапах работы с животными, выделение РНК, забор образцов для гистологического исследования; **Т.А. Денисюк** – участие в оценке коэффициента эндотелиальной дисфункции; **В.В. Гуреев** – оценке коэффициента эндотелиальной дисфункции; **Т.Г. Покровская** – консультация по вопросам планирования, методологии и реализации эксперимента; **О.С. Гудырев** – оценка протромботической активности, анализ литературы; **М.А. Жученко** – синтез пептида, анализ литературы; **М.А. Затолокина** – пробоподготовка образцов для гистологического исследования, морфологическое описание срезов стенки аорты; **М.В. Покровский** – идея, планирование исследования, консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Глушко А.А., Воронков А.В., Черников М.В. Молекулярные мишени для поиска веществ, обладающих эндотелиопротекторными свойствами (обзорная статья) // Биорганическая химия. 2014. Т. 40. № 5. С. 515–527. DOI: 10.7868/S0132342314050066.
2. Тюренков И.Н., Воронков А.В., Слиецанс А.А., Волотова Е. В. Эндотелиопротекторы - новый класс фармакологических препаратов // Вестник Российской академии медицинских наук. 2012, Т. 67, №7. – С. 50–57. DOI: <https://doi.org/10.15690/vramn.v67i7.341>
3. Zárate A., Manuel-Apolinar L., Basurto L., De la Chesnaye E., Saldívar I. Cholesterol and atherosclerosis. Historical considerations and treatment // Arch Cardiol Mex. – 2016. – V. 86, N 2. – P. 163–9. doi: 10.1016/j.acmx.2015.12.002. Epub 2016 Jan 7.
4. Orekhov A.N., Poznyak A.V., Sobenin I.A., Nikifirov N.N., Ivanova E.A. Mitochondrion as a selective target for treatment of atherosclerosis: Role of mitochondrial DNA mutations and defective mitophagy in the pathogenesis of atherosclerosis and chronic inflammation // Curr Neuropharmacol. 2019. doi: 10.2174/1570159X17666191118125018. [Epub ahead of print].
5. Marzetti E., Calvani R., Cesari M., Buford T.W., Lorenzi M., Behnke B.J., Leeuwenburgh C. Mitochondrial dysfunction and sarcopenia of aging: from signaling pathways to clinical trials //

- Int J Biochem Cell Biol. – 2013. – V. 45, N 10. – P. 2288–301. doi: 10.1016/j.biocel.2013.06.024.
6. Воронков А. В., Поздняков Д. И., Мирошниченко К. А., Потапова А. А. Влияние новых производных пириимидина на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга в условиях хронической травматической энцефалопатии // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2019. Т. 82. № 11. С. 11–14. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-11-11-14.
 7. Воронков А.В., Поздняков Д.И. Оценка влияния 4-гидроксис-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты на изменения антитромботического потенциала эндотелия у кроликов в условиях ишемии головного мозга // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81. № 8. С. 3–7. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-8-3-7
 8. Gimbrone M.A. Jr., García-Cardeña G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis // Circ Res. – 2016. – V. 118, N 4. – P. 620–636. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306301.
 9. Елагин, В.В. Подходы к коррекции ишемических и реперфузионных повреждений почек в эксперименте / В.В. Елагин, О.И. Братчиков, А.А. Ульянова // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2018. – №4(3). – С. 63–69. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-6.
 10. Shabelnikova A.S., Lutsenko V.D., Pokrovskii M.V., Peresipkina A.A., Korokin M.V., Gudryev O.S., Hoshenko Y.A. Protective effects of recombinant erythropoietin in ischemia of the retina: The role of mechanisms of preconditioning // Research Journal of Medical Sciences. – 2015. – V. 9, N 4. – P. 200–203. doi:10.3923/rjmsci.2015.200.203.
 11. Корокин, Л.В. Фармакологическая коррекция L-NAME индуцированного дефицита оксида азота рекомбинантным эритропоэтином / Л.В. Корокина, И.М. Колесник, М.В. Покровский, М.В. Корокин, А.С. Белоус, Е.Б. Артюшкова, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, А.Е. Королев, Л.А. Павлова, О.О. Новиков // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – №9 (114). – С. 66–69.
 12. Denisjuk T. Pharmacotherapeutic strategies for endothelial dysfunction correction with use of statins in syndrome of systemic inflammatory response // Research Results in Pharmacology. – 2017. – V. 3, N 4. – P. 35–77. doi: 10.18413/2313-8971-2017-3-4-35-77.
 13. Денисюк, Т.А. Сочетанное применение рекомбинантного эритропоэтина и статинов при эндотоксининдуцированной эндотелиальной дисфункции / Т.А. Денисюк, М.В. Покровский // Аллергология и иммунология. – 2016. – №17(1). – С. 64–65.
 14. Rajkumar D.S.R., Gudryev O.S., Faiteison A.V., Pokrovskii M.V. Study of the microcirculation level in bone with osteoporosis and osteoporotic fractures during therapy with recombinant erythropoietin, rosuvastatin and their combinations // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. – 2015. – V. 4, N 6. – P. 57–60. doi: 10.18413/2313-8971-2015-1-4-57-60.
 15. Souvenir R., Doycheva D., Zhang J.H., Tang J. Erythropoietin in stroke therapy: friend or foe // Curr Med Chem. – 2015. – V. 22, N 10. – P. 1205–13.
 16. Pearl R.G. Erythropoietin and organ protection: lessons from negative clinical trials // Crit Care. – 2014. – V. 18, N 5. – P. 526. doi: 10.1186/s13054-014-0526-9.
 17. Brines M., Grasso G., Fiordaliso F., Sfacteria A., Ghezzi P., Fratelli M., Latini R., Xie Q.W., Smart J., Su-Rick C.J., Pobre E., Diaz D., Gomez D., Hand C., Coleman T., Cerami A. Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2004. – V. 101, N 41. – P. 14907–12. doi.org/10.1073/pnas.0406491101.
 18. Brines M., Patel N.S., Villa P., Brines C., Mennini T., De Paola M., Erbayraktar Z., Erbayraktar S., Sepodes B., Thiemermann C., Ghezzi P., Yamin M., Hand C.C., Xie Q.W., Coleman T., Cerami A. Nonythropoietic, tissue-protective peptides derived from the tertiary structure of erythropoietin // Proc Natl Acad Sci USA. – 2008. – V. 105, N 31. – P. 10925–30. doi: 10.1073/pnas.0805594105.
 19. Sultan F., Singh T.U., Kumar T., Rungsung S., Rabha D.J., Vishwakarma A., Sukumaran S.V., Kandasamy A., Parida S. Short-term exposure of erythropoietin impairs endothelial function through inhibition of nitric oxide production and eNOS mRNA expression in the rat pulmonary artery // Pharmacol Rep. – 2017. – V. 69, N 4. – P. 658–665. doi: 10.1016/j.pharep.2017.02.003.
 20. Pytela R., Pierschbacher M.D., Ginsberg M.H., Plow E.F., Ruoslahti E. Platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa: member of a family of Arg-Gly-Asp-specific adhesion receptors // Science. – 1986. – V. 231, N 4745. – P. 1559–62. doi: 10.1126/science.2420006.
 21. Sheu J.R., Yen M.H., Peng H.C., Chang M.C., Huang T.F. Triflavin, an Arg-Gly-Asp-containing peptide, prevents platelet plug formation in vivo experiments // Eur J Pharmacol. – 1995. – V. 294, N 1. – P. 231–8. doi: 10.1016/0014-2999(95)00530-7.
 22. Hung Y.C., Kuo Y.J., Huang S.S., Huang T.F. Trimucrin, an Arg-Gly-Asp containing disintegrin, attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in murine by inhibiting platelet function // Eur J Pharmacol. – 2017. – V. 813. – P. 24–32. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.07.039.
 23. Pastorova V.E., Liapina L.A., Alshmarin I.P., Ostrovskaya P.U., Gudashva T.A., Lugovskoi E.V. Fibrin-depolymerization activity and the antiplatelet effect of small cyclic and linear proline-containing peptides // Izv Akad Nauk Ser Biol. – 2001. – N. 5. – P. 593–6.
 24. Lyapina L.A., Pastorova V.E., Obergan T.Y. Changes in hemostatic parameters after intranasal administration of peptide Pro-Gly-Pro // Bull Exp Biol Med. – 2007. – V. 144, N 4. – P. 491–3. doi: 10.1007/s10517-007-0358-6.
 25. Liapina L.A., Grigor'eva M.E., Andreeva L.A., Miasoedov N.F. Protective antithrombotic effects of proline-containing peptides in the animal body subjected to stress // Izv Akad Nauk Ser Biol. – 2010. – N 4. – P. 462–7.
 26. Shevchenko K.V., Nagaev I.Y., Andreeva L.A., Shevchenko V.P., Miasoedov N.F. Stability of proline-containing peptides in biological media // Biomed Khim. – 2019. – V. 65, N 3. – P. 180–201. doi: 10.18097/PBMC20196503180.
 27. Wang Z., Zhang S., Jin H., Wang W., Huo J., Zhou L., Wang Y., Feng F., Zhang L. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides: Chemical feature based pharmacophore generation // Eur J Med Chem. – 2011. – V. 46, N 8. – P. 3428–33. doi: 10.1016/j.ejmech.2011.05.007.
 28. Montezano A.C., Nguyen Dinh Cat A., Rios F.J., Touyz R.M. Angiotensin II and vascular injury // Curr Hypertens Rep. – 2014. – V. 16, N 6. – P. 431. doi: 10.1007/s11906-014-0431-2.

АВТОРЫ

Корокин Михаил Викторович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-5402-0697. E-mail: mkorokin@mail.ru

Солдатов Владислав Олегович – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-9706-0699. E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Алесь Титце – старший преподаватель, доцент кафедры химии и молекулярной биологии, отдел медицинской химии, специализирующийся на синтезе биоактивных пептидов, Гётеборгский университет. ORCID ID: 0000-0002-9281-548X. E-mail: a.tietze@tietze-lab.com

Голубев Иван Владимирович – соискатель кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-3754-0380. E-mail: golubevvanov@yandex.ru

Белых Андрей Евгеньевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: and-white@yandex.ru

Кубекина Марина Владиславовна – аспирант, ФГБУН «Институт биологии гена РАН». ORCID ID: 0000-0002-8834-1111. E-mail: marykumy@gmail.com

Пученкова Олеся Андреевна – студент 5 курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-7657-0937. E-mail: lesya759@yandex.ru

Денисюк Татьяна Алексеевна – доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный

научный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-0974-4818. E-mail: denitatyana@yandex.ru

Гуреев Владимир Владимирович – доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-1433-1225. E-mail: produmen@yandex.ru

Покровская Татьяна Григорьевна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-6802-5368. E-mail: pokrovskaia-tg@mail.ru

Гудырев Олег Сергеевич – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-0097-000X. E-mail: gudryev@mail.ru

Максим Андреевич Жученко – кандидат биологических наук, начальник сектора, НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИ-генетика. E-mail: maksim.zhuchenko@pharmapark.ru

Затолюкина Мария Алексеевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-9553-1597. E-mail: marika1212@mail.ru

Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ Фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-2761-6249. E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

УДК 616.5-001.17+615.262



СТРУКТУРНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ТЕРМИЧЕСКОЙ ОЖОГОВОЙ РАНЫ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕЙРОПЕПТИДОВ СЕМАКС И СЕЛАНК

А.К. Ажигова¹, Б.В. Фельдман¹, Л.А. Андреева²,
Д.Д. Теплый³, М.А. Сомотруева¹, Н.Ф. Мясоедов²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 414000, Россия, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук 123182, Россия, г. Москва, пл. акад. Курчатова, 2

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Астраханский государственный университет 414000, Россия, г. Астрахань, пл. Шаумяна, 1

E-mail: alfia-imacheva@mail.ru

Получено 08.08.2019

Рецензия (1) 25.10.2019

Рецензия (2) 18.11.2019

Принята к печати 11.12.2019

В работе изучены морфологические особенности кожи крыс при стрессорном воздействии – ожоговой травме и на фоне коррекции лекарственными средствами пептидной структуры.

Цель исследования – изучение регулирующего влияния нейропептидных лекарственных средств Семакса (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) и Селанка (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) в условиях термического ожогового воздействия.

Материалы и методы. Объектом исследования служили покровные ткани (кожа, подкожная клетчатка) лабораторных животных-нелинейных крыс-самцов (n=36), иссеченные из зоны термической травмы. Термический ожог кожи вызывали наложением медного предмета в межлопаточной области спины крыс. Начиная с первых суток после травмы внутрибрюшинно вводили нейропептидные лекарственные средства Семакс (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) и Селанк (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) в дозах 100 мкг/кг ежедневно в течение всего периода эксперимента. Для оценки состояния тканей кожи изготавливали гистологические срезы толщиной 5–6 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Состоятельность системного влияния нейропептидных препаратов оценивали по изменению некоторых показателей иммунной системы.

Результаты. Термическое воздействие вело к развитию значительных дегенеративных и дистрофических изменений в коже. Восстановление ожоговой раны кожи крыс протекало по типу замедленной частичной репаративной регенерации, сопровождающейся деструктивными явлениями и формированием рубцовой ткани. Под влиянием лекарственных средств на основе регуляторных пептидов Семакса (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) и Селанка (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) восстановление ожоговых ран у крыс протекало интенсивнее, по сравнению с животными из группы без коррекции, что подтверждалось более ранними признаками начала репаративной регенерации кожи: ограничением деструктивных процессов в пределах эпидермиса и дермы, отсутствием гнойно-некротических осложнений, начальными фазами грануляции и эпителизации, ранним отторжением струпа и частичным закрытием дефекта.

Заключение. Применение нейропептидных лекарственных средств Семакса и Селанка в качестве системных средств коррекции раневых дефектов кожи экспериментальных животных доказывает их полипотентную эффективность, расширяет терапевтические возможности и раскрывает новые перспективы их применения.

Ключевые слова: ожоговая рана, структурные преобразования, нейропептидная регуляция, Семакс, Селанк

Для цитирования: А.К. Ажигова, Б.В. Фельдман, Л.А. Андреева, Д.Д. Теплый, М.А. Сомотруева, Н.Ф. Мясоедов. Структурные преобразования термической ожоговой раны у крыс в условиях воздействия нейропептидов Семакс и Селанк. *Фармация и фармакология*. 2019;7(6): 321-331. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-321-331

© А.К. Ажигова, Б.В. Фельдман, Л.А. Андреева, Д.Д. Теплый, М.А. Сомотруева, Н.Ф. Мясоедов, 2019

For citation: A.K. Azhikova, B.V. Feldman, L.A. Andreeva, D.D. Teply, M.A. Somotrueva, N.F. Myasoedov. Structural transformations of thermal burn wounds in rats under the influence of Semax and Selank neuropeptides. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(6): 321-331. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-321-331

STRUCTURAL TRANSFORMATIONS OF THERMAL BURN WOUNDS IN RATS UNDER THE INFLUENCE OF SEMAX AND SELANK NEUROPEPTIDES

A.K. Azhikova¹, B.V. Feldman¹, L.A. Andreeva²,
D.D. Teply³, M.A. Samotrueva¹, N. F. Myasoedov²

¹ Astrakhan State Medical University

121, Bakinskaya Str., Astrakhan, Russia 414000

² Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences

2, Acad. Kurchatov Square, Moscow, Russia 123182

³ Astrakhan State University

1, Shahumyan Square, Astrakhan, Russia 414000

E-mail: alfia-imacheva@mail.ru

Received 8 August 2019

Review (1) 25 October 2019

Review (2) 18 November 2019

Accepted 11 December 2019

The morphological features of the skin of rats under the stress exposure, such as burn injury and against the background of the correction by the drugs of the peptide structure, have been studied.

The aim of the study was to investigate the regulatory effect of the neuropeptide drugs Semax (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) and Selank (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) under the conditions of thermal burn exposure.

Materials and methods. The object of the study was integumentary tissues (skin, subcutaneous tissue) of laboratory non-linear male rats ($n = 36$) excised from the thermal injury zone. A thermal burn of the skin had been caused by the application of a copper object in the interscapular in the interscapular dorsal area. Starting from the first day after the injury, neuropeptide drugs Semax (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) and Selank (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) had been administered intraperitoneally at the doses of 100 $\mu\text{g/kg}$ daily during the entire period of the experiment. To assess the condition of the skin tissues, histological sections 5–6 μm thick were prepared, stained afterwards with hematoxylin and eosin. The consistency of the systemic effect of the neuropeptide drugs was estimated by a change in some indicators of the immune system.

Results. The thermal exposure led to the development of significant degenerative and dystrophic changes in the skin. The recovery of the burn wounds on rats' skins proceeded according to the type of the delayed partial reparative regeneration, accompanied by destructive phenomena and the formation of the scar tissue.

Under the influence of the drugs based on the regulatory peptides of Semax (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) and Selank (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro), the recovery of burn wounds in rats proceeded more intensively, compared with the animals from the group without any correction. This fact was confirmed by the earlier signs of the beginning of the reparative skin regeneration: the restriction of destructive processes within the epidermis and dermis, the absence of purulent-necrotic complications, the initial phases of granulation and epithelization, an early scab rejection and a partial closure of the defect.

Conclusion. The use of the neuropeptide drugs Semax and Selank as systemic remedies for the correction of wound skin defects in experimental animals proves their polypotent effectiveness, expands the therapeutic possibilities and opens up new prospects for their use.

Keywords: burn wound, structural transformations, neuropeptide regulation, Semax, Selank

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы изучение патогенеза термических травм кожи направлено на выявление особенностей ответа иммунной, нервной и эндокринной систем, обеспечивающих механизмы активации регенераторных процессов, а также на поиск новых средств коррекции нарушений межсистемных взаимодействий при патологических изменениях [1–4]. Многочисленные исследования рассматривают сложные связи, посредством которых реализуются реакции нейрогенного и иммунологически-индуцированного воспаления в условиях повреждения кожи [5–8].

На фоне термического стрессорного воздействия наряду с деструктивными, дистрофическими [9–13], инфекционными проявлениями в коже наблюдаются признаки иммунного дисбаланса, дисфункции имму-

нокомпетентных клеток, недостаточная местная резистентность [14–17], происходят дезорганизация в эмоциогенных зонах головного мозга [18–21], формирование и запуск реакций стресс-адаптивного и/или стресс-деадаптивного характера организма [22–26].

В настоящее время в качестве эффективных средств коррекции стресс-индуцированных нарушений гомеостаза в клинической практике активно применяют лекарственные средства пептидной природы, выступающие регуляторами межсистемного взаимодействия. В этой связи большой интерес представляют нейропептидные лекарственные препараты, обладающие ноотропным, нейрометаболическим, иммуномодулирующим влиянием, в частности аналог адренокортикотропного гормона – Семакс (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) и производное тафцина – Селанк (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) [27, 28]. При-

менение синтезированных пептидных препаратов повышает адаптационные возможности организма в условиях стрессового воздействия, способствует восстановлению структур центральной нервной системы, коррекции иммунных и гуморальных нарушений. Помимо этого, данные лекарственные средства в условиях стрессорного воздействия оказывают коррегирующее влияние на соматические нарушения, восстанавливая адекватную мотивационную деятельность и активируя адаптивное поведение [29–31]. Экспериментальные и клинические данные подтверждают также анксиолитическое, антидепрессивное, психоактивирующее, стресспротективное, вегетотропное влияние указанных препаратов [32–34]. Однако результаты исследований последних лет не дают полного представления о репаративной возможности данных препаратов и о механизмах их стимулирующего дерматропного действия.

На сегодняшний день, стимуляция восстановительного потенциала кожи сводится к применению средств, комплексно коррегирующих нарушения нейроиммунноэндокринных взаимодействий на уровне кожи [35, 36]. Одним из видов системного лечения является нейропептидная коррекция. Так, в исследовании, посвященном изучению иммуноотропных, антиоксидантных эффектов нового аналога тимогена H2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH, модифицированного D-аланином с C-конца пептида в условиях кожных ран, установлены и репаративные свойства нейропептида [37].

В ходе экспериментального исследования пептидных препаратов Gly-His-Lys, даларгина и тимогена выявлено их участие в репаративной регенерации кожи, выраженное активацией восстановительных процессов и стимуляцией заживления кожных ран [38]. Доказано значительное улучшение течения псориаза, снижение активности воспалительного процесса, уменьшение площади пораженной псориазом кожи у пациентов, принимавших Семакс в составе комплексной терапии

Результаты исследования, описывающего комбинированное лечение акне нейропептидным препаратом Семакс и надвенным лазерным облучением крови, свидетельствовали об уменьшении кожных проявлений и изменении самооценки личности среди алекситимичных больных [39]. Использование препарата Семакс при комплексном лечении больных угревой болезнью способствовало повышению клинической эффективности терапии.

О важной роли регуляторных пептидов в коррекции физиологических стресс-лимитирующих механизмов свидетельствует коррекция Семаксом в составе комплексной терапии atopического дерматита [40]. Установлено, что применение гептапептида способствовало ослаблению зуда, улучшению качества сна, положительной динамике дерматологических индексов на фоне отсутствия побочных эффектов, характерных для терапии глюкокортикоидными гормонами.

Приведенные результаты обосновывают положение о тесном структурно-функциональном спец-

ифическом взаимодействии нейроэндокринной, иммунной систем и кожи, как в физиологических условиях, так и в условиях развития некоторых патологий кожи. Данные исследования, посвященные выявлению ранозаживляющих эффектов нейропептидов, определили научный интерес и значимость изучения нейропептидной регуляции репарации в условиях ожогового воздействия.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – изучение регулирующего влияния нейропептидных лекарственных средств Семакса (*Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro*) и Селанка (*Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro*) в условиях ожогового воздействия термической природы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные исследования

Эксперимент проводили на 36 белых нелинейных крысах-самцах 7-месячного возраста, массой 200–230 г, предоставленных ФГБОУ ВО Астраханский государственный университет (г. Астрахань). Животных содержали в стандартных условиях вивария (в естественном режиме освещения, при температуре воздуха 22–24°C и влажности 60±5%) на базе кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, в индивидуальных клетках с опилковой подстилкой при свободном доступе к воде и пище.

Животные были разделены на 4 группы в зависимости от типа воздействия и коррекции:

I группа – животные, не подвергшиеся ожоговому воздействию – интактные (n=8);

II группа – животные, подвергшиеся ожоговому воздействию и не получавшие средства коррекции (контрольная, n=8);

III группа – животные, подвергшиеся ожоговому воздействию и получавшие ежедневное внутрибрюшинное введение растворённого в воде пептида Семакса в дозе 100 мкг/кг (n=10);

IV группа – животные, подвергшиеся ожоговому воздействию и получавшие ежедневное внутрибрюшинное введение растворённого в воде пептида Селанка в дозе 100 мкг/кг (n=10).

Во время эксперимента оценивали общее состояние лабораторных животных. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986), Хельсинкской декларацией, принятой Генеральной ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации (1964–2013), Приказом № 199н Минздрава России от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

Модель ожоговой травмы

Ожоговые раны кожи крыс моделировали в депилированной зоне межлопаточной области спины с помощью медного предмета диаметром 1,5 см, нагретого в кипящей воде до температуры 100°C, в

условиях слабой эфирной наркотизации. Продолжительность экспозиции составляла 5 сек.

У животных контрольной группы восстановление кожного дефекта проходило естественным путем. Особям III и IV опытных групп, начиная с первых суток после термического воздействия, ежедневно в течение всего периода эксперимента проводили внутрибрюшинное введение растворённых в воде пептидов Семакса и Селанка соответственно (Российское АО «Инновационный Научно-производственный Центр «Пептоген», ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Россия), в дозе 100 мкг/кг/сут курсом 10 дней.

В ходе эксперимента наблюдали за общим состоянием животных [41], оценивали внешний вид и размер ожоговых ран, характер отделяемого и сроки отхождения струпа, осуществляли фотосъемки раневой поверхности.

Комплексное влияние нейропептидных препаратов оценивали по изменению некоторых показателей иммунной системы. О функциональной активности и адаптивности иммунной системы судили по следующим тестам – определение общего количества лейкоцитов, оценка лейкоцитарной формулы и лейкоцитарного коэффициента и определение массы иммунокомпетентных органов.

Степень восстановления кожного дефекта оценивали планиметрическим способом. Для этого на рану накладывали прозрачное пленочное покрытие, на котором маркировали границы ран. Измерение размеров и площадей ран осуществляли сразу после моделирования ожоговых ран и затем ежедневно до конца эксперимента. Площадь раневой поверхности в ходе эксперимента определяли по методике, разработанной В.Я. Васюковым, Н.В. Проценко (1993). Площадь раневой поверхности соответствовала площади окружности: $S = \pi \times R^2$; где R – расстояние от центра раны до периферии.

На основании параметра «площадь ран» вычисляли процентное уменьшение площади ран от исходного размера, что служило критерием скорости эпителизации поврежденной кожи. Степень заживления ожоговой раны или скорость эпителизации (ΔS) рассчитывали в процентах как изменение площади по отношению к исходной по группе по формуле Л.Н. Поповой (1942): $\Delta S = ((S - S_n) / S \times t) \times 100$; где: S – величина площади раны при первом измерении (см²), S_n – величина площади раны в день последующего измерения (см²), t – число суток между измерениями.

Забор и подготовка биоматериала

Биологическим материалом в исследовании служили ткани кожи. Забор материала производили на 10-е сутки после начала эксперимента. Выведение животных из эксперимента путем декапитации про-

водили под анестезией с использованием этиламала натрия. Для морфологического исследования кожи использовали ткани (эпидермис, дерма, подкожная клетчатка), иссеченные из зоны термического повреждения межлопаточной области спины крыс всех исследуемых групп. Образцы кожи фиксировали в 10%-ном нейтральном забуференном формалине (ООО «Биовитрум», Россия). Материал промывали, проводили по растворам спиртов различной концентрации, растворам ксилола, заливали в парафин, изготавливали срезы толщиной 5–6 мкм. Для оценки общеморфологического состояния слоев кожи окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопические наблюдения гистологических препаратов осуществляли в проходящем свете при увеличении 100х (объектив 10х, окуляр WF-10х/18) цифрового биологического тринокулярного микроскопа «Альтами БИО 8» (ООО «Альтами», Россия). Микрофотосъемку проводили с использованием камеры 3 Мпикс и программного обеспечения Altami Studio 3.4x64/Ink.

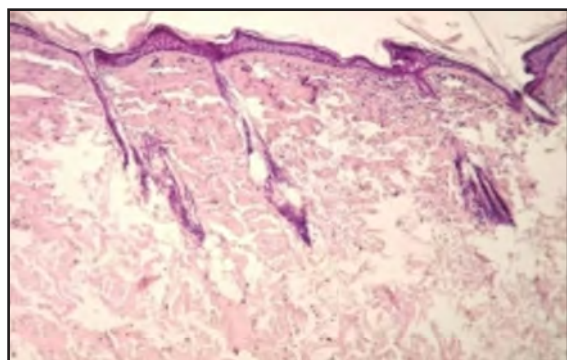
Методы статистической обработки результатов

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Excel 2000, методами вариационной статистики, включая вычисление средних величин (M), стандартных ошибок средних величин ($\pm m$). Для оценки достоверности (значимости) различий двух средних величин применяли t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате экспериментального исследования установлено, что термический ожог кожи крыс вызывал не только местные реакции, но и приводил к изменению общего состояния организма – наблюдались «потускнение» и выпадение шерстного покрова, дезорганизованные передвижения животных по клетке, снижение динамики прироста массы тела.

Микроскопический анализ гистологических срезов тканей кожи ожоговой раны крыс всех опытных групп показал наличие структурных изменений кожи по сравнению с интактными животными (I группа – контрольная) (рис. 1). Эпидермис межлопаточной области интактных крыс представлен многослойным плоским ороговевающим эпителием. Роговой слой представлен равномерным пластом. В шиповатом слое насчитывается до 2-х рядов кератиноцитов, в зернистом – 2–3 ряда безъядерных клеток. На уровне росткового, или мальпигиева, слоя видны эпителиальные клетки. Клетки базальной мембраны расположены в один ряд. На уровне дермы расположены сальные железы и волосяные фолликулы, сосуды микроциркуляторного русла.



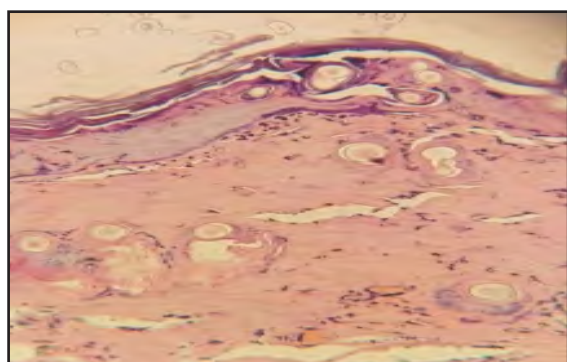
А



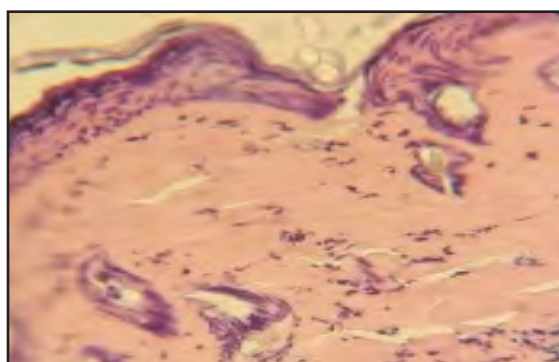
В

Рисунок 1 – Микрофотография кожного лоскута, иссеченного на 10 сутки у intactных крыс

Примечание: окраска гематоксилин и эозин (Ув. x100, об.10х (А). Ув. x 400, об. 40х (В), ок.WF-10х/18)



А



В

Рисунок 2 – Микрофотография кожного лоскута, иссеченного в области раны на 10 сутки после ожогового воздействия у крыс, не получавших средства коррекции

Примечание: окраска гематоксилин и эозин (Ув. x100, об.10х (А). Ув. x 400, об.40х (В), ок.WF-10х/18)

А – Край ожоговой раны. На уровне эпидермиса и дермы выраженный коагуляционный некроз и воспалительная инфильтрация; в подлежащей жировой клетчатке – лимфоидная инфильтрация (гиперплазия лимфоидных фолликулов).

В – Некротические изменения с нарушением структуры тканей

Таблица 1 – Влияние нейропептидов Семакс и Селанк на функциональную активность иммунной системы

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы (n = 10)			
	I группа Intactная группа	II группа Контрольная группа	III группа (животные, получавшие Семакс)	IV группа (животные, получавшие Селанк)
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	27,7±0,4	84,5±4,5*	103,3±0,2###	99,3±0,6##
Эозинофилы, %	5,7±0,2	4,3±0,2***	6,7±0,2###	6,3±0,2###
Палочкоядерные нейтрофилы, %	12,0±0,4	26,5±0,6*	14,2±0,2###	14,9±0,4###
Сегментоядерные нейтрофилы, %	19,3±0,2	13,9±0,4***	20,8±0,2###	19,7±0,4###
Лимфоциты, %	61±0,6	53,7±1,1*	56,3±0,4##	57,3±0,6#
Моноциты, %	2,0±0,2	1,6±0,2*	2,0±0,1##	1,8±0,2##
Лейкоцитарный коэффициент	3,1±0,4	3,9±0,4*	2,7±0,2##	2,9±0,4##
Масса тимуса, мг	51±0,4	31±5,4**	73±6,0##	68±0,4##
Масса селезенки, мг	352,3±0,6	456±10,3**	572±39,6##	583±31,4##

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно intactной группы; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – относительно контрольной группы; t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений.

Наряду с признаками общей поведенческой дезорганизации, у животных II группы, наблюдались выраженные деструктивные изменения, захватывающие эпидермис, дерму и гиподерму. Воспалительные явления при этом превалировали над репаративными. В зоне ожоговой поверхности макроскопически наблюдалась гнойная воспалительная реакция, у части животных наблюдался геморрагический струп серо-бурого цвета. К 10-м суткам у животных наблюдалось сукровичное отделяемое, полость раны была покрыта некротизированной массой.

Микроскопически выявлено, что зона термического воздействия была лишена многослойного плоского эпителия, в некоторых местах наблюдались некротические элементы в виде складок. Гиперемизованная дерма выглядела отечной из-за серозного воспаления, большого количества экссудата и клеточных элементов, без выраженной дифференцировки на сосочковый и сетчатый слои. Сосочковый слой эпидермиса был разрушен. В сетчатом слое наблюдалась межклеточная отечность и инфильтрация макрофагами и лимфоцитами. Базальная мембрана отчетливо не определялась (рис. 2).

На фоне коррекции термической травмы кожи крыс препаратами нейропептидной природы у животных III и IV групп наблюдались признаки улучшения общего состояния, восстановление активности, положительная динамика веса.

Одним из этапов работы было изучение состояния иммунного статуса организма в условиях «ожогового» стресса и его коррекции. В результате исследования влияния Семакса и Селанка на общее количество лейкоцитов и показатели лейкоцитарной формулы в условиях термического ожога было установлено, что данные пептидные препараты активировали лейкоцитарную реакцию: увеличивалось общее число лейкоцитов, среди которых лимфоциты, эозинофилы, моноциты, сегментоядерные нейтрофилы восстанавливались до нормальных значений. Введение нейропептидов приводило к снижению палочкоядерных форм нейтрофилов более чем на 50% ($p < 0,001$), к нормализации числа сегментоядерных нейтрофилов на 50% ($p < 0,001$). (табл. 1). Повышение уровня индекса Гаркави в условиях термического ожога можно трактовать как степень ответной реакции на стрессовое состояние, так называемой «переактивации» организма, в условиях активного воспалительного процесса. Применение Семакса и Селанка способствовало восстановлению индекса до нормальных значений и активации адаптационных реакций.

В ходе исследования было также установлено, что термический ожог провоцировал инволюцию иммунокомпетентных органов: селезенки более чем на 60% ($p < 0,01$), тимуса более чем на 40% ($p < 0,01$). Изучаемые препараты способствовали увеличению

массы селезенки в среднем на 40% ($p < 0,01$), а также массы тимуса более чем на 50% ($p < 0,01$), по сравнению с показателями контрольной группы.

В ходе макроскопических наблюдений выявлено, что применение нейропептидов Семакса и Селанка в дозе 100 мкг/кг/сут в условиях ожогового воздействия уже на 4-е сутки нивелировало развитие воспалительного процесса, способствовало стягиванию краев раны и, как следствие, сокращению ее размеров. Как видно из данных табл. 2 и 3, на 10 суток послеожогового процесса в опытных группах наблюдалось снижение площади ожоговой раны более чем на 60% ($p < 0,01$), что соответствовало ускорению сроков восстановления ран на 30% ($p < 0,05$), по сравнению с контрольной группой (табл. 4, 5).

В III группе животных, подвергшихся ожоговому воздействию и получавших Семакс, поверхность раны была представлена слабоотечной по центру, по ее краям наблюдались растущие волосянные стержни. Отмечались воспалительные проявления окружающих тканей в виде слабой отечности. Границы раны существенно сужались. Было выражено нарастание грануляционной ткани под частично отторгаемым струпом. Наблюдался рост эпителия с краев раны.

Микроскопический анализ фрагментов кожи, иссеченных на 10-е сутки эксперимента в зоне термической травмы, показал, что эпидермальные слои были немного разрушены, наблюдался частичный некроз многослойного плоского эпителия. Эпидермис был представлен темной пластинкой, местами отслоившейся от сосочкового слоя дермы. Под струпом определялась зона регенерата в виде широкого пласта новообразующейся грануляционной ткани (рис. 3). Сосочковый слой выглядел отечным, без контуров соединительнотканых волокон, однако были идентифицированы темные ядра клеток соединительной ткани. Сосочковый слой сохранял неровные края. Сетчатый слой представлялся широким, слабоотечным; наблюдались темные ядра клеток соединительной ткани. Нижняя часть сетчатого слоя инфильтрована лимфоцитами. Обнаружены волосянные сумки из некротически измененных коллагеновых волокон; в волосяных влагалищах – отдельные клетки со светлыми ядрами. Наблюдался слабо выраженный неоангиогенез.

Макроскопический анализ ожоговой раны животных IV группы показал, что на 10-е сутки после ожогового воздействия и коррекции Селаксом на коже спины крыс наблюдалась слабо отечная и гиперемизованная рана с неровными очертаниями, без гнойного экссудата и некротизированных элементов. Воспаление окружающих рану тканей умеренное. Визуально выражен процесс краевой эпителизации раны. Наблюдалось нарастание грануляционной ткани со дна раны. Под частично отделившимся струпом проявлялись придатки кожи.

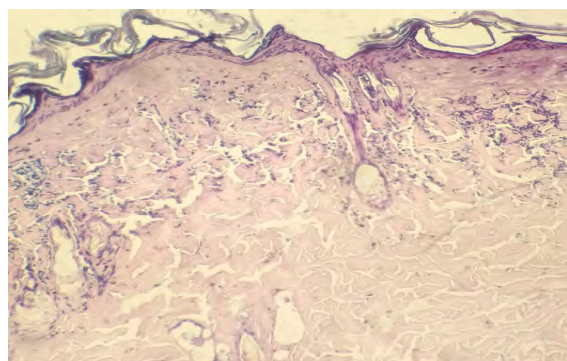
Таблица 2 – Динамика изменений площадей ожоговых ран крыс в условиях термической травмы кожи и на фоне воздействия Семакс и Селанк

		Сроки наблюдения (сут.) / Площадь ран, см ²				
Группа	№	1	3	5	7	10
Контрольная группа	1	1,76	1,76	1,63	1,50	1,42
	2	1,76	1,76	1,63	1,51	1,41
	3	1,76	1,76	1,62	1,54	1,39
	4	1,76	1,75	1,62	1,52	1,42
	5	1,76	1,75	1,62	1,57	1,39
	6	1,76	1,76	1,63	1,52	1,41
	7	1,76	1,76	1,63	1,54	1,42
	8	1,76	1,75	1,61	1,53	1,34
III группа (животные, получавшие Семакс)	1	1,76	1,54	1,34	1,14	0,78
	2	1,76	1,58	1,37	1,19	0,74
	3	1,76	1,55	1,35	1,18	0,77
	4	1,76	1,53	1,32	1,19	0,79
	5	1,76	1,57	1,34	1,13	0,76
	6	1,76	1,58	1,35	1,18	0,69
	7	1,76	1,58	1,39	1,19	0,78
	8	1,76	1,59	1,35	1,17	0,77
	9	1,76	1,59	1,36	1,18	0,78
	10	1,76	1,55	1,31	1,16	0,77
IV группа (животные, получавшие Селанк)	1	1,76	1,59	1,33	1,19	0,74
	2	1,76	1,58	1,32	1,22	0,80
	3	1,76	1,59	1,31	1,24	0,77
	4	1,76	1,53	1,34	1,28	0,79
	5	1,76	1,58	1,33	1,24	0,77
	6	1,76	1,58	1,33	1,29	0,78
	7	1,76	1,58	1,32	1,25	0,79
	8	1,76	1,59	1,35	1,27	0,81
	9	1,76	1,57	1,28	1,24	0,79
	10	1,76	1,57	1,33	1,29	0,81

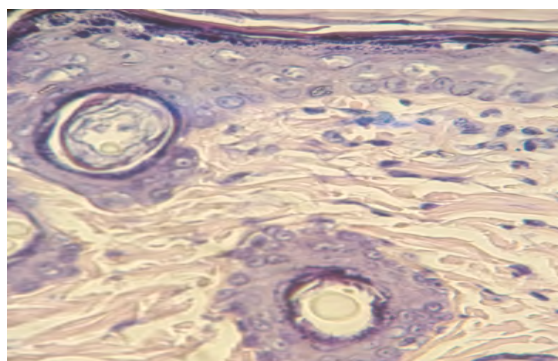
Таблица 3 – Планиметрические показатели раневой поверхности крыс в условиях термической травмы кожи и на фоне воздействия Семакс и Селанк (M±m)

Группы животных	Размеры раневой поверхности (см ²)				
	1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки	10 сутки
II группа (Контрольная)	1,76	1,76±0,01	1,62±0,01	1,53±0,01	1,4±0,01
III группа (животные, получавшие Семакс)	1,76	1,56±0,01***	1,35±0,01***	1,17±0,01***	0,76±0,01*
IV группа (животные, получавшие Селанк)	1,76	1,58±0,01***	1,32±0,01***	1,25±0,01***	0,79±0,01*

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно контрольной группы (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений).



A



B

Рисунок 3 – Микрофотография кожного лоскута, иссеченного в области раны на 10 сутки после ожогового воздействия у крыс, получавших Семакс

Примечание: окраска гематоксилин и эозин (Ув. x100, об.10х (A). Ув. x 400, об.40х (B), ок.WF-10х/18);

A – Слабовыраженная отечность тканей. Умеренная лейкоцитарная инфильтрация в подлежащей фиброзной и жировой ткани. B – Полнокровные сосуды и умеренная лейкоцитарная инфильтрация (отдельные участки диапедеза лейкоцитов через стенку капилляров в ткань)

Таблица 4 – Динамика восстановления ожоговых ран крыс в условиях термической травмы кожи и на фоне воздействия Семакс и Селанк

Группа	№	Сроки наблюдения (сут.) / Степень восстановления (%)				
		1	3	5	7	10
Контрольная группа	1	0,00	0,00	7,39	14,77	19,32
	2	0,00	0,00	7,38	14,20	19,89
	3	0,00	0,00	7,95	12,50	21,02
	4	0,00	0,56	7,95	13,64	19,32
	5	0,00	0,56	7,95	10,79	21,02
	6	0,00	0,00	7,39	13,64	19,89
	7	0,00	0,00	7,39	12,50	19,32
	8	0,00	0,56	8,52	13,07	23,86
	9	0,00	12,5	23,9	35,2	55,7
	10	0,00	10,2	22,2	32,4	57,9
III группа (животные, получавшие Семакс)	1	0,00	11,9	23,3	32,9	56,3
	2	0,00	13,1	25,0	32,4	55,1
	3	0,00	10,8	23,9	35,8	56,8
	4	0,00	10,2	23,3	32,9	60,8
	5	0,00	10,2	21,0	32,4	55,7
	6	0,00	9,7	23,3	33,5	56,3
	7	0,00	9,7	22,7	32,9	55,7
	8	0,00	11,9	25,6	34,1	56,3
	9	0,00	9,7	24,4	32,4	57,9
	10	0,00	10,2	25,0	30,7	54,5
IV группа (животные, получавшие Селанк)	1	0,00	09,7	25,6	29,5	56,3
	2	0,00	13,1	23,9	27,3	55,1
	3	0,00	10,2	24,4	29,5	56,3
	4	0,00	10,2	24,4	26,7	55,7
	5	0,00	10,2	25,0	28,9	55,1
	6	0,00	9,7	23,3	27,8	54,1
	7	0,00	10,8	27,3	29,5	55,1
	8	0,00	10,8	24,4	26,7	54,1
	9	0,00	10,2	25,0	30,7	54,5
	10	0,00	10,2	24,4	26,7	54,1

Таблица 5 – Скорость эпителизации ожоговых ран крыс в условиях термической травмы кожи и на фоне воздействия Семакс и Селанк (M±m)

Группы животных	Скорость эпителизации (%)				
	1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки	10 сутки
II группа (Контрольная)	0,00	0,21±0,24	7,74±0,35	13,14±1,04	20,46±1,31
III группа (животные, получавшие Семакс)	0,00	11,02±0,41***	23,42±0,55*	33,45±0,40**	56,66±0,68*
IV группа (животные, получавшие Селанк)	0,00	10,46±0,44***	24,77±0,48*	28,9±0,68**	55,42±0,45*

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно контрольной группы (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений).

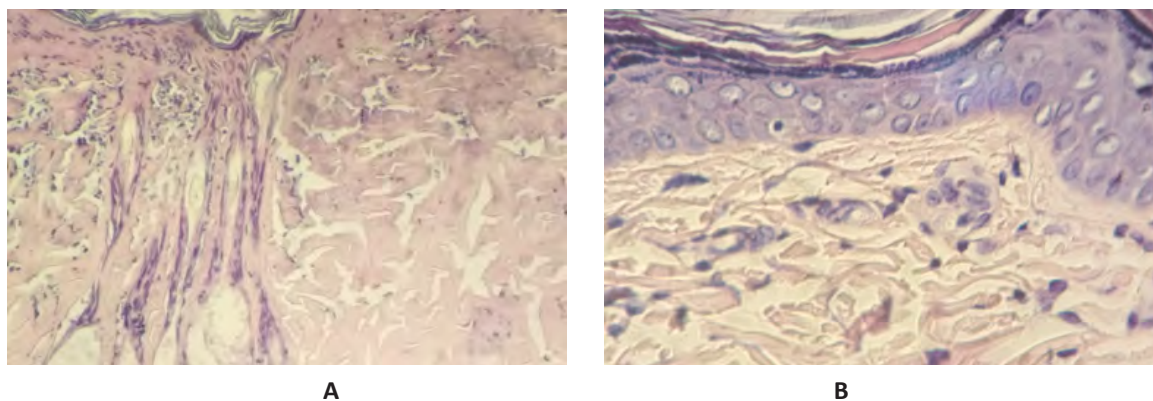


Рисунок 4 – Микрофотография кожного лоскута, иссеченного в области раны на 10 сутки после ожогового воздействия у крыс, получавших Селанк

Примечание: окраска гематоксилин и эозин (Ув. х100, об.10х (А). Ув. х 400, об.40х (В), ок. WF-10х/18)

А – Фрагмент кожи с подлежащими тканями. В подлежащих тканях умеренная диффузная лейкоцитарная инфильтрация.

В – Фрагмент кожи с подлежащими тканями. На уровне дермы отечность, в подлежащей фиброзной ткани очаги умеренной лейкоцитарной инфильтрации, достигающие дермы.

Морфологическая картина в зоне ожоговой раны кожи, иссеченной на 10 сутки у крыс, подвергшихся ожоговому воздействию и получавших Селанк (IV группа) (рис. 4), сопоставима с визуализацией активности Семакса. В этот временной период установлена активизация новообразования сосудов, гипертрофия пограничной зоны эпидермиса, были заметны пролиферирующие клетки. Верхние слои эпидермиса были слущены. На их месте обнаружены темные пласты, отслоившиеся от базальной мембраны. Собственно базальная мембрана представлена широкой пластинкой темного цвета на сосочковом слое. Сосочковый слой характеризовался малой шириной, волнообразной формы. В верхней части его отмечен частичный некроз. Сетчатый слой широкий, верхняя его часть насыщена ядрами клеток соединительной ткани. В нижней части сетчатого слоя наблюдались некротические изменения, хотя в большинстве полей зрения имела место инфильтрация лимфоцитами. Обнаружены волосяные сумки из некротически измененных коллагеновых волокон. В нижних частях волосяных влагилиц определялись отдельные эпителиальные светлые клетки с округлыми ядрами. Вокруг волосяных сумок была отмечена инфильтрация лимфоцитами.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблема послеожоговой регенерации кожи имеет большое медико-социальное значение в связи со значительной распространенностью ожогового травматизма, сложностью патогенеза ожоговой травмы, инвалидизацией пострадавших, особенностью социальной дезадаптации, а также с высоким уровнем смертности [42]. Причинами летальности являются микроваскулярные и мембранные повреждения, ожоговый сепсис, метаболические и гормональные изменения, глубокие системные нарушения и развитие синдрома полиорганной недостаточности [33]. Несмотря на накопленный опыт в лечении ожоговой болезни, вопрос о морфогенетических изменениях при термической травме кожи остается малоизученным и определяет актуальность проблемы.

В ходе экспериментального исследования установлено, что в условиях термической травмы кожи в течение первых трех суток наблюдаются не только местные кожные воспалительные реакции, но и изменение общего состояния организма: «потускнение» и выпадение шерстного покрова, дезорганизованные передвижения животных по клетке, вялость, адинамичность, снижение динамики прироста массы тела. Основываясь на результатах морфологического исследования фиксированных тканей кожи, выявлены значительные дегенеративные изменения поврежденной кожи и явления торможения репаративных процессов. Восстановление ожоговой раны кожи у животных контрольной группы протекало физиологическим путем, сопровождающимся деструктивными явлениями и формированием рубцовой ткани.

В настоящее время для восстановления ран кожи разного генеза, стимуляции репарации тканей большой интерес представляют поиск и разработка эффективных средств коррекции повреждений кожи, а также определение роли патогенетических звеньев комплексных системных нарушений гомеостаза организма. Принимая во внимание тесную взаимосвязь между кожей, иммунной, нервной и эндокринной системами, в исследовании патогенеза ран кожи и ее восстановительного потенциала особое внимание отводится изучению регуляции этих процессов со стороны нейроиммунно-эндокринных взаимодействий и их нарушений.

На сегодняшний день в качестве эффективных средств коррекции нарушений гомеостаза в условиях стресса все чаще применяют регуляторные пептиды, в частности аналог адренокортикотропного гормона – Семакс (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) и производное тафцина – Селанк (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro). Применение синтезированных пептидных препаратов повышает адаптационные возможности организма в условиях стрессового воздействия, способствует восстановлению структур центральной нервной системы, коррекции иммунных и гуморальных нарушений.

Вместе с тем результаты исследований последних лет не дают полного представления о репаративной возможности данных препаратов и о механизмах их стимулирующего дерматропного действия.

В проведенном исследовании, посвященном оценке морфологических особенностей кожи крыс в условиях термической травмы кожи, у животных, получавших Семакс и Селанк, было установлено купирование дегенеративных и дистрофических преобразований в ране за счет стимуляции «запуска» адаптивных репаративных процессов в коже и системной регуляции репарации. Микроскопический анализ структурных особенностей слоев кожи крыс, получавших внутривенно нейропептидные препараты Семакс и Селанк, подтвердил более раннее начало процессов репаративной регенерации кожи, что проявлялось в виде сокращения деструктивных явлений в ране и нивелирования воспалительных реакций, а также признаками раннего отторжения струпа, формирования грануляционной ткани и ускоренной эпителизации ожоговой раны. В ходе изучения системного влияния Семакса и Селанка в условиях термического воздействия было установлено, что данные нейропептидные препараты обладают регуляторными, стресс-приспособительными и иммунокорректирующими свойствами, восстанавливающими показатели лейкоцитарной формулы, лейкоцитарного коэффициента и массы иммунокомпетентных органов (тимуса и селезенки). Подобные положительные результаты доказывают состоятельность системной координации в стимуляции восстановительного потенциала поврежденной кожи и других патологических процессов в организме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Понимание молекулярных механизмов комплексной регуляции патофизиологических процессов в коже объясняет характер адаптивных процессов на уровне целостного организма, лежит в основе системного подхода в коррекции раневых повреждений и осуществления управляемой регенерации кожи, что доказывает их полипотентную эффективность, расширяет терапевтические возможности и раскрывает новые перспективы их применения.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

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

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Абдуллоев Д.А., Холов Б.А., Чакалов Т.Г., Зубайдов Т.У. Влияние реамберина в сочетании в мексидолом на показатели гомеостаза у больных с термической травмой // Вестник Авиценны – 2013. – Т. 4, № 57. – С. 32–35.
2. Донцова Е.В. Иммунные нарушения у больных псориазом с метаболическим синдромом и их коррекция при комплексной терапии с использованием медикаментозных и немедикаментозных средств // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. – 2014. – № 1. – С. 65–68.
3. Kolter J, Feuerstein R, Zeis P, Hagemeyer N, Paterson N, d'Errico P, Baasch S, Amann L, Masuda T, Lösslein A, Gharun K, Meyer-Luehmann M, Waskow C, Franzke CW, Grün D, Lämmermann T, Prinz M, Henneke P. A Subset of Skin Macrophages Contributes to the Surveillance and Regeneration of Local Nerves. *Immunity*. 2019 Jun 5. pii: S1074-7613(19)30229-8. doi: 10.1016/j.immuni.2019.05.009.
4. Zhou S, Hokugo A, McClendon M, Zhang Z, Bakshi R, Wang L, Segovia LA, Rezzadeh K, Stupp SI, Jarrahy R. Bioactive peptide amphiphile nanofiber gels enhance burn wound healing. *Burns*. 2019 Aug;45(5):1112–1121. doi: 10.1016/j.burns.2018.06.008.
5. Вуколова М.Н., Курочкина И.М. Патофизиологический анализ раневого процесса и заживления ран // В сборнике: Молодежь в науке: новые аргументы сборник научных работ V Международного молодежного конкурса. – 2016. – С. 138–143.
6. Фисталь Э.Я. Раневой процесс и результаты хирургического лечения обширных ран – взгляд на проблему // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2016. – Т. 1. № 2. – С. 157–163.
7. Степенко Ю.В., Солдатов В.О., Затолокина М.А., Майорова А.В., Сысуев Б.Б., Демиденко А.Н., Ивахно Е.Н., Сарычева М.В., Покровский М.В. Стимуляция репарации в модели линейной раны у крыс гелем с бишофитом // Фармация и фармакология. – 2019. – Т. 7. №1. – С. 42–52. doi: 10.19163/2307-9266-2019-7-1-42-52.
8. Александрова А.В. Стимуляция заживления ожоговой раны синтетическим ингибитором матричных металлопротеиназ доксициклином // Збірник тез міжвузівськ. конф. молодих вчених та студентів «Актуальні питання діагностики та лікування болю». Харків. – 2011. – С. 6–6.
9. Кириченко А.К., Большаков И.Н., Али-Риза А.Э., Власов А.А. Морфологический анализ заживления ожоговой раны при применении коллаген-хитозанового раневого покрытия // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154. № 11. – С. 652–656.
10. Глуткин А.В., Ковальчук В.И., Островская О.Б. Морфологические изменения кожи при термическом ожоге у крыс в условиях коррекции внутривенным лазерным облучением крови и эмоксилином // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2013. – № 3 (43). – С. 87–91.
11. Шестакова В.Г., Баженов Д.В. Корелляция процессов ангиогенеза и эпителизации при репаративной регенерации послыной хирургической раны кожи // Актуальные проблемы морфологии, адаптогенеза и репаративных гистогенезов: материалы международной научной конференции, посвященной памяти члена-корреспондента АМН СССР, профессора Ф. М. Лазаренко / Под ред. А.А. Стадникова и др. Оренбург: Ред.-изд. центр Оренб. гос. мед. акад. – 2013. – С. 44–45.
12. Хушгадамов З.К., Мирзоев Х.М. Судебно-медицинская оценка ожоговой травмы от горячих жидкостей по морфологическим изменениям внутренних органов // Известия Академии наук Республики Таджикистан. – 2009. – №3. – С. 99–102.
13. Воронков А.В., Дьякова И.Н., Огурцов Ю.А., Жидкова Ю.Ю., Гамзелева О.Ю. Изучение влияния оригинальных многокомпонентных гелей на формирование патологического рубца с использованием нового методического подхода // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. Т. 77. № 9. С. 38–42.
14. Буланкина И.А. Изменения морфологических характеристик и биомеханических свойств структур кожи при термическом ожоге кожи I, II степени // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2012. – Т. 112. – № 5. – С. 78–80.
15. Телешева Л.Ф., Осиков М.В., Лихачева А.Г. Показатели врожденного иммунитета и морфология очага повреждения при экспериментальной термической травме // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 8–2. – С. 381–386.
16. Liu SS, Ge HY, Cheng SL, Zou Y, Zhang KL, Chu CX, Gu NL. Synthesis of Graphene Oxide Modified Magnetic Chitosan Having Skin-Like Morphology for Methylene Blue Adsorption. *J Nanosci Nanotechnol*. 2019 Dec 1;19(12):7993–8003. doi: 10.1166/jnn.2019.16872.
17. Bakhach J, Abou Ghanem O, Bakhach D, Zgheib E. Early free flap reconstruction of blast injuries with thermal component. *Ann Burns Fire Disasters*. 2017 Dec 31; 30(4): 303–308. PubMed PMID: 29983687; PubMed Central PMCID: PMC6033485.
18. Kaddoura I, Abu-Sittah G, Ibrahim A, Karamanoukian R, Papazian N. Burn injury: review of pathophysiology and therapeutic modalities in major burns. *Ann Burns Fire Disasters*. 2017 Jun 30;30(2): 95–102. PubMed PMID: 29021720; PubMed Central PMCID: PMC5627559.
19. Maden M. Optimal skin regeneration after full thickness thermal burn injury in the spiny mouse, *Acomys cahirinus*. *Burns*. 2018 Sep;44(6): 1509–1520. doi:10.1016/j.burns.2018.05.018.
20. Mathias E, Srinivas Murthy M. Pediatric Thermal Burns and Treatment: A Review of Progress and Future Prospects. *Medicines (Basel)*. 2017 Dec 11;4(4). pii: E91. doi: 10.3390/medicines4040091.
21. Pielasz A, Biniś D, Bobiński R, Sarna E, Paluch J, Waksmańska W. The role of topically applied l-ascorbic acid in ex-vivo examination of burn-injured human skin. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2017 Oct 5;185: 279–285. doi: 10.1016/j.saa.2017.05.055.
22. Макиева М.С., Морозов Ю.А., Воронков А.В., Степанова Э.Ф., Ремезова И.П., Поздняков Д.И. Разработка трансдермального геля с маслом лимонника китайского и оценка степени

- его влияния на работоспособность и неврологический статус животных в эксперименте // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2016. Т. 11. № 4. С. 532–536. DOI: 10.14300/mnnc.2016.11126
23. Abdullahi A., Amini-Nik S., Jeschke M.G. Animal models in burn research. *Cell Mol Life Sci.* 2014 Sep;71(17): 3241–3255. doi: 10.1007/s00018-014-1612-5.
 24. Abraham JP, Stark J, Gorman J, Sparrow E, Minkowycz WJ. Tissue burns due to contact between a skin surface and highly conducting metallic media in the presence of inter-tissue boiling. *Burns.* 2019 Mar;45(2):369–378. doi: 10.1016/j.burns.2018.09.010. Epub 2018 Oct 14. PubMed PMID: 30327231.
 25. Pogorielov M., Kalinkevich O., Gortinskaya E., Moskalenko R., Tkachenko Y. The experimental application of chitosan membrane for treating chemical burns of the skin. *Georgian Med News.* 2014 Jan;(226): 65–70. Russian. PubMed PMID: 24523336.
 26. Jurjus A, Hourani R, Daouk H, Youssef L, Bou-Khalil P, Haidar H, Atiyeh B, Saade N. Effect of denervation on burn wound healing. *Ann Burns Fire Disasters.* 2018 Dec 31;31(4):278–291. PubMed PMID: 30983928; PubMed Central PMCID: PMC6441573.
 27. Сломинский П.А., Шадрин М.И., Коломин Т.А., Ставровская А.В., Филатова Е.В., Андреева Л.А., Иллариошкин С.Н., Мясоедов Н.Ф. Пептиды Семакс и Селанк влияют на поведение крыс в условиях экспериментальной модели болезни Паркинсона // Доклады Академии наук. – 2017. – Т. 474. № 2. – С. 264–267.
 28. Терещенко О.Н., Кост Н.В., Медведев В.Э., Мясоедов Н.Ф. Купирование тревожных расстройств в общемедицинской практике пептидным препаратом Селанк // Архив внутренней медицины. – 2016. – Т. 6. № 51. – С. 115–116.
 29. Калистратов В.Б., Дехканов Т.Г., Плотникова О.В. Отечественные нейропептиды Селанк и Семакс в современной психотерапии // В сборнике: Острые нарушения мозгового кровообращения. Вопросы диагностики, лечения, реабилитации Материалы межрегиональной научно-практической конференции. – 2018. – С. 47–48.
 30. Вербенко В.А., Шакина Т.А. Особенности анксиолитического и стрессопротективного действия пептидного препарата Селанк® при терапии расстройств адаптации и посттравматического стрессового расстройства // Медицинский алфавит. – 2017. – Т. 3. № 32 (329). – С. 21–26.
 31. Голубева М.Г. Нейропептид Семакс изменяет функциональную активность эритроцитов и тромбоцитов при иммобилизационном стрессе. Тромбоз, гемостаз и реология. – 2010. – № 2 (42). – С. 45–49.
 32. Лалаян Т., Коржавина Н. Селанк в лечении болевого синдрома в пояснично-крестцовом отделе позвоночника // Врач. – 2014. – № 9. – С. 30–34.
 33. Спиридонова Т.Г., Смирнов С.В., Боровкова Н.В., Лазарева Е.Б., Биткова Е.Е., Хватов В.Б. Коррекция системного воспалительного ответа для профилактики полиорганной недостаточности у обожженных // Скорая медицинская помощь. – 2006. – Том 7. № 3. – С. 88–89.
 34. Скребицкий В.Г., Касян А.П., Поваров И.С., Кондратенко Р.В., Сломинский П.А. Нейропептидный препарат Селанк: биологическая активность и фундаментальные механизмы действия // Нервные болезни. – 2016. – № 4. – С. 52–57.
 35. Косарева И.Н., Силина Л.В., Письменная Е.В., Провоторов В.Я. Оценка влияния препарата Семакс на эффективность антиоксидантной защиты у больных псориазом // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – № 22–1 (141). – С. 83–86.
 36. Сапунцова С.Г., Лебедько О.А., Обухова Г.Г., Березина Г.П., Тимошин С.С. Влияние гептапептида Семакс на содержание фактора некроза опухолей-альфа и биогенез свободных радикалов при атопическом дерматите // Дальневосточный медицинский журнал. – 2015. – № 2. – С. 61–64.
 37. Смахтин М.Ю., Бобынцев Я.И., Корошвили В.Т., Чуланова А.А., Должикова И.Н. Иммуноотропные, антиоксидантные и репаративные эффекты нового аналога тимогена, модифицированного D-аланином // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2019. – №1. – С. 77–82.
 38. Чердаков В.Ю., Смахтин М.Ю., Дубровин Г.М., Бобынцев И.И. Синергичное иммуноотропное и репаративное действие тимогена, даларгина и регуляторного пептида Gly-His-Lys при экспериментальной травме кожи // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2013. – №1. – С. 38–42.
 39. Желтышева А.С. Новые терапевтические подходы к лечению акне // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18. № 2. – С. 384–386.
 40. Переверзева И.В., Бобынцев И.И., Силина Л.В. Клиническая эффективность комплексной терапии атопического дерматита с применением Семакса // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2008. – №2. – С. 98–103.
 41. Спасов А.А., Бугаева Л.И., Лебедева С.А., Коржова Т.М., Гетманенко А.Ю. Влияние алиментарной гипомagneзиемии на общее состояние лактирующих крыс-самок и постнатальное состояние их потомства // Вестник ВолГМУ. – 2017. – №3 (63) – С. 113–117. DOI: 10.19163/1994-9480-2017-3(63)-113-117.
 42. Алексеев А. А., Тюриков Ю. И. Основные статистические показатели работы ожоговых стационаров Российской Федерации за 2015 год. // Электронный научно-практический журнал. Комбустиология. Combustiolg.ru; – 2016. – С. 56–57 [процитировано 10 января 2018]. Доступно: <http://combustiolg.ru/journal/tezisy-konferentsii/>

АВТОРЫ

Ажикова Альфия Кадыровна – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и ботаники, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: 0000-0001-9758-1638. E-mail: alfia-imacheva@mail.ru

Фельдман Бронислав Владимирович – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биологии и ботаники, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: 0000-0001-7205-986X. E-mail: agmafarm@gmail.com

Андреева Людмила Александровна – заведующая сектором регуляторных пептидов Отдела химии физиологически активных веществ, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук. ORCID: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

Теплый Дмитрий Давидович – кандидат биологических наук,

старший научный сотрудник Совместной лаборатории по исследованию роли апоптоза в формировании нейроэндокринной системы, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный университет». ORCID: 0000-0002-3484-9710. E-mail: dima.teplyi@yandex.ru

Самотруева Марина Александровна – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: 0000-0001-5336-4455. E-mail: ms1506@mail.ru

Мясоедов Николай Федорович – доктор химических наук, профессор, академик РАН, заведующий отделом химии физиологически активных веществ, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук. ORCID: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru

УДК 616.831-005.4/615.322



ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ФЕНОЛОКИСЛОТ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, С.А. Нигарян

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО
«Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России
357532, Россия, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Получено 15.09.2019

Рецензия (1) 14.10.2019

Рецензия (2) 11.11.2019

Принята к печати 16.12.2019

Цель исследования – изучить церебропротективную активность некоторых фенолокислот в условиях экспериментальной ишемии головного мозга у крыс.

Материалы и методы. Эксперимент был проведен на крысах-самцах линии Wistar, массой 220–240 г. Фокальную ишемию головного мозга моделировали путем необратимой правосторонней термокоагуляции средней мозговой артерии под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг, интартронеально). Экспериментальные соединения (4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота, кофейная кислота и галловая кислота 100 мг/кг каждое соединение) и референтные препараты (Мексикор – 100 мг/кг, Холина альфосцерат – 150 мг/кг) вводили на следующие сутки после операции интрагастрально и далее в течении трех дней. Влияние соединений на когнитивные функции крыс оценивали в тестах «условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) и тесте экстраполяционного избегания (ТЭИ). Изучалось влияние данных соединений на изменение концентрации лактата, пирувата, гомоцистеина, а также степень формирования отека и некроза мозговой ткани.

Результаты. Установлено, что на фоне фокальной ишемии головного мозга применение кофейной, 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной и галловой кислот способствовало сохранению памятного следа у крыс, а также снижению концентрации лактата (на 40,37% ($p<0,05$), 151,26% ($p<0,05$), 48,02% ($p<0,05$)) и пирувата (на 96,6% ($p<0,05$), 38,78% ($p<0,05$), 33,3% ($p<0,05$)), гомоцистеина (на 59,6% ($p<0,05$), 102,18% ($p<0,05$), 28,8% ($p<0,05$)), зоны некроза (на 122,79% ($p<0,05$), 165,11% ($p<0,05$), 12,38% ($p<0,05$)) и отека (на 10,47% ($p<0,05$), 11,08% ($p<0,05$), 9,92% ($p<0,05$)) относительно группы крыс негативного контроля (НК).

Заключение. Результаты экспериментальных данных свидетельствуют о возможности дальнейшего углубленного изучения 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной, кофейной, галловой кислот на предмет церебропротективной активности.

Ключевые слова: ишемия головного мозга, инсульт, лактат, пируват, кофейная кислота, галловая кислота, 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота, этилметилгидроксипиридина сукцинат, холина альфосцерат.

Список сокращений: Л/О – ложнооперированные животные; НК – негативный контроль; М – Мексикор; КК – кофейная кислота; ГК – галловая кислота; ГДТБКК – 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота; УРПИ – условная реакция пассивного избегания; ТЭИ – тест экстраполяционного избегания; АТФ – аденозинтрифосфат; АМФ – аденозинмонофосфат; АФК – активные формы кислорода.

CEREBROPROTECTIVE EFFECT OF SOME PHENOLIC ACIDS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL BRAIN ISCHEMIA

A.V. Voronkov, S.A. Nigaryan, D.I. Pozdnyakov

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University
11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia 357532

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Received 15 September 2019

Review (1) 14 October 2019

Review (2) 11 November 2019

Accepted: 16 December 2019

Для цитирования: А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, С.А. Нигарян. Церебропротективное действие некоторых фенолокислот в условиях экспериментальной ишемии головного мозга. *Фармация и фармакология*. 2019;7(6):332-338. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-332-338

© А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, С.А. Нигарян, 2019

For citation: A.V. Voronkov, S.A. Nigaryan, D.I. Pozdnyakov. Cerebroprotective effect of some phenolic acids under conditions of experimental brain ischemia. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(6): 32-338. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-332-338

The aim of the study was to evaluate the cerebroprotective effect of some phenolic acids under the conditions of experimental cerebral ischemia in rats.

Materials and methods. The experiment was conducted on male Wistar rats weighing 220–240 g. Focal cerebral ischemia was modeled by irreversible right-sided thermocoagulation of the middle cerebral artery under chloral hydrate anesthesia (350 mg/kg, intraperitoneally). The experimental compounds (4-hydroxy-3,5-di-tert-butyl cinnamic acid, caffeic acid and gallic acid 100 mg/kg each compound) and a reference drug (Mexicor – 100 mg/kg) were administered intragastrically next day after the surgery and then for three days running. The effect of the test-compounds on the cognitive functions of the rats was evaluated by CRPA and TEA tests. The influence of the compounds on the changes in the concentration of lactate, pyruvate, homocysteine, as well as the degree of cerebral edema formation and necrosis of the brain tissue, were studied.

Results. In the study, it has been established that against the background of the focal cerebral ischemia, the administration of caffeic, 4-hydroxy-3,5-di-tert-butylcinnamic and gallic acid, contributed to the preservation of a memorable trace in rats, as well as a decrease in lactate concentration (by 40.37% ($p<0.05$), 151.26% ($p<0.05$), 48.02% ($p<0.05$)) and pyruvate (by 96.6% ($p<0.05$), 38, 78% ($p<0.05$), 33.3% ($p<0.05$)), homocysteine (by 59.6% ($p<0.05$), 102.18% ($p<0.05$), 28.8% ($p<0.05$)), anecrosis zone (by 122.79% ($p<0.05$), 165.11% ($p<0.05$), 12.38% ($p<0.05$)) and cerebral edema (by 10.47% ($p<0.05$), 11.08% ($p<0.05$), 9.92% ($p<0.05$)) relative to the NC group of rats.

Conclusion. The obtained data indicate the possibility of further detailed investigation of the cerebroprotective effect of 4-hydroxy-3,5-di-tert-butylcinnamic, caffeic and gallic acids.

Key words: cerebral ischemia, an insult to the brain, lactate, pyruvate, caffeic acid, gallic acid, 4-hydroxy-3,5-di-tert-butylcinnamic acid, ethylmethylhydroxypyridine succinate, choline alfoscerate.

Abbreviations: SO – sham-operated animals; NC – negative control; M – Mexicor; CA – caffeic acid; GA – gallic acid; HDTBCA – 4-hydroxy-3,5-di-tert-butylcinnamic acid; CRPA – Conditioned Reflex of Passive Avoidance; TEA – extrapolation avoidance test; ATP – adenosine triphosphate; AMP – adenosine monophosphate; ROS – reactive oxygen species.

ВВЕДЕНИЕ

Повреждение головного мозга в результате ишемических явлений остается основной причиной смерти и инвалидизации во всем мире [1, 2]. Социальные и экономические последствия инсульта требуют разработки эффективных фармакотерапевтических подходов, в связи с чем становится актуальным поиск новых соединений, применяемых для лечения и профилактики данной патологии. Для мирового научного и медицинского сообщества является острой проблема совершенствования фармакологической коррекции и реабилитации лиц, перенесших острые нарушения мозгового кровообращения [3].

Однако, на сегодняшний день проблема фармакологической коррекции инсульта остается труднодостижимой целью, несмотря на различные крупные исследования, посвященных изучению патогенеза нарушений мозгового кровообращения и новых соединений, способные на него влиять [4, 5].

Опираясь на результаты новых отечественных и зарубежных исследований, можно полагать, что в числе соединений, способных влиять на звенья ишемического инсульта особую роль занимают растительные биоактивные вещества, которые могут стать эффективным средством лечения церебральной ишемии. Такие предположения, в основном, связаны с положительными эффектами, которыми обладают вещества растительного происхождения. К ним относятся широка спектра фармакологической активности, возможность применять данные соединения в комплексной терапии, а также минимальный риск возникновения нежелательных побочных эффектов [6, 7].

Известно, что коричная кислота обладает антиоксидантной, противовоспалительной, антиапоптотической активностью [8]. На сегодняшний день многими учеными также установлено положительное влияние различных фенольных соединений на течение нейро-дегенеративных заболеваний, в частности, болезни Альцгеймера [9]. Кофейная кислота

(3,4-дигидроксикоричная кислота) является фенольным соединением, которое широко встречается в лекарственных растениях, а также фруктах, овощах, вине, кофе и оливковом масле [10]. Кофейная кислота обладает различными видами фармакологической активности, в том числе антиоксидантной [11], антигипертензивной [12], противовирусной [13], противовоспалительной [14] и антидиабетической [15]. Недавно было также оценено церебротективное действие кофейной кислоты [16–18]. Галловая кислота является вторичным метаболитом, присутствующим в большинстве растений. Известно, что этот метаболит обладает рядом фармакологических свойств, включая антиоксидантные, противомикробные, противовоспалительные и противоопухолевые свойства [19].

ЦЕЛЬ – оценить церебротективное действие кофейной, галловой, 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислот в условиях экспериментальной церебральной ишемии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологическая модель

Эксперимент был на 42 крысах-самцах линии Wistar массой 220–240 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово». Все проводимые с животными манипуляции, а также их содержание соответствовали требованиям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986 г.). Проведение данного исследования было одобрено Независимым Этическим Комитетом ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Крысы размещались в макролоновых клетках, где в качестве подстилочного материала использовали гранулированную древесную фракцию при относительной влажности $60\pm5\%$ и температуре воздуха $22\pm2^\circ\text{C}$. Корм и воду животные получали в свободном доступе. Предварительно крысы были рандомизированы по поведенческой активности в тестах УРПИ и ТЭИ. В

ходе проведения исследования были сформированы семь экспериментальных групп. Первая группа крыс – ложнооперированные (Л/О) животные (n=6). Вторая группа животных (n=6) – группа негативного контроля (НК), получала 0,9% раствор натрия хлорида в эквивалентном объеме. Второй и последующим группам крыс (n=6 каждая группа) воспроизвели ишемическое повреждение головного мозга методом необратимой окклюзии правой средней мозговой артерии, при этом группы животных № 3–7 получали исследуемые соединения и препараты сравнения (Рис. 1).

Референтные препараты и исследуемые соединения

В качестве препаратов сравнения были выбраны этилметилгидроксипиридина сукцинат (Мексикор, 100 мг/кг, ЭкоФармИнвест, Россия) [20, 21] (рис. 1). Препараты сравнения и исследуемые соединения вводили интрагастрально на следующие сутки после воспроизведения ишемии и далее на протяжении 3 суток. Исследуемые соединения: 4- гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричную, кофейную и галловую кислоты, вводили животным в дозировке 100 мг/кг (Рис. 1).

Модель фокальной ишемии головного мозга

Фокальную ишемию головного мозга моделировали путем необратимой правосторонней тер-мокоагуляции средней мозговой артерии под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг). Область ниже и правее глаза депилировали, делали надрез и раздвигали мягкие ткани, обнажая отросток скуловой кости, который удаляли. Далее буром проделывали трепанационное отверстие и термокоагулятором пережигали среднюю мозговую артерию под местом ее пересечения с обонятельным трактом. В дальнейшем, по возможности, восстанавливали топографию мягких тканей. Шов обрабатывали 5% спиртовым раствором йода. Забор биоматериала осуществляли на 4-й день после воспроизведения фокальной ишемии.

Когнитивные тесты

До воспроизведения ишемии, животные всех групп обучались навыку условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) и теста экстраполяционного избегания (ТЭИ). Суть теста УРПИ заключается в формировании памятного следа у животных, после чего время латентного захода в темный отсек, где подается ток, удлинняется, либо крыса вообще не заходит в него. Тест экстраполяционного избегания также позволяет оценить когнитивные функции животных, основываясь на времени подныривания крысы из цилиндра. Последующие воспроизведения УРПИ и ТЭИ, а также оценка поведенческой активности и эмоционального статуса животных проводилась на четвертые сутки с помощью тестов УРПИ (фиксировалось латентное время захода крыс в темный отсек) и тест экстраполяционного избегания ТЭИ (фиксировалось время подныривания крыс) [22, 23].

Определяемые лабораторные показатели

В качестве биоматериала в работе использовали

головной мозг и кровь животных. Исследуемые показатели: концентрация молочной и пировиноградной кислот в сыворотке крови, величина зоны некроза и степень отека мозговой ткани. Содержание молочной и пировиноградной кислот в сыворотке крови определяли энзиматическим колориметрическим методом с применением стандартного набора реактивов производства НПФ «Арбис +» (Санкт-Петербург, Россия). Оценку зоны некроза производили трифенилтетразолиевым методом, в основе которого лежит изменение оптической плотности хлороформного экстракта формазана между некротизированным и интактным участком головного мозга [24]. Оценку степени гидратации головного мозга производили методом высушивания, для чего у животных извлекали головной мозг, инкубировали 24 часа при 60°C. Величину отека головного мозга устанавливали по разнице масс до и после инкубации [23].

Методы статистического анализа

Обработку результатов эксперимента проводили методом вариационной статистики с применением пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows). Полученные данные проверяли нормальность распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. В том случае, если данные распределения оказывались нормальными, для сравнения средних использовали ANOVA с апостериорным критерием Ньюмена-Кейсла. В случае ненормального распределения результатов опыта, дальнейшую статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В тесте УРПИ после воспроизведения ишемии у крыс НК группы отмечено снижение латентного времени захода крыс в темный отсек на 10% ($p<0,05$), время подныривания животных в тесте экстраполяционного избегания было увеличено на 69,6% ($p<0,05$) относительно Л/О группы животных.

Тесты УРПИ и ТЭИ показали, что все экспериментальные соединения положительно влияют на когнитивные функции крыс на фоне церебральной ишемии. В тесте УРПИ на фоне введения всех исследуемых соединений наблюдалось статистическое значимое увеличение времени латентного захода в темный отсек. В сравнении с группой животных НК максимальный эффект был отмечен при введении кофейной кислоты: увеличение латентного времени захода в темный отсек составило 239,39% ($p<0,05$), на фоне введения галловой кислоты – 129,09% ($p<0,05$), 4- гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты – 90,15% ($p<0,05$). Введение животным Мексикора вызывало увеличение время захода в темный отсек на 71,2% ($p<0,05$). Отметим, что все фенольные соединения превосходили по своему эффекту референтный препарат: кофейная кислота – на 103,74% ($p<0,05$), галловая кислота – 33,8% ($p<0,05$), 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота – 11,06 ($p<0,05$) (Рис. 2).

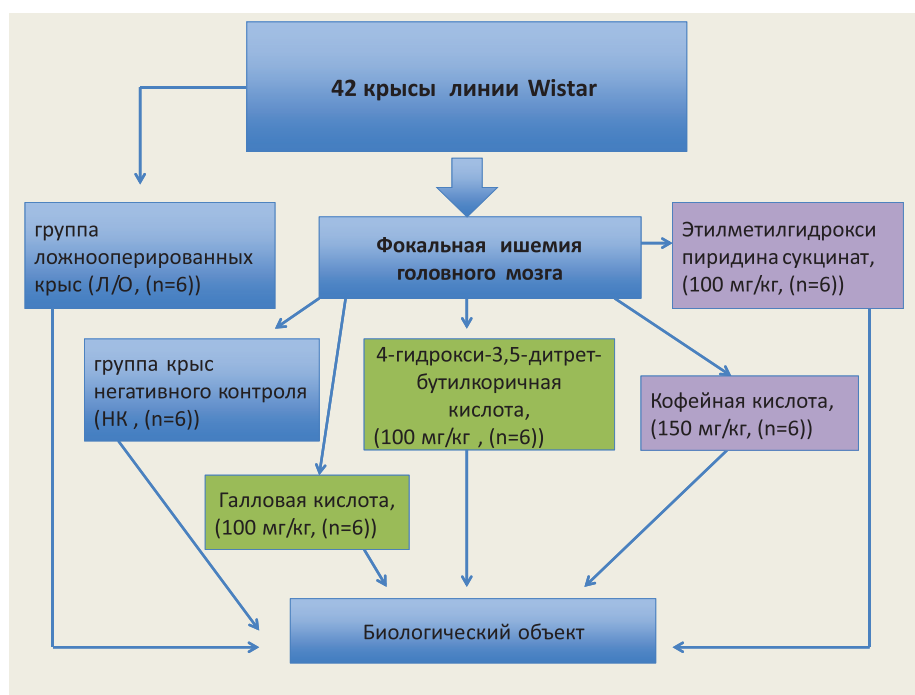


Рисунок 1 – Модель исследования

Таблица 1 – Изучение влияния экспериментальных соединений на концентрацию лактата, пирувата и гомоцистеина

Исследуемый параметр	Л/О	НК	Мексикор	Кофейная кислота	Галловая кислота	4- гидрок- си-3,5-ди-трет-бутилко- ричная кислота
Лактат, ммоль/л	1,08±0,1	2,99±0,024#	2,57±0,16*	2,13 ±0,040*	2,02±0,079*	1,19±0,043*
Пируват, мкмоль/л	100,38±1,1	200,68±15,664#	116,89±5,82*	102,07±3,48*	150,51±3,787*	144,60 ±7,357*
Гомоцистеин, нг/мл	10,27±0,675	46,44±1,054#	26,75±1,617*	29,07±1,303*	36,0±0,863*	22,95±1,342*

Примечание: * – статистически значимо относительно группы животных НК (критерий Ньюмена-Кейсла; $p < 0,05$)

– статистически значимо относительно Л/О группы животных (критерий Ньюмена-Кейсла; $p < 0,05$)

В тесте экстраполяционного избавления (ТЭИ) оценивали показатель латентного времени подныривания. В данном тесте в сравнении с группой животных НК у крыс, получавших 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричную кислоту, отмечено уменьшение времени подныривания на 1042,2% ($p < 0,05$), тогда как при применении кофейной кислоты и галловой кислоты данный показатель уменьшился на 358,9% ($p < 0,05$) и 229,48% ($p < 0,05$) соответственно. В этих же условиях введение Мексикора уменьшало время подныривания относительно группы крыс НК на 96,69% ($p < 0,05$). Следовательно, 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная, кофейная и галловая кислоты превосходили референтный препарат в данном тесте на 477,7% ($p < 0,05$), 132,14% ($p < 0,05$), и 66,6% ($p < 0,05$), соответственно. (Рис. 2).

Воспроизведение фокальной ишемии головного мозга крысам вызвало развитие отека и некроза мозговой ткани ($52,38 \pm 3,03$), что соответствует литературным данным [26]. Наблюдалось значительное

увеличение образования лактата (176,8% ($p < 0,05$)), пирувата (99,9% ($p < 0,05$)), а также гомоцистеина (352,2% ($p < 0,05$)) (Табл. 1).

Введение референтного препарата способствовало уменьшению концентрации лактата, пирувата и гомоцистеина. Так, у группы животных, получавших Мексикор, наблюдалось снижение лактата (16,3% ($p < 0,05$)), пирувата (71,68% ($p < 0,05$)), и гомоцистеина (73,45% ($p < 0,05$)), относительно группы крыс НК. (Табл. 1).

При введении животным 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты было отмечено снижение концентрации лактата в сыворотке крови на 151,26% ($p < 0,05$), пирувата на 38,78% ($p < 0,05$), гомоцистеина на 102,18% ($p < 0,05$) относительно группы животных НК. Стоит подчеркнуть, что на фоне применения 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты, наблюдалось большее уменьшение образования лактата – 115,96% ($p < 0,05$) и гомоцистеина – 16,5% ($p < 0,05$) по сравнению с группой крыс, получавшей Мексикор. (Табл. 1).

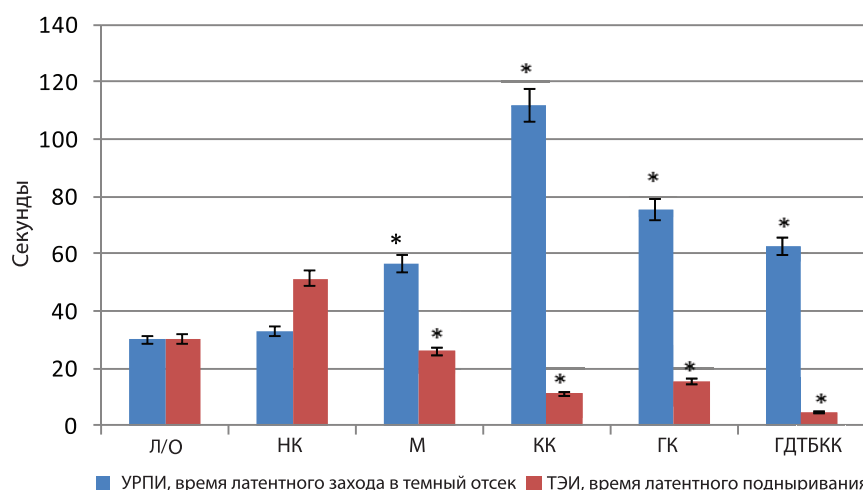


Рисунок 2 – Влияние исследуемых соединений на время выполнения задач в тестах УРПИ и ТЭИ

Примечание: * – статистически значимо относительно НК группы крыс (критерий Ньюмена-Кейсла; $p < 0,05$); Л/О – ложнооперированные животные; НК – негативный контроль; М – Мексикор; КК – кофейная кислота; ГК – галловая кислота; ГДТБКК – 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота.

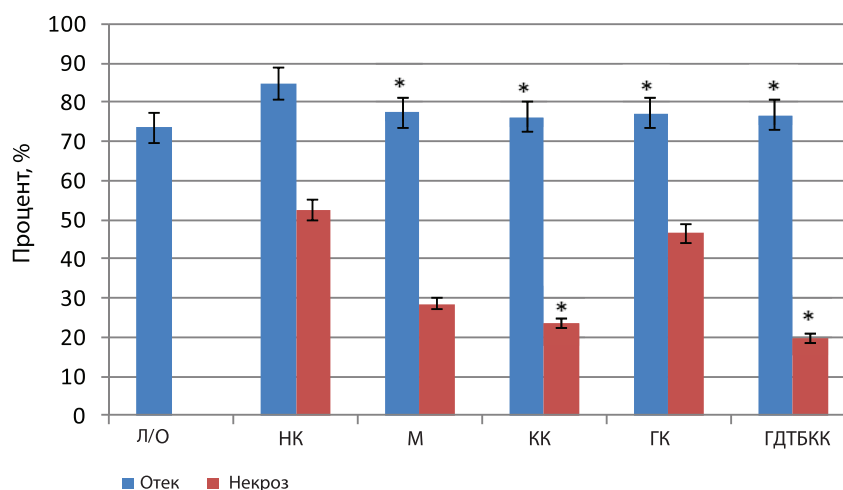


Рисунок 3 – Влияние кофейной, галловой и 4- гидроксн-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислот на формирование отека и некроза мозговой ткани на фоне фокальной ишемии крыс

Примечание: * – статистически значимо относительно группы крыс НК (критерий Ньюмена-Кейсла; $p < 0,05$); Л/О – ложнооперированные животные; НК – негативный контроль; М – Мексикор; ХА – холина альфосцерат; КК – кофейная кислота; ГК – галловая кислота; ГДТБКК – 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота.

У крыс, получавших галловую кислоту также наблюдали снижение образования лактата, пирувата и гомоцистеина на 48,02% ($p < 0,05$), 33,3% ($p < 0,05$), 28,8% ($p < 0,05$) соответственно относительно группы крыс НК. В сравнении с группой, получавшей Мексикор введение галловой кислоты больше снижало уровень образования лактата на 27,2% ($p < 0,05$) (Табл. 1).

Введение кофейной кислоты также вызывало снижение образования лактата – 40,37% ($p < 0,05$) пирувата – 96,6% ($p < 0,05$) и гомоцистеина – 59,6% ($p < 0,05$) относительно группы крыс НК. При сравнении с группой животных, которой вводили Мексикор, отмечено, концентрация лактата и пирувата в сыворотке крови была на 20,65% ($p < 0,05$) и 14,52% ($p < 0,05$) выше у данной группы животных, нежели у крыс, получавших кофейную кислоту (Табл. 1).

У крыс, получавших Мексикор отмечено снижение отека мозговой ткани относительно группы крыс

НК на 9,36% ($p < 0,05$). Введение крысам кофейной, 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной и галловой кислот вызывало уменьшение гидратации мозговой ткани относительно группы животных НК на 11,08% ($p < 0,05$), 10,47% ($p < 0,05$) и 9,92% ($p < 0,05$), соответственно (Рис. 3).

По влиянию на степень формирования некроза головного мозга, из трех экспериментальных соединений и референтного препарата наиболее эффективным оказалось введение крысам 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты. Так, относительно группы крыс НК, введение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты уменьшало степень некроза на 165,11% ($p < 0,05$), кофейной кислоты на 122,79% ($p < 0,05$), при этом введение крысам Мексикора – на 83,4% ($p < 0,05$). Подчеркнем, что 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота превосходила Мексикор на 44,8% ($p < 0,05$) (Рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Фокальная церебральная ишемия приводит к истощению энергетических запасов мозга. В биохимических тестах это проявляется снижением содержания макроэргов (АТФ, креатинфосфата), увеличением количества недоокисленных продуктов (АДФ, АМФ, лактат, пируват, гомоцистеин), снижением энергетического заряда системы, а также развитием лактацидоза [26]. Лактат, пируват, гомоцистеин относятся к веществам – биомаркерам различных нейродегенеративных заболеваний, в числе которых инсульт, болезнь Альцгеймера, а также патологий, вызванных снижением функций митохондрий [27]. Наше исследование показало, что фенолокси кислоты оказывают положительное влияние на энергообмен в головном мозге на фоне церебральной ишемии у крыс, снижая концентрацию лактата, пирувата и гомоцистеина в сыворотке крови. Отдельно стоит отметить уменьшение степени некротизированности ткани мозга при введении животным экспериментальных соединений. Потенциальный церебропротективный эффект фенольных соединений может быть связан с химической структурой данных веществ и их антирадикальным действием [28]. Церебропротективное действие 4-гидроксис-3,5-ди-трет-бутилкоричной, кофейной и галловой кислот также может быть связано с их антиоксидантными, противовоспалительными, и противовоспалительными свойствами [8–19]. Возможно, что фенольные соединения улучшают функциональную

активность митохондрий, которые наиболее чувствительны к ишемическим состояниям организма [29]. Митохондрии – органеллы, являющиеся одними из основных производителей активных форм кислорода (АФК). Так как АФК играют одну из ключевых ролей в индукции митохондриальных пор, предотвращение развития окислительного стресса – эффективный метод остановки клеточной гибели, а антиоксиданты, в частности, фенолокси кислоты, могут быть использованы в качестве средств фармакологической коррекции митохондриальной дисфункции на фоне фокальной ишемии головного мозга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

4-гидроксис-3,5-ди-трет-бутилкоричная, кофейная и галловая кислоты на фоне церебральной ишемии крыс улучшали метаболические процессы и энергообмен мозга, оказывали положительное влияние на когнитивные функции. Экспериментальные соединения могут обладать потенциальной церебропротективной активностью на фоне фокальной ишемии головного мозга животных, о чем свидетельствуют данные эксперимента. Это создает предпосылки для дальнейшего углубленного изучения фенольных соединений, в частности, производных коричной кислоты, с целью подтверждения церебропротективных свойств, а также для продолжения поиска соединений растительного происхождения, способных оказывать церебропротективное действие.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

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

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Adeloye D. An estimate of the incidence and prevalence of stroke in Africa: a systematic review and meta-analysis // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 6 (e100724). doi: 10.1371/journal.pone.0100724.
- Feigin V.L., Roth G.A., Naghavi M., Parmar P., Krishnamurthi R., Chugh S., Mensah G.A., Norrving B., Shieue I., Ng M., Estep K., Cercy K., Murray C.J.L., Forouzanfar M.H.; Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors Study 2013 and Stroke Experts Writing Group. Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 // *Lancet Neurol*. – 2016. – Vol. 15, №9. – P. 913–924. DOI:10.1016/S1474-4422(16)30073-4.
- Кузнецов В.В., Шульженко Д.В., Романюк Т.Ю., Довгопола Т.М. Комбинированная нейрометаболическая терапия больных, перенесших ишемический инсульт // *ЖУРНАЛ НЕВРОЛОГИИ им. Б.М. Маньковского*. – 2016. – Т. 4, №3. – С. 69–75.
- Mestre H., Cohen-Minian Y., Zajarias-Fainsod D., Ibarra A. (May 15th 2013). Pharmacological Treatment of Acute Ischemic Stroke. DOI: 10.5772/53774. Available from: <https://www.intechopen.com/books/neurodegenerative-diseases/pharmacological-treatment-of-acute-ischemic-stroke>
- Radaelli A., Mancía G., Ferrarese C., Beretta S. (Eds.), *Current Developments in Stroke*, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS. – 2017. DOI:10.2174/97816810842131170101.
- Woodruff T.M., Thundiyil J., Tang S.C., Sobey C.G., Taylor S.M., Arumugam T.V. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke // *Mol Neurodegener*. – 2011. – Vol. 6, №1. – P.11. DOI:10.1186/1750-1326-6-11.
- Crupi R., Di Paola R., Esposito E., Cuzzocrea S. Middle cerebral artery occlusion by an intraluminal suture method // *Methods Mol. Biol.* – 2018. – Vol. 1727. – P. 393–401. DOI:10.1007/978-1-4939-7571-6_31.
- Pontiki E., Hadjipavlou-Litina D. Multi-Target Cinnamic Acids for Oxidative Stress and Inflammation: Design, Synthesis, Biological Evaluation and Modeling Studies // *Molecules*. – 2018. – Vol. 24, №1(pii: E12). DOI:10.3390/molecules24010012.
- Chandra S., Roy A., Jana M., Pahan K. Cinnamic acid activates PPARα to stimulate Lysosomal biogenesis and lower Amyloid plaque pathology in an Alzheimer's disease mouse model // *Neurobiol Dis*. 2019 Apr;124:379–395. DOI:10.1016/j.nbd.2018.12.007.
- Miles E.A., Zoubouli P., Calder P.C., Phil D. Differential anti-inflammatory effects of phenolic compounds from extra virgin olive identified in human whole blood cultures // *Nutrition*. – 2005. – Vol. 21, №3 – P. 389–94. DOI: 10.1016/j.nut.2004.06.031.
- Sánchez-Alonso I., Careche M., Moreno P., González M.J., Medina I. Testing caffeic acid as a natural antioxidant in functional fish-fibre restructured products // *LWT-Food Sci Technol*. – 2011. – Vol. 44, №4. – P. 1149–55. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.11.018.
- Hudson E.A., Dinh P.A., Kokubun T., Simmonds M.S., Gescher

- A. Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice that inhibit the growth of human breast and colon cancer cells // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2000. – Vol. 9, №11. – P. 1163–70.
13. Ikeda K., Tsujimoto K., Uozaki M., Nishide M., Suzuki Y., Koyama A.H., et al. Inhibition of multiplication of herpes simplex virus by caffeic acid // *Int J Mol Med.* – 2011. – Vol. 28, №4. – P. 595–8. DOI: 10.3892/ijmm.2011.739.
 14. Chao C.Y., Mong M.C., Chan K.C., Yin M.C. Anti-glycative and anti-inflammatory effects of caffeic acid and ellagic acid in kidney of diabetic mice // *Mol Nutr Food Res.* – 2010. – Vol. 54, №3. – P. 388–95. DOI: 10.1002/mnfr.200900087.
 15. Jung U.J., Lee M.K., Park Y.B., Jeon S.M., Choi M.S. Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db mice. *J Pharmacol Exp Ther.* – 2006. – Vol. 318, №2. – P. 476–83. DOI: 10.1124/jpet.106.105163.
 16. Zhang L., Zhang W.P., Chen K.D., Qian X.D., Fang S.H., Wei E.Q. Caffeic acid attenuates neuronal damage astrogliosis and glial scar formation in mouse brain with cryoinjury // *Life Sci.* – 2007. – Vol. 80, №6. – P. 530–537. DOI: 10.1016/j.lfs.2006.09.039.
 17. Altuğ M.E., Serarslan Y., Bal R., Konaş T., Ekici F., Melek I.M., et al. Caffeic acid phenethyl ester protects rabbit brains against permanent focal ischemia by antioxidant action: a biochemical and planimetric study // *Brain Res.* – 2008. – Vol. 1201. – P. 135–42. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.01.053.
 18. Zhou Y., Fang S.H., Ye Y.L., Chu L.S., Zhang W.P., Wang M.L., et al. // Caffeic acid ameliorates early and delayed brain injuries after focal cerebral ischemia in rats. *Acta Pharmacol Sin.* – 2006. – Vol. 27, №9. – P. 1103–10. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2006.00406.x.
 19. Fernandes F.H., Salgado H.R. Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification // *Crit Rev Anal Chem.* – 2016. – Vol. 46, №3. – P. 257–65. DOI:10.1080/10408347.2015.1095064.
 20. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Нигарян С.А., Хури Е.И., Миросниченко К.А., Сосновская А.В., Олохова Е.А. Оценка респирометрической функции митохондрий в условиях патологий различного генеза // *Фармация и фармакология.* – 2019. – Т. 7, №1. – С. 20–31. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-20-31.
 21. Voronkov A.V., Pozdnyakov D.I. Endothelotropic activity of 4-hydroxy-3, 5-di-tret-butylcinnamic acid in the conditions of experimental cerebral ischemia // *Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology.* – 2018. – Vol. 4, №2. – P. 1–10. DOI: 10.3897/rrpharmacology.4.26519.
 22. Тушмалова Н.А., Прагина Л.Л., Мальцева Е.Л., Воеводина Е.Б., Бурлакова Е.Б. Влияние малых доз Полидана на условный рефлекс пассивного избегания у крыс. The effect of small doses of Polidan on the conditioned reflex of passive avoidance in rats // *Вестник Московского университета.* – 2008. №4. – P. 3–7.
 23. Воронков А.В., Абаев В.Т., Оганесян Э.Т., Поздняков Д.И. Изучение влияния субстанции АТАСЛ на физическое и психическое состояние животных в условиях длительных истощающих нагрузок // *Современные проблемы науки и образования.* – 2015. – № 3.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=20331> (дата обращения: 04.01.2019).
 24. Назарова Л.Е., Дьякова И.Н. Влияние кислоты феруловой на зону некроза, возникающего в результате окклюзии средней мозговой артерии. The effect of ferulic acid on the area of necrosis resulting from occlusion of the middle cerebral artery // *Медицинский вестник Башкортостана.* – 2011. №3. – P. 133–135.
 25. Lambertsen K.L., Finsen B., Clausen B.H. Post-stroke inflammation-target or tool for therapy? // *Acta Neuropathologica.* – 2018. – P. 1–22. DOI: 10.1007/s00401-018-1930-z.
 26. Султанов В.С., Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Церебропротекторные и энергостабилизирующие эффекты полипиренольного препарата ропрена при ишемии головного мозга у крыс // *Обзоры по клин. фармакологии и лекарственной терапии.* – 2010. – Т. 8, № 3. – С. 31–47.
 27. Saito S., Takahashi Y., Ohki A., Shintani Y., Higuchi T. Early detection of elevated lactate levels in a mitochondrial disease model using chemical exchange saturation transfer (CEST) and magnetic resonance spectroscopy (MRS) at 7T-MRI // *Radiol Phys Technol.* – 2019. – Vol. 12, №1. – P. 46–54. DOI:10.1007/s12194-018-0490-1.
 28. Оганесян Э.Т., Шатохин С.С., Глушко А.А. Использование квантово-химических параметров для прогнозирования антирадикальной (НО·) активности родственных структур, содержащих циннамоильный фрагмент. I. Производные коричной кислоты, халкона и флавонола // *Фармация и фармакология.* – 2019. – Т. 7, №1. – С. 53–66. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-53-66.
 29. He Y., Jia K., Li L., Wang Q., Zhang S., Du J., Du H. Salvianolic acid B attenuates mitochondrial stress against Aβ toxicity in primary cultured mouse neurons // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2018. – Vol. 498, №4. – P. 1066–1072. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.03.119.

АВТОРЫ

Воронков Андрей Владиславович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID:0000-0001-6638-6223. E-mail: prohor77@mail.ru

Поздняков Дмитрий Игоревич – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фарма-

цевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID:0000-0003-0889-7855. E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Нигарян Сирануш Артуровна – аспирант, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9898-0518. E-mail: 79682650210@yandex.ru

УДК 615.243.4: 616.33: 547.785.51



ПРОТИВОЯЗВЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ДИНИТРАТА 2-ФЕНИЛ-9-ДИЭТИЛАМИНОЭТИЛИМИДАЗО[1,2-А] БЕНЗИМИДАЗОЛА ПРИ ЭТАНОЛ-ПРЕДНИЗОЛОНОВОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

М.В. Черников, М.А. Оганова, С.А. Калашникова, Л.В. Полякова, Н.А. Хромова

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11

E-mail: pharmax@list.ru

Получено 12.08.2019

Рецензия (1) 12.09.2019

Рецензия (2) 10.10.2019

Принята к печати 15.10.2019

Поиск новых эффективных и безопасных лекарственных средств для лечения кислотозависимых заболеваний желудочно-кишечного тракта до настоящего времени остаётся актуальным вопросом фармакологии.

Цель данного исследования – экспериментальное изучение противоязвенной активности субстанции динитрата 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола на модели повреждения слизистой оболочки желудка, вызванной введением комбинации 80% этанола и преднизолона (20 мг/кг).

Материалы и методы. Для моделирования повреждения слизистой оболочки желудка экспериментальным животным (белые крысы-самцы линии Wistar) вводили преднизолон из расчета 20 мг/кг и 80% этиловый спирт в дозе 0,6 мл на 100 г массы тела животных. Преднизолон растворяли в 80% спирте. В качестве препаратов сравнения были выбраны антисекреторные противоязвенные средства, активно применяемые в клинической практике: ранитидин (30 мг/кг, 10 мг/кг и 3 мг/кг) и омепразол (3 мг/кг, 1 мг/кг и 0,3 мг/кг). Изучаемое соединение использовалось в дозах 30 мг/кг, 10 мг/кг и 3 мг/кг. Все исследуемые вещества вводились внутрижелудочно с помощью атравматичного зонда.

Результаты и обсуждение. Установлено, что производное бензимидазола в исследуемых дозах способствует дозозависимому достоверному относительно контроля и препаратов сравнения (ранитидина и омепразола) снижению площади и глубины язвенных поражений слизистой оболочки желудка. Кроме того, в максимальной исследованной дозе (30 мг/кг) достоверно снижается более чем в 2 раза доля животных с язвенными поражениями. Расчетные значения ED_{50} для производного бензимидазола и ранитидина составили 5,09 мг/кг и 38,23 мг/кг, соответственно.

Заключение. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что производное бензимидазола оказывает выраженный дозозависимый противоязвенный эффект на модели этанол-преднизолоновых эрозивно-язвенных дефектов слизистой оболочки желудка крыс, превосходящий эффекты препаратов сравнения, что делает перспективным его дальнейшее изучение.

Ключевые слова: динитрат 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола, противоязвенное действие, этанол-преднизолоновое повреждение, доклинические исследования

Список сокращений: СОЖ – слизистая оболочка желудка, СИ – степень изъязвления, ИИ – индекс изъязвления

ANTIULCER ACTIVITY OF 2-PHENYL-9-DIETHYLAMINO-ETHYLIMIDAZO [1,2-A]BENZIMIDAZOLE DINITRATE IN ETHANOL-PREDNISOLONE DAMAGE TO GASTRIC MUCOSA

M.V. Chernikov, M.A. Oganova, S.A. Kalashnikova, L.V. Polyakova, N.A. Khromova

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University
11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia 357532

E-mail: pharmax@list.ru

Received 12 August 2019

Review (1) 12 September 2019

Review (2) 10 October 2019

Accepted: 15 October 2019

Для цитирования: М.В. Черников, М.А. Оганова, С.А. Калашникова, Л.В. Полякова, Н.А. Хромова. Противоязвенная активность динитрата 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола при этанол-преднизолоновом повреждении слизистой оболочки желудка. *Фармация и фармакология*. 2019;7(6):339-345. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-339-345

© М.В. Черников, М.А. Оганова, С.А. Калашникова, Л.В. Полякова, Н.А. Хромова, 2019

For citation: M.V. Chernikov, M.A. Oganova, S.A. Kalashnikova, L.V. Polyakova, N.A. Khromova. Antiulcer activity of 2-phenyl-9-diethylamino-ethylimidazo[1,2-a]benzimidazole dinitrate in ethanol-prednisolone damage to gastric mucosa. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(6): 339-345. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-339-345

Nowadays, the search for new effective and safe medicines for the treatment of acid-dependent gastrointestinal diseases remains an urgent problem of modern pharmacology.

The aim of this study was an experimentally study of the anti-ulcer activity of 2-phenyl-9-diethylaminoethylimidazo[1,2-a]benzimidazole dinitrate on the model of damage to the gastric mucosa caused by the administration of 80% ethanol and prednisolone combination (20 mg/kg).

Materials and methods. To simulate the damage to the gastric mucosa, the experimental animals (white male Wistar rats) were administrated with prednisone at the rate of 20 mg/kg and 80% ethyl alcohol at the dose of 0.6 ml/100 g of the animal body weight. Prednisolone was dissolved in 80% alcohol. Antisecretory antiulcer agents actively used in clinical practice, were selected as reference drugs: ranitidine (30 mg/kg, 10 mg/kg and 3 mg/kg) and omeprazole (3 mg/kg, 1 mg/kg and 0.3 mg/kg). The studied compound was used at the doses of 30 mg/kg, 10 mg/kg and 3 mg/kg. All the substances under study were administered intragastrically with the use of an atraumatic probe.

Results. It has been established that the benzimidazole derivative in the studied doses contributes to a dose-dependent reliable reduction in the area and depth of ulcerative lesions of the gastric mucosae relative to the control and reference drugs (ranitidine and omeprazole). In addition, in the maximum studied dose (30 mg/kg), the proportion of the animals with ulcerative lesions significantly decreases by more than 2 times. The calculated ED_{50} values for the benzimidazole derivative and ranitidine were 5.09 mg/kg and 38.23 mg/kg, respectively.

Conclusion. The obtained experimental data indicate that the benzimidazole derivative has a pronounced dose-dependent antiulcer effect on the model of ethanol-prednisolone erosive-ulcerous defects of the rats' gastric mucosae, which is superior to the effects of the reference preparations. It makes its further study promising.

Keywords: 2-phenyl-9-diethylaminoethylimidazo[1,2-a]benzimidazole dinitrate, antiulcer action, ethanol-prednisolone damages / injuries, preclinical studies

ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых эффективных и безопасных лекарственных средств для лечения кислотозависимых заболеваний желудочно-кишечного тракта до настоящего времени остаётся актуальным вопросом фармакологии [1, 2]. Химические соединения из группы производных бензимидазола представляют перспективными в плане разработки новых лекарственных препаратов, в том числе связанных с повышением кислотопродукции в желудке [3, 4].

В настоящее время проводятся доклинические исследования производного бензимидазола, а именно динитрата 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола, демонстрирующего антисекреторный, противоязвенный и гастропротективный эффекты на моделях экспериментальных патологических состояний у лабораторных животных, связанных с различными патогенетическими механизмами ulcerogenez в слизистой оболочке желудка (СОЖ) [5–7].

Известно, что одним из механизмов формирования язвенной болезни желудка является разобщение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы регуляции функций, вызванное хроническим стрессом. В частности, повышенный уровень глюкокортикоидов, вызывающих усиление катаболических процессов, подавляющих регенерацию, нарушающих микроциркуляцию и стимулирующих секрецию соляной кислоты, на фоне ишемии стенки желудка, провоцируют ulcerogenez [8, 9].

При этом в условиях экспериментального исследования модель язвобразования, обусловленная действием синтетического глюкокортикоида преднизолона в чистом виде характеризуется низкой воспроизводимостью и в связи с этим была использована модификация модели, предлагающая использование сочетания преднизолона с 80% спиртом [10].

Этанол способствует растворению защитного слизистого барьера, делая стенку желудка уязвимой для повреждения протеолитическими и кислотными факторами. Кроме этого, этанол снижает кровоток, повреждает эндотелий сосудов, разбалансирует кле-

точную антиоксидантную защиту, стимулируя формирование супероксиданион и гидроперекисных радикалов [11].

Таким образом, сочетание этанола и преднизолона позволяет воссоздать эрозивно-язвенные дефекты СОЖ с высокой (100%) статистической вероятностью.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – экспериментальное исследование противоязвенной активности субстанции динитрата 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола на модели повреждения СОЖ, вызванной введением комбинации 80% этанола и преднизолона (20 мг/кг).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

Исследование фармакологической активности было выполнено на аутбредных крысах-самцах Wistar (возраст 10–12 недель) массой 180–250 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (д. Рапполово, Ленинградская обл.). На время проведения исследования крысы содержались в стандартных условиях вивария при температуре воздуха $22 \pm 2^\circ\text{C}$, относительной влажности $60 \pm 5\%$ и естественной смене суточного цикла. Экструдированный корм и воду водопроводную крысы получали *ad libitum*. Разброс по исходной массе животных в группе не превышал 10% [12].

Условия содержания животных соответствовали требованиям постановления Главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 №51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

Манипуляции с экспериментальными животными выполнялись в соответствии с общепринятыми этическими нормами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (1986) и с учетом Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных

животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997) [13, 14].

Дизайн исследования

Субстанция динитрата 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола синтезирована в Научно-исследовательском институте физической и органической химии ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет» (г. Ростов-на-Дону).

Оценка противоязвенного действия субстанции, проводилась в дозах 3 мг/кг, 10 мг/кг и 30 мг/кг. В качестве объектов сравнения были использованы субстанция омепразола 0,3 мг/кг, 1 мг/кг и 3 мг/кг (Sigma Aldrich, США), и субстанция ранитидина 3 мг/кг, 10 мг/кг и 30 мг/кг (Sigma Aldrich, США).

Максимальный объем для внутрижелудочного введения крысам не превышал 3 мл для животных массой до 200 г, 5 мл для животных от 200 до 240 г. и 6 мл для животных массой более 240 г.

Язвенное поражение вызывалось введением преднизолона из расчета 20 мг/кг и 80% этилового спирта в дозе 0,6 мл на 100 г массы тела животных. Преднизолон растворяли в 80% спирте.

За 24 часа до моделирования патологии животные подвергались пищевой депривации со свободным доступом к воде.

В ходе экспериментального исследования животные были разделены на 10 групп по 10 особей в каждой. Контрольная группа получала комбинацию этанола и преднизолона внутрижелудочно однократно. Изучаемое производное бензимидазола и препараты сравнения вводились за 1 час до введения комбинации этанола и преднизолона в опытных группах. Эвтаназию животных проводили через 12 часов после введения комбинации этанола и преднизолона. После вскрытия брюшной полости желудка изымались, промывались физиологическим раствором, проводилась макроскопическая оценка состояния слизистой оболочки, ткани фотографировались (макрофотография). Для гистологических исследований желудок фиксировался в 10%-ном нейтральном формалине и заливался парафином. Затем с помощью санного микротомы изготавливались срезы, которые окрашивались гематоксилин-эозином и изучались под микроскопом с последующим описанием гистологической картины, оценкой глубины поражения стенки желудка.

Микрофотосъемку производили с помощью микроскопа LeicaDM 1000 и программного базового пакета "Leica Application Suite" (Leica, Германия). Морфометрическое исследование проводилось с использованием инструментов программного обеспечения "Leica Application Suite", где определялась глубина повреждения слизистой оболочки желудка.

Определяемые показатели

Для оценки тяжести повреждения при исследовании противоязвенного действия при моделировании всех патологических состояний применяли систему баллов [15].

В каждой группе подсчитывали сумму баллов, из которой выводили среднюю арифметическую ве-

личину, характеризующую среднюю степень изъязвления в группе. Кроме того, в группе рассчитывали индекс изъязвления. В индексе изъязвления отражены как процент частоты животных с язвами, так и степень дистрофических нарушений в желудке. При гистологическом исследовании оценивали глубину повреждения.

По результатам исследования рассчитаны величины ED_{50} для субстанции производного бензимидазола и ранитидина, так как они использовались в одинаковых дозах. ED_{50} для омепразола не определялось, так как данное вещество имеет другой порядок используемых доз и сравнение значений ED_{50} как критерий оценки эффективности некорректен.

Статистическая обработка

Полученные экспериментальные данные анализировались с использованием метода вариационной статистики. В итоговых таблицах представлены средние значения по группе (M) и стандартная ошибка среднего значения (m). Межгрупповые различия анализировались с помощью непараметрического критерия – U -критерий Манна-Уитни. Различия определялись при 0,05 уровне значимости. Для статистической обработки результатов использовали пакет программ «StatPlus 2009».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Макроскопически данная модель воспроизводит язвенные дефекты, затрагивающие значительную площадь СОЖ, при этом явно выражены как эрозивные, так и язвенные повреждения вплоть до некротических.

Полученные результаты экспериментальных исследований показали, что производное бензимидазола в дозах 3, 10 и 30 мг/кг способствует дозозависимому достоверному относительно контроля и препаратов сравнения (ранитидина и омепразола) снижению площади язвенного поражения, СИ и ИИ на 35%, 74% и 91%, соответственно, при этом в дозе 30 мг/кг достоверно снижается доля животных с язвенными поражениями СОЖ на 60% (таблица 1).

Ранитидин в дозе 10 и 30 мг/кг также вызывал достоверное относительно контроля снижение площади язвенного поражения, однако с учетом баллов СИ и частоты проявления язвенных дефектов, уменьшение ИИ не превысило 38% и 44%, соответственно. Введение омепразола в дозах 1 и 3 мг/кг способствовало достоверному относительно контроля снижению площади язвенных дефектов, СИ и ИИ на 35% и 46%, соответственно, при этом доля животных с язвенными поражениями СОЖ как при введении ранитидина, так и омепразола достоверно не отличалась от контроля (таблица 1).

Таким образом, на модели этанол-преднизолоновых язв, производное бензимидазола оказало выраженный противоязвенный эффект, превосходящий результаты в группах, получавших ранитидин и омепразол, в среднем в 2 раза.

Расчетное значение ED_{50} для производного бензимидазола составило 5,09 мг/кг, ED_{50} для ранитидина – 38,23 мг/кг.

Таблица 1 – Макроскопический анализ влияния субстанции производного бензимидазола и препаратов сравнения на слизистую оболочку желудка при введении комбинации этанола и преднизолона (крысы-самцы), n=10, M±m

Вещество	Доза, мг/кг	Тип повреждения	Площадь повреждения (мм²/животное)	Доля животных с поражениями СОЖ (%)	СИ	ИИ	Уровень снижения ИИ (%)
Контроль этанол+преднизолон	–	Язвы	88,9±25,7	100%	4,0 ±0,0	4,00	–
		Эрозии	36,7±15,9	90%			–
Производное бензимидазола	3	Язвы	23,7±15,1*	100%	2,6±0,4*	2,60	–35
		Эрозии	16,3±6,5	90%			
	10	Язвы	3,2±0,9*#&	70%	1,5±0,4*#	1,05	–74
		Эрозии	7,9±5,8	80%			
	30	Язвы	4,4±3,4*#&	40%	0,9±0,4*#	0,36	–91
		Эрозии	16,3±7,1	80%			
	3	Язвы	38,6±7,8	90%	3,3±0,4	2,97	–26
		Эрозии	19,2±4,2	90%			
Ранитидин	10	Язвы	28,5±6,2*	80%	3,1±0,5	2,48	–38
		Эрозии	15,7±5,7	70%			
	30	Язвы	18,1±5,6*	80%	2,8±0,6*	2,24	–44
		Эрозии	27,1±9,3	70%			
	0,3	Язвы	47,0±7,6	100%	3,9±0,1	3,90	–3
		Эрозии	29,7±8,2	80%			
Омепразол	1	Язвы	42,9±10,8*	90%	2,9±0,5*	2,61	–35
		Эрозии	28,2±8,8	80%			
	3	Язвы	21,8±5,7*	80%	2,7±0,5*	2,16	–46
		Эрозии	17,6±6,7	70%			

Примечание: * – достоверно относительно контроля, P<0,05; # – достоверно относительно группы, получавшей ранитидин, P<0,05; & – достоверно относительно группы, получавшей омепразол, P<0,05.

Таблица 2 – Результаты морфометрической оценки влияния производного бензимидазола и препаратов сравнения на развитие язвенных повреждений слизистой оболочки желудка при введении комбинации этанола (80%) и преднизолона 20 мг/кг (n=50)

Группа	Доза, мг/кг	Глубина повреждения, мкм	Средний % снижения глубины повреждения
Контроль (этанол 80%+преднизолон 20 мг/кг)	–	311,22±9,83	–
	3,0	194,91±9,03*#&	–38
Производное бензимидазола	10,0	179,79±10,17*#&	–42
	30,0	89,76±10,27*#&	–71
	3,0	251,28±15,94*	–20
Ранитидин	10,0	283,03±21,53	–9
	30,0	282,33±22,11	–9
	0,3	225,76±12,48*	–28
Омепразол	1,0	246,35±14,14*	–21
	3,0	189,55±16,95*	–39

Примечание: * – достоверно относительно контроля, P<0,05; # – достоверно относительно группы, получавших ранитидин в эквивалентной дозе, P<0,05; & – достоверно относительно группы, получавший омепразол в эквивалентной дозе, P<0,05

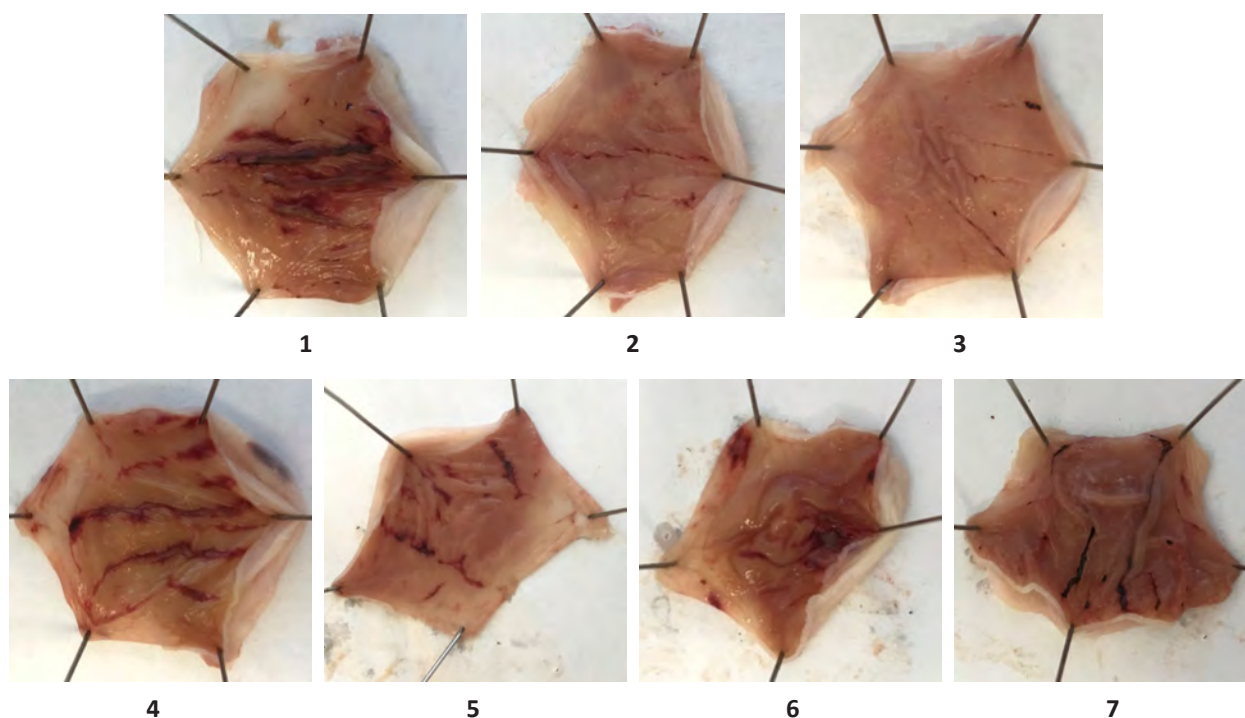


Рисунок 1 – Макрофотографии желудков крыс при моделировании эрозий, вызванной введением комбинации этанола и преднизолона (масштаб 1:1):

Примечание: 1 – Контроль (этанол+преднизолон), 2 – Производное бензимидазола 10 мг/кг, 3 – Производное бензимидазола 30 мг/кг, 4 – Ранитидин 10 мг/кг, 5 – Ранитидин 30 мг/кг, 6 – Омепразол 1 мг/кг, 7 – Омепразол 3 мг/кг

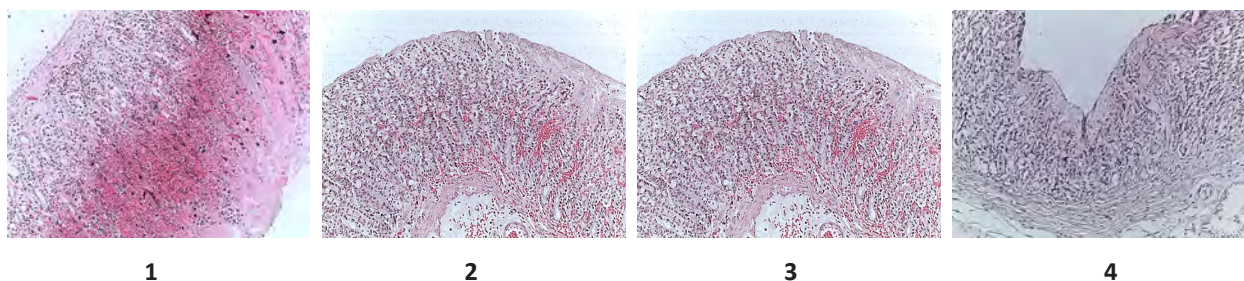


Рисунок 2 – Микрофотография слизистой оболочки желудка крыс при моделировании эрозий, вызванной введением комбинации 80% этанола и преднизолона (20 мг/кг) на фоне введения субстанции производного бензимидазола

Примечание: 1 – Контроль (этанол + преднизолон), 2 – Производное бензимидазола 3 мг/кг, 3 – Производное бензимидазола 10 мг/кг, 4 – Производное бензимидазола 30 мг/кг

На рисунке 1 представлена наиболее типичная макроскопическая картина СОЖ, на фоне действия изучаемой субстанции производного бензимидазола в сравнении с ранитидином и омепразолом при моделировании этанол-преднизолоновых язвенных поражений.

Гистологические исследования показали, что комбинация этанола с преднизолоном вызывает развитие обширных поверхностных дефектов СОЖ с внушительными зонами эозиновых масс, затрагивающих подслизистую основу, выраженной лейкоцитарной инфильтрацией, кровоизлияниями и некрозом тканей (рис. 2).

Производное бензимидазола способствовало дозозависимому снижению степени повреждения сли-

зистой оболочки, уменьшению отека, кровоизлияний, некроза и деструкции кровеносных сосудов (рис. 2).

Ранитидин и омепразол на данной модели повреждения проявили значительно менее выраженный протекторный эффект. Частоты повреждений, достигающих подслизистой основы, некрозов, деструкций желез и кровоизлияний в слизистой оболочке были сравнимы с контролем (рис. 3).

Результаты морфометрических исследований свидетельствуют, что субстанция производного бензимидазола в дозах 3, 10 и 30 мг/кг способствовала достоверному относительно контроля и препаратов сравнения снижению глубины повреждения на 38%, 42% и 71%, соответственно (таблица 2), значительно превосходя при этом ранитидин и омепразол.

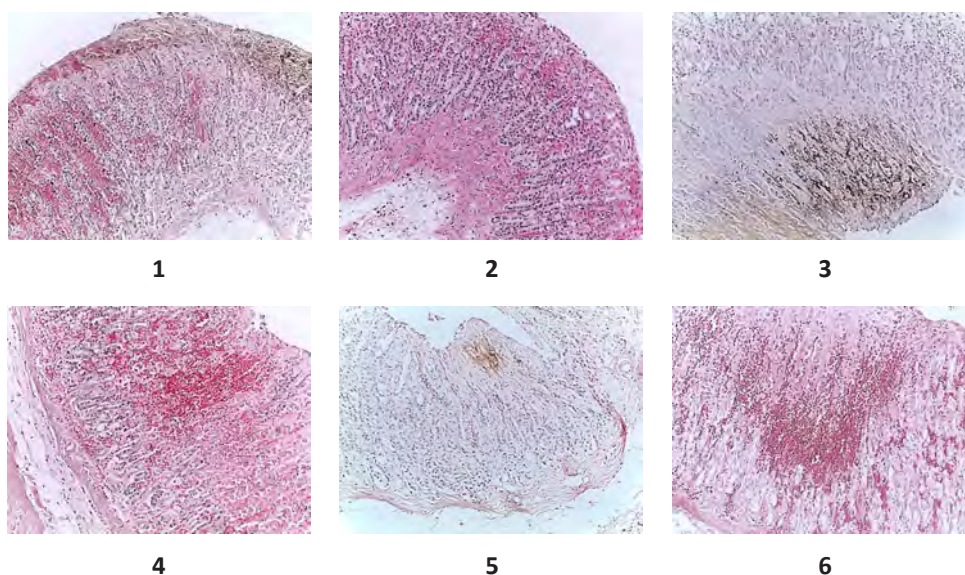


Рисунок 3 – Микрофотографии слизистой оболочки желудка крыс при моделировании эрозий, вызванной введением комбинации 80% этанола и преднизолона (20 мг/кг) на фоне введения препаратов сравнения

Примечание: 1 – Ранитидин 3 мг/кг, 2 – Омепразол 0,3 мг/кг, 3 – Ранитидин 10 мг/кг, 4 – Омепразол 1 мг/кг, 5 – Ранитидин 30 мг/кг, 6 – Омепразол 3 мг/кг

ОБСУЖДЕНИЕ

Механизм повреждающего действия глюкокортикоидов на СОЖ заключается в снижении резистентности защитного барьера за счет подавления синтеза простагландинов, которые оказывают гастропротективный эффект, а также за счет угнетения активности пероксидазы, что приводит к повышению уровня H_2O_2 и, соответственно, уровня гидроксильных радикалов, что в свою очередь усиливает повреждение СОЖ соляной кислотой, секретируемой париетальными клетками желудка [16]. Глюкокортикоиды также замедляют процессы репарации и регенерации СОЖ за счет ингибирования ангиогенеза [17], подавления EGF-стимулированной пролиферации клеток эпителия СОЖ, при этом одним из путей является угнетение активации ERK1/ERK2 с последующим подавлением ЦОГ-2 и снижением экспрессии Циклина D1 и синтеза ДНК [18]. Этанол, в свою очередь, способствует растворению защитного слизистого барьера, снижает кровоток, повреждает эндотелий сосудов, стимулирует формирование супероксиданион и гидроперекисных радикалов [11].

Исследуемая фармацевтическая субстанция динитрата 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола продемонстрировала выраженный дозозависимый противоязвенный эффект при моделировании повреждения СОЖ, вызванным сочетанием 80% этанола и преднизолона, регистрируемый как на макро-, так и на микро морфологическом уровнях, снижая площадь и степень повреждения СОЖ, уменьшая отек, интенсивность кровоизлияний, некроза и разрушения кровеносных сосудов, при этом полученные данные согласуются с результатами ряда предшествующих исследований, свидетельствующими о наличии противоязвенного и гастропротективного эффектов в условиях воспроизведения геликобактероподобных повреждений СОЖ у крыс, моделируемых

внутрижелудочным введением аммиака в сочетании с острой дозированной кровопотерей [5] и иммобилизационным стрессом [6]. Противоязвенное действие субстанции производного бензимидазола может быть связано с несколькими механизмами. Во-первых, за счет выраженного антисекреторного эффекта, проявляющегося подавлением секреции HCl, как базальной, так и в условиях стимуляции гистамином [7], который приводит к уменьшению кислотности желудочного содержимого и, соответственно, снижению его ulcerогенного потенциала. Во-вторых, в связи с вероятной антиоксидантной активностью, которая показана в ряде работ по исследованиям биологической активности производных бензимидазола [19–21], что, однако, требует дополнительного изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что производное бензимидазола оказывает выраженный дозозависимый противоязвенный эффект на модели этанол-преднизолоновых эрозивно-язвенных дефектов СОЖ, в среднем в 2 раза превосходящий эффекты препаратов сравнения.

Результаты исследований согласуются с ранее полученными данными об антисекреторной и противоязвенной активности динитрата 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола, и, учитывая уровень антиulcerогенного эффекта, превышающий таковой у препаратов сравнения, широко используемых в клинической практике H_2 -гистаминоблокатора ранитидина и ингибитора водородно-калиевой АТФ-азы омепразола, позволяют считать перспективным дальнейшее изучение фармакологических эффектов данного соединения, с целью создания нового антисекреторного, противоязвенного препарата.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование выполнялось в рамках федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» является Государственный контракт от 14.11.2017 №14.N08.11.1042.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Фундаментальные основы кислотопродукции в желудке / И.В. Маев, Д.Н. Андреев, А.В. Заборовский // Медицинский совет. – 2018. – № 3. – с. 7–14. Doi: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-3-7-14>.
2. Schubert M.L. Physiologic, pathophysiologic, and pharmacologic regulation of gastric acid secretion. *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2017. – V. 33, №6. P. 430–438. doi: 10.1097/MOG.0000000000000392.
3. Salahuddin A. Benzimidazoles: A biologically active compounds / A. Salahuddin, M. Shaharyar, A. Mazumder // *Arabian J. Chem.* – 2017. – № 10. – P. 157–173.
4. Пат. Antilulcer benzimidazole derivatives [Электронный ресурс] / Hockley M.H., Titman R.B. / US 4767769 A; № US 07/065,363; заявл. 23.06.1987; опубл. 30.08.1988. – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/US4767769A/en>
5. Спасов А.А., Петров В.И., Анисимова В.А., Минкин В.И., Черников М.В. Лекарственная субстанция для подавления геликобактероподобных эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки желудка. Патент RU 2395282 C2. Бюл. №21, 2010.
6. Черников М.В., Оганова М.А., Герасименко А.С., Артемьев Е.А. Противоязвенная активность динитрата 2-фенил-9-диэтиламиноэтил[1,2-а]бензимидазола при геликобактероподобном повреждении слизистой оболочки желудка / Фармация и фармакология. 2018. Т. 6. №4. С. 367–380. Doi: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2018-6-4-367-379>.
7. Черников М.В., Оганова М.А., Герасименко А.С., Артемьев Е.А. Изучение антисекреторной активности динитрата 2-фенил-9-диэтиламиноэтилмидазо[1,2-а]бензимидазола методом непрерывной перфузии желудка крыс / Фармация и фармакология. 2019. Т. 7. №4. С. 231–240. Doi: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2019-7-4-231-240>.
8. Caplan A., Fett N., Rosenbach M., Werth V.P., Micheletti R.G. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: A comprehensive review: Gastrointestinal and endocrinologic side effects / *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2017. – V. 76, №1. P. 11–16.
9. Подвигина Т.Т., Филаретова Л.П. Двойственные эффекты глюкокортикоидных гормонов на слизистую оболочку желудка / Успехи физиологических наук. – 2014. – Т. 45. – №4. – С. 19–33.
10. Багинская А.И., Ферубко Е.В., Курманова Е.Н. и др. Экспериментальное моделирование в гастроэнтерологии. Практические рекомендации. Часть II. Экспериментальные модели «острых» язв желудка / Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2016. – №3. – С. 32–40.
11. Simoes S., Lopes R., Campos M.C.D., Marruz M.J., da Cruz M.E.M., Corvo L. Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation / *Animal Model Exp. Med.* – 2019. – №2. P. 121–126.
12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунатян, А.Н. Васильев и др. // М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
13. ГОСТ Р 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. (OECD Guide 1:1998, IDT). – М.: Стандартинформ, 2015. – 11 с.
14. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (Зарегистрировано в Минюсте РФ 15 августа 2016 г. № 43232) // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти, № 37, 2016.
15. Adinortey M.B. In vivo models used for evaluation of potential antigestrointestinal ulcer / M.B. Adinortey, C. Ansah, I. Galyuon, A. Nyarko // *Ulcers.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–12. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/796405>.
16. Viswanatha Swamy A.H.M., Sajjan M., Thippeswamy A.H.M., Koti B.C., Sadiq A.J. Influence of Proton Pump Inhibitors on Dexamethasone-Induced Gastric Mucosal Damage in Rats / *Indian J. Pharm. Sci.*, 2011. – V. 73, №2. P. 193–198. Doi: 10.4103/0250-474x.91582
17. Luo J.C., Shin V.Y., Liu E.S. et al. Dexamethasone delays ulcer healing by inhibition of angiogenesis in rat stomachs // *Eur. J. Pharmacol.*, 2004. – V. 485. – P. 275–281. Doi: 10.1016/j.ejphar.2003.11.038
18. Luo J.C., Chi C.W., Lin H.Y. et al. Dexamethasone inhibits epidermal growth factor-stimulated gastric epithelial cell proliferation // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007. – V. 320. – P. 687–694. DOI: 10.1124/jpet.106.113035.
19. Zhou B., Li B., Yi W. et al. Synthesis, antioxidant, and antimicrobial evaluation of some 2-arylbenzimidazole derivatives // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2013. – V. 23, №13. – P. 3759–3763. doi: 10.1016/j.bmcl.2013.05.004. Doi: 10.1016/j.bmcl.2013.05.004
20. Ates-Alagoz Z. Antioxidant activities of retinoid benzimidazole or indole derivatives in In vitro model systems / *Current Med. Chem.* – 2013. – Vol. 20, №36. – P. 4633–4639.
21. Gaba M., Singh S., Mohan C. et al. Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Gastro-protective Anti-inflammatory Analgesic Agents based on Dual Oxidative Stress / Cyclooxygenase Inhibition / Antiinflamm. Antiallergy Agents Med. Chem. – 2019. Doi: 10.2174/1871523018666190325155244.

АВТОРЫ

Черников Максим Валентинович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой биологии и физиологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. ORCID 000-0001-8340-1296. E-mail: pharmax@list.ru

Оганова Марина Альбертовна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры биологии и физиологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. E-mail: marina-oganova81@mail.ru

Калашникова Светлана Александровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой морфологии

ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. E-mail: kalashnikova-sa@yandex.ru. ORCID 0000-0002-7688-9366

Полякова Людмила Викторовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры морфологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. ORCID 0000-0002-7688-9366. E-mail: lypolyakova7@gmail.ru

Хромов Наталья Александровна – аспирант кафедры биологии и физиологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. E-mail: khromovanatasha1994@gmail.com

УДК 615.322



ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ ЯКОРЦЕВ СТЕЛЮЩИХСЯ

А. Аффф, Ю.Н. Карпенко, Д.К. Гуляев, В.Д. Белоногова,
Е.И. Молохова, О.Л. Блинова, А.А. Гилева

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

E-mail: dkg2014@mail.ru

Получено 09.09.2019

Рецензия (1) 04.11.2019

Рецензия (2) 26.12.2019

Принята к печати 28.12.2019

Якорцы стелющиеся, или якорцы наземные – *Tribulus terrestris* L., семейство парнолистниковые – *Zygophyllaceae*, однолетнее травянистое растение, произрастающее в умеренном и тропическом климате, имеет богатый химический состав биологически активных веществ и химических элементов.

Цель работы – фитохимическое исследование якорцев стелющихся, произрастающих в разных географических зонах.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись образцы травы якорцев стелющихся, собранные в различных условиях обитания. Образцы сырья были высушены воздушно-теневым способом. Определение сапонинов в сырье проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Изучение качественного и количественного состава элементов проводили на рентгенофлуоресцентном спектрометре.

Результаты. Проведено исследование сапонинов методом ВЭЖХ-МС/МС, по результатам которого, во всех исследуемых образцах обнаружены диосцин и протодиосцин, времена удерживания которых совпадают с временами удерживания стандартов диосцина и протодиосцина. Установлено, что в образцах якорцев стелющихся травы среди макроэлементов в наибольшем количестве накапливаются калий и кальций, на их долю приходится около 90% от общего содержания элементов в растении. Выявлено, что распределение макро и микроэлементов в растении существенно различается в зависимости от места и условий произрастания.

Заключение. Максимальное содержание диосцина наблюдали в образцах, заготовленных в Молдове, а минимальное – в образцах из питомника ФГБНУ ВИЛАР. Наибольшее количество протодиосцина обнаружено в образцах из Крыма, а минимальное – в образцах из Молдовы. Проведенное исследование элементного состава якорцев стелющихся травы показало, что места обитания (географические зоны), в которых осуществлялся сбор исследованных образцов сырья, влияют на накопление элементов растением. С учетом полученных данных составлены ряды биологического поглощения для образцов из каждого места произрастания.

Ключевые слова: якорцы стелющиеся, *Tribulus terrestris*, ВЭЖХ-МС/МС, элементный состав, фитохимия

PHYTOCHEMICAL STUDY OF *TRIBULUS TERRESTRIS* L.

A. Affaf, Yu.N. Karpenko, D.K. Gulyaev, V.D. Belonogova,
E.I. Molokhova, O.L. Blinova, A.A. Gileva

Perm State Pharmaceutical Academy
2, Polevaya Str., Perm, Russia 614990

E-mail: dkg2014@mail.ru

Received 09 September 2019

Review (1) 04 November 2019

Review (2) 26 December 2019

Accepted: 28 December 2019

Tribulus terrestris L., an annual herb belonging to the *Zygophyllaceae* family and growing in moderate and tropical climates, has a rich chemical composition of biologically active substances and chemical elements.

The aim of the work is a phytochemical study of *Tribulus terrestris* L. growing in different geographical zones.

Для цитирования: А. Аффф, Ю.Н. Карпенко, Д.К. Гуляев, В.Д. Белоногова, Е.И. Молохова, О.Л. Блинова, А.А. Гилева. Фитохимическое исследование травы якорцев стелющихся. *Фармация и фармакология*. 2019;7(6):279-290. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-279-290

© А. Аффф, Ю.Н. Карпенко, Д.К. Гуляев, В.Д. Белоногова, Е.И. Молохова, О.Л. Блинова, А.А. Гилева, 2019

For citation: A. Affaf, Yu.N. Karpenko, D.K. Gulyaev, V.D. Belonogova, E.I. Molokhova, O.L. Blinova, A.A. Gileva. Phytochemical study of *Tribulus Terrestris* L. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(6): 279-290. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-279-290

Materials and methods. The objects of study were herb specimens of *Tribulus terrestris* L. collected in different habitats. The samples of the raw materials were shade-dried. The determination of saponins in the raw materials, was carried out by high performance liquid chromatography with a mass spectrometric detection (HPLC-MS / MS). The study of the qualitative and quantitative composition of the elements was carried out on an X-ray fluorescence spectrometer.

Results. The saponins had been studied by HPLC-MS/MS, according to which in all the studied samples, dioscin and protodioscin were found. Their retention times coincided with the retention times of dioscin and protodioscin standards. It has been established that among the macroelements of *Tribulus terrestris* L., potassium and calcium are mostly accumulated. They account for about 90% of the total content of the elements in the plant. It has been revealed that the distribution of macro- and microelements in the plant, varies significantly depending on their place and growing conditions.

Conclusion. The maximum dioscin content was observed in the samples harvested in Moldova, and the minimum – in the samples from the nursery garden of the All-Russian Scientific Research Institute of medicinal and aromatic plants. The largest amount of protodioscin was found out in the samples from the Crimea, and the minimum – in the samples from Moldova. The carried out study of the elements content of *Tribulus terrestris* L. showed that the habitats (geographical zones) in which the studied samples of raw materials had been were collected, affect the accumulation of the elements by the plant. Based on the data obtained, biological absorption series have been compiled for the samples from each habitat.

Keywords: *Tribulus terrestris* L., high performance liquid chromatography with a mass spectrometric detection, HPLC-MS/MS, elements content, phytochemistry

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время большое внимание уделяется комплексным препаратам, содержащим витамины, аминокислоты и микроэлементы. Установлено, что марганец (Mn) и молибден (Mo) потенцируют действие сердечных гликозидов, Mn потенцирует действие аскорбиновой кислоты и каротиноидов, содержащихся в лекарственных растениях. Кроме того, микроэлементы, содержащиеся в растениях, лучше усваиваются организмом человека, так как они находятся в растительном сырье в «биологических» концентрациях [1, 2].

Якорцы стелющиеся (*Tribulus terrestris* L., семейство парнолистниковые – *Zygophyllaceae*) представляет собой однолетнее травянистое растение. Растение имеет стержневую корневую систему с сетью волокнистых боковых корней. Листья парно-перистосложные. Цветки диаметром 1–1,2 см расположены в пазухах листьев. Чашечка состоит из 5 длиннозаостренных, снаружи прижатоволосистых чашелистиков длиной 4–5 мм, шириной 1–1,3 мм [3–5].

Произрастают в умеренном и тропическом климате в Южной Европе, Южной Азии, Африке, северной Австралии. В Российской Федерации якорцы стелющиеся произрастают в европейской части, на Северном Кавказе, в Западной и Восточной Сибири, Крыму. Растут в сухих, песчаных и каменистых степях на глинисто-иловатых, солончаковых, супесчаных почвах, влажных лугах, по долинам рек, как сорное в посевах, у дорог [6]. Сырьевая база обеспечена дикорастущими растениями.

Одной из основных групп биологически активных веществ якорцев стелющихся травы являются стероидные сапонины, представленные диосцином, протодиосцином, трибестином, прототрибестином, метилпрототрибестином, метилпротодиосцином, псевдопротодиосцином, трибулозином и другими соединениями [7–10]. В сырье содержатся флавоноиды, в основном производные кверцетина, астрагалин, 3-рутинозид, 3-генциобиозид кемпферола,

3-генциобиозид изорамнетины, трибулозид, рутин, кемпферол, кверцетин, 3-О-рамнозид кверцетина [7, 11–13].

В корнях, надземной части, плодах, цветках – гекогенин, в корнях, надземной части – неотигогенин, в корнях и цветках – β -ситостерин, стигмастерин, кампестерин; в надземной части, цветках – рускогенин.

Каротиноиды: в листьях – α -каротин; фенолкарбоновые кислоты: в плодах – феруловая, *p*-гидроксibenзойная; алкалоиды: трибулусамид С, трибулусерин, трибулусин, гармин, гарман; другие компоненты включают органические кислоты, аминокислоты; из органических кислот: бензойная, ваниловая, феруловая, янтарная кислоты. Основными аминокислотами являются аланин и треонин, кроме того, содержатся кумарин, эмодин и физион [6, 14–17].

Извлечения из травы якорцев стелющихся обладают гипохолестеринемическим, стимулирующим функцию половых желез, противовоспалительным, гепатопротекторным, антигипертензивным, иммуномодулирующим и антиоксидантным действием, усиливают перистальтику кишечника, обладают свойствами афродизиака [18].

Якорцы стелющиеся широко применяются в народной медицине многих стран [19]. В народной медицине Болгарии используются для лечения импотенции [19]. В народной медицине Ирана – в качестве мочегонного, слабительного, для припарков, при лечении сифилиса [20]. В Непале – при мочеполовых инфекциях [21]. В индийской медицине – при радикулите, воспалении органов малого таза и крестца, сухом кашле и расстройствах дыхания [22]. В традиционной китайской медицине – для лечения глаз, отёков, вздутия живота, патологических болей и сексуальной дисфункции. Якорцы описываются как очень ценное лекарственное средство в Shern-Nong фармакопее [19].

В исследовании, проведённом в Египте в 2015 году в группе мужчин старшей возрастной группы, страдающих возрастным андрогенным дефицитом, применение экстракта якорцев стелющихся показало

статистически значимую разницу в увеличении уровня тестостерона [23]. Исследование в Иране в 2016 году на человеческих сперматозоидах показало улучшение различных параметров мужской спермы [24]. Другое исследование в Бразилии в 2016 году, на 65 мужчинах, показало значительное увеличение её качества [25]. Рандомизированное, двойное, слепое, плацебо-контролируемое исследование подтвердило высокую эффективность применения якорцев стелющихся для лечения сексуальной дисфункции у женщин [26].

В 2016 году ученые из Ирана показали, что этанольный экстракт якорцев эффективно снижал уровень глюкозы, по сравнению с плацебо у женщин больных диабетом 2 типа [27]. Механизм гипогликемического действия, по всей видимости, связан с ингибированием активности α -глюкозидазы в тонком кишечнике [28, 29]. Так же был найден легкий ингибирующий α -амилазу эффект [28].

Стероидные сапонины якорцев обладают противогрибковой активностью в отношении флуконазол-устойчивых грибов рода *Candida* [30]. Другие исследования *in vitro* так же показали, как противогрибковые так и антибактериальные свойства этого растения [31].

Исследования *in vitro* клеток сердца и целых сердец животных, показало, что вещества из якорцев стелющихся обладают защитным эффектом на ткани сердца [32]; а также нейропротекторным действием стероидных сапонинов [33]. На основе стероидных сапонинов фураностанолового типа болгарскими учеными создан препарат Трибестан, обладающий гиполипидемическим и гипохолестеринемическим действием [34].

Из травы якорцев стелющихся грузинскими учеными ранее был получен новогаленовый препарат – Трибуспонин (сумма стероидных сапонинов), снижающий уровень холестерина в крови и увеличивающий лецитин/холестериновый коэффициент [35].

В Российской Федерации зарегистрирован препарат «Трибуспонин», таблетки по 0,1 г, как антисклеротическое средство; экстракт входит в состав комплексных препаратов «Фитовит», «Спеман», «Спеман форте». ЗАО «Эвалар» выпускается БАД «Эффекс трибулус» для лечения эректильной дисфункции и повышения потенции.

Учитывая широкое распространение и применение растения в научной и народной медицине, представляет интерес исследование химического состава образцов сырья якорцев стелющихся, собранных в различных условиях обитания.

ЦЕЛЬ – исследование образцов сырья якорцев стелющихся, заготовленных в разных географических зонах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Трава якорцев стелющихся, собранная в различ-

ных географических зонах: Сирийская арабская республика, окрестности города Дамаск; Республика Молдова, окрестности города Кишинев; Ботанический сад ВИЛАР; полуостров Крым, вершина горы Кушкая (таблица 1). Образцы были заготовлены в фазу цветения – плодоношения и представляли собой всю надземную часть растения вместе с корнем. Первичная обработка сырья состояла в удалении корня, побуревших частей растения. Сушка – воздушно-теневая, сырьё соответствовало требованиям ВФС №42-827-79 «Herba tribuli terrestris» по показателям «подлинность» и «доброкачественность».

Методика определения сапонинов

Количественное определение сапонинов в траве якорцев стелющихся проводили методом ВЭЖХ-МС/МС с помощью жидкостного тройного квадрупольного хроматомакс-спектрометра LCMS-8050 (Shimadzu) при следующих условиях:

- хроматографическая колонка: Luna 5u C18(2) (2,1×150 mm 3,5-Micron);
- температура термостата колонки: 40°C;
- элюент: 0,1% раствор муравьиной кислоты – ацетонитрил;
- режим элюирования: градиентный;
- скорость потока подвижной фазы: 0,4 мл/мин.

Условия масс-спектрометрического детектирования представлены в табл. 2.

Подготовка образцов

Около 0,5 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляли 25 мл метанола (х.ч.). Далее проводили экстракцию содержимого колбы на ультразвуковой бане в течение 30 минут при температуре 30±1°C. 1 мл полученного извлечения переносили в центрифужную пробирку и центрифугировали в течение 5 минут при 10000 об/мин.

50 мкл супернатанта помещали в вialу объемом 2 мл, добавляли 950 мкл метанола и перемешивали. Объем анализируемой пробы составил 5 мкл.

Идентификацию и количественное определение сапонинов в извлечениях из растительного сырья проводили с использованием стандартных образцов диосцина и протодиосцина (Sigma-Aldrich, Германия). Навески стандартных образцов (около 1 мг) растворяли в 1 мл метанола. Полученные растворы использовали для приготовления метанольных растворов с концентрацией 1000 нг/мл каждого из стандартов.

Детектирование образующихся ионов проводили в режиме MRM (мониторинга множественных реакций). Ионные переходы для диосцина составили 869,50→415,00; для протодиосцина 1031,5→415,0 [36].

Определение проводили в трехкратной повторности.

Таблица 1 – Зоны заготовки образцов сырья якорцев стелющихся

№	Место сбора	Дата сбора
1	Сирийская арабская республика, окрестности города Дамаск	Июнь 2018
2	Российская Федерация Республика Крым, бухта Ласпи, вершина горы Кушкая	Июль 2017
3	Республика Молдова, окрестности города Кишинев	Июнь 2017
4	Ботанический сад ФГБНУ «ВИЛАР», г. Москва	Июль 2016

Таблица 2 – Условия масс-спектрометрического анализа

Интерфейс	DUIS (электроспрей + химическая ионизация)
Поток газа-распылителя	3 L/min
Поток нагревающего газа	10 L/min
Поток осушающего газа	10 L/min
Температура интерфейса	300°C
Температура DL	200°C
Температура Heat Block	400°C
Расход газа-осушителя	10 л/мин
Напряжение на капилляре	4000 В
Полярность источника ионизации	Положительная
Энергия соударительной ячейки	30 эВ

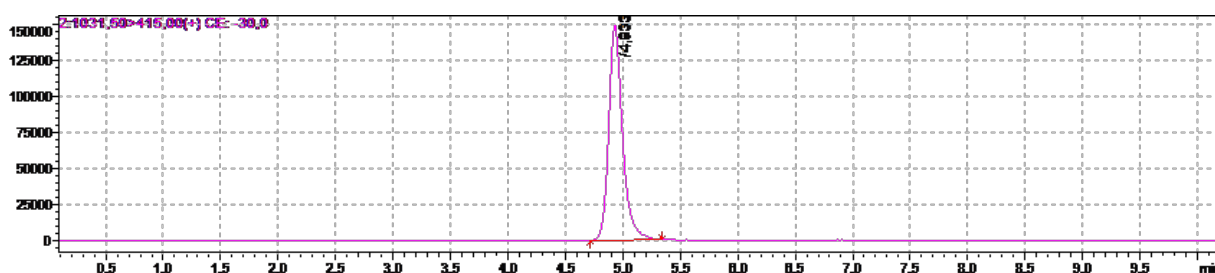


Рисунок 1 – Хроматограмма раствора стандартного образца протоdiosцина (концентрация 1333 нг/мл).

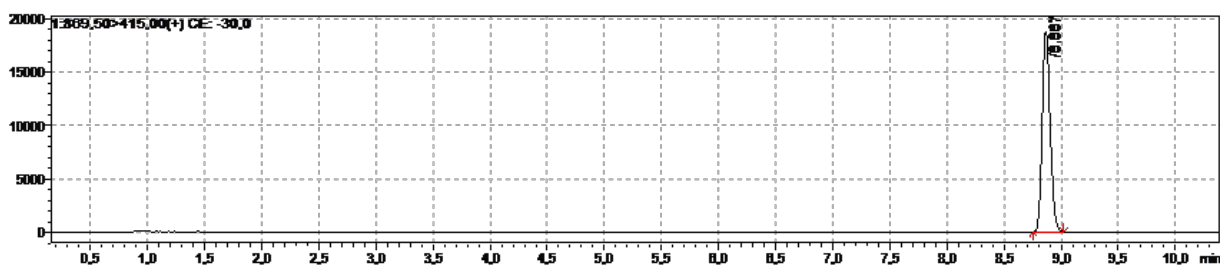


Рисунок 2 – Хроматограмма раствора стандартного образца диосцина (концентрация 900 нг/мл).

Методика определения элементного состава

Изучение элементного состава проводили с использованием рентгено-флуоресцентного метода, рекомендованного для исследования элементного состава лекарственного сырья ГФ XIV [37].

Подготовка образцов

Около 10 г сухой травы якорцев стелющихся измельчали до порошкообразного состояния, помещали в тигель и сжигали на плитке в вытяжном шкафу до прекращения дымления. Тигель поме-

щали в муфельную печь при температуре $500 \pm 1^\circ\text{C}$, выдерживали там около 2 ч, до полного озоления и отсутствия черной угольной массы. После полного охлаждения в вытяжном шкафу в тигель добавляли азотную кислоту 50% и выпаривали её на плитке с закрытой спиралью, избегая разбрызгивания. Затем помещали в муфельную печь при температуре $500 \pm 1^\circ\text{C}$ на 2 ч [38].

После охлаждения тигля, в зольном остатке проводили определение качественного и количественного состава элементов на рентгенофлуоресцентном спек-

трометре QUANT'X компании Thermo Scientific [39]. Определение проводили в трехкратной повторности.

Статистическая обработка результатов

Обработка хроматографической информации осуществлялась с помощью программного обеспечения «LabSolutions» (Shimadzu).

Для проведения статистического анализа полученных результатов использовали язык статистического программирования R CRAN. Обработка результатов проводилась с использованием системы Microsoft Excel. Для сравнения анализа результатов использовали критерий Стьюдента с оценкой достоверности отличий ($p < 0,05$).

Визуализацию результатов проводили с помощью неметрического многомерного шкалирования. Для построения шкалирования применено расстояние Брэя (также известного как мера Сьёренсена) [40, 41], выполнено центрирование и прокрустово вращение до минимизации стресс-функции.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рисунках 1–2 представлены хроматограммы растворов стандартных образцов диосцина и протодиосцина в метаноле.

Времена удерживания протодиосцина и диосцина составили соответственно $4,93 \pm 0,03$ и $8,86 \pm 0,03$ мин.

Хроматограммы извлечений из исследуемых образцов растительного сырья представлены на рисунке 3 (А–Г).

Идентификацию диосцина и протодиосцина на хроматограммах проводили по временам удерживания в сравнении со стандартными образцами. Дополнительные пики, наблюдаемые на хроматограммах извлечений, соответствующие соэкстрактивным соединениям, хорошо отделены и не мешают определению целевых аналитов. Для количественной оценки сапонинов в растительном сырье использовали метод внешнего стандарта.

Результаты исследований показали, что во всех исследуемых образцах содержатся диосцин и протодиосцин. Максимальное содержание диосцина наблюдается в образцах сырья, заготовленных в Крыму – $1,90 \pm 0,02$ ($p < 0,05$), а минимальное – в образцах из питомника ФГБНУ ВИЛАР. Между содержанием диосцина в образцах, заготовленных в Крыму и Сирии статистически значимых различий не обнаружено. Наибольшее количество протодиосцина также обнаружено в образцах из Крыма – $15,59 \pm 0,28$ ($p < 0,05$), а минимальное – в образцах из Молдовы (табл. 3).

Следующим этапом работы было определение элементного состава якорцев стелющихся травы различных регионов произрастания на содержание ключевых элементов, необходимых для жизнедеятельности растения и оказывающих влияние на

процессы, происходящие в организме человека (таблица 4).

Данные статистической обработки результатов анализа представлены в табл. 5.

На рис. 7 представлено взаимное расположение проб в сокращенном пространстве признаков и вклад каждого из исследованных элементов в главные координаты.

На рис. 7 видно, что пробы, характеризующие каждую географическую зону, локализованы компактно, особенно проба из питомника ФГБНУ ВИЛАР. Наименее сходными являются пробы Сирии и ФГБНУ ВИЛАР, тогда как пробы Крыма и Молдовы, напротив, относительно близки.

В результате элементного анализа образцов якорцев стелющихся травы установлено, что среди макроэлементов во всех исследуемых образцах в наибольшем количестве накапливаются калий и кальций, на их долю приходится около 90% от общего содержания элементов в растении. В траве якорцев стелющихся присутствуют, в том числе, эссенциальные элементы, такие как железо, медь, цинк, марганец, хром, молибден.

Распределение макро и микроэлементов в растении существенно различается в зависимости от места и условий произрастания. Так, например, содержание титана в образцах сырья, заготовленных в питомнике ФГБНУ ВИЛАР в 5–6 раз выше, чем в остальных образцах (табл. 4). Большое содержание титана, в данных образцах связано с условиями произрастания растения (культивируемое в питомнике ВИЛАР). Минимальное накопление титана наблюдается в образцах из Сирии. Цинка оказалось больше в образцах, собранных на полуострове Крым, а его минимальное содержание – в образцах из питомника ФГБНУ ВИЛАР. Марганца было больше всего обнаружено в образцах из питомника ФГБНУ ВИЛАР, а в образцах из Сирии установлено его минимальное содержание.

Марганец участвует в обмене веществ, улучшает физиологические процессы в организме. Принимает участие в окислительных процессах, в восстановлении нитратов при осуществлении фотосинтеза, а также в антагонизме между марганцем и другими химическими элементами [42]. Из этого следует вывод о том, что интенсивность обменных процессов выше в растениях, культивируемых в питомнике ФГБНУ «ВИЛАР». Высокая интенсивность обменных процессов говорит о благоприятных для растения условиях.

Данные, приводимые другими исследователями [42], показали наличие определенной зависимости между содержанием железа и марганца. При снижении содержания марганца в растении накапливается избыточное количество активного закисного железа [42]. Похожая зависимость наблюдается и в некоторых исследованных образцах.

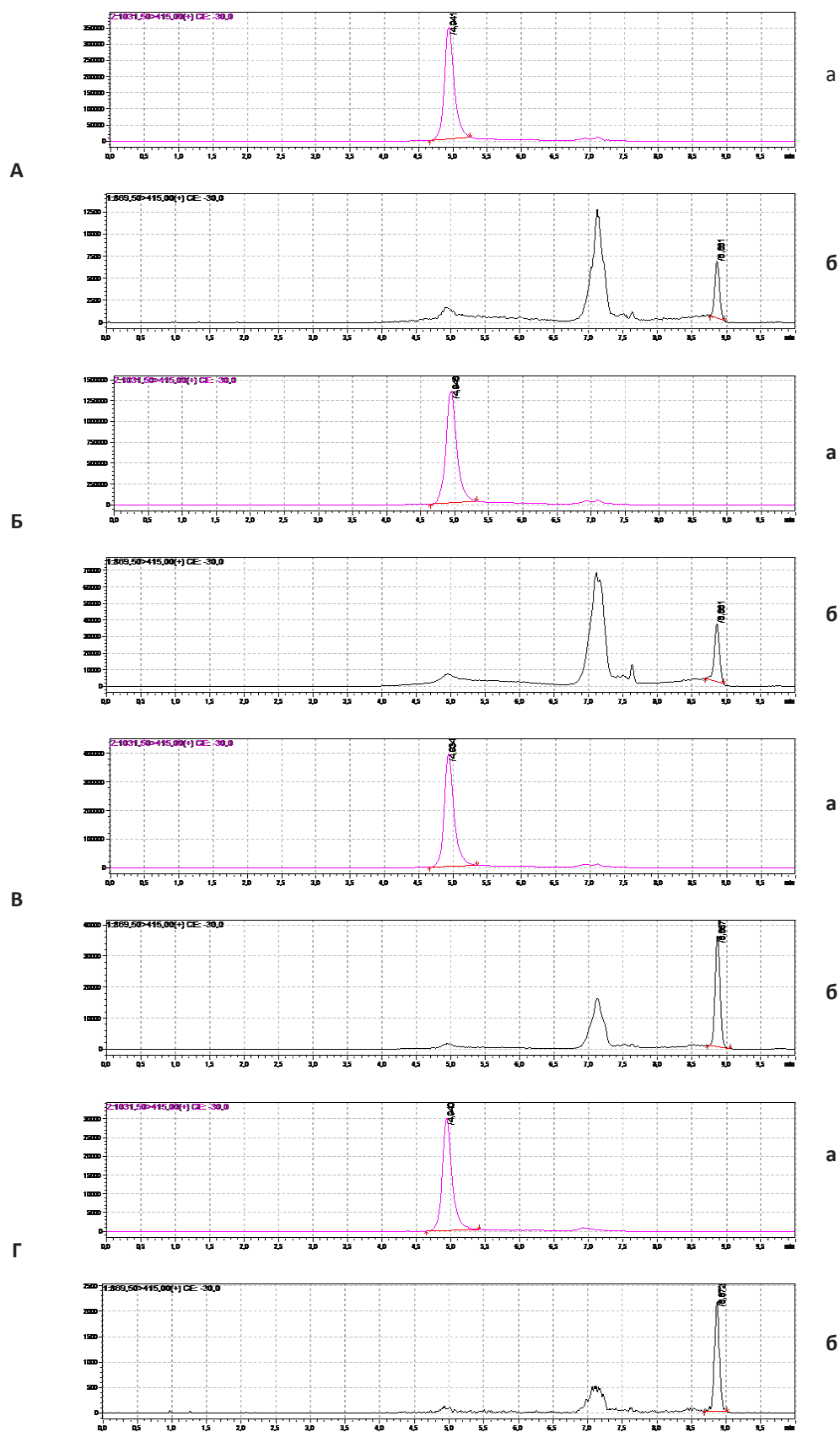


Рисунок 3 – Хроматограммы извлечений из образцов сырья, собранных в Молдове (А), Крыму (Б), Сирии (В) и питомнике ВИЛАР (Г)

Примечание. а – детектирование на ионных переходах протодиосцина (1031,5→415,0), б – диосцина (869,50→415,00).

Таблица 3 – Результаты количественного определения диосцина и протодиосцина в образцах растительного сырья методом ВЭЖХ-МС/МС

Образцы	Содержание диосцина, мг (в 1 г сырья) X ср. ± SD	Содержание протодиосцина, мг (в 1 г сырья) X ср. ± SD
Молдова (2017 г)	0,265±0,011*	3,17±0,13*
Крым (2017 г)	1,90±0,02	15,59±0,28*
Сирия (2018 г)	1,67±0,04*	3,80±0,11*
ВИЛАР (2016 г)	0,097±0,02*	1,435±0,38*

Примечание: * – достоверность различий p<0,05

Таблица 4 – Элементный состав образцов сырья якорцев стелющихся травы

№ п/п	Элемент	% от общего содержания элементов в образцах, в пересчете на воздушно-сухое сырье			
		Сирия (2018)	Крым (2017)	Молдова (2017)	ВИЛАР (2016)
Макроэлементы					
1	Na	7,70±0,15	3,20±0,26	3,5±0,6	4,30±0,211
2	K	50,71±0,56	64,65±0,39	63,97±0,30	36,27±0,42
3	Mg	0,47±0,09	0,498±0,056	0,58±0,042	0,31±0,01
4	P	0,69±0,10	0,878±0,098	0,88±0,08	0,35±0,04
5	S	1,43±0,13	1,099±0,124	1,08±0,20	1,02±0,11
6	Ca	37,83±0,54	27,22±0,23	26,98±0,21	46,59±0,35
Микроэлементы					
7	Cu	0,0323±0,001	0,0163±0,004	0,018±0,001	0,018±0,002
8	Zn	0,0685±0,008	0,0959±0,007	0,074±0,003	0,054±0,011
9	Al	0,600±0,079	0,628±0,048	0,736±0,045	1,555±0,124
10	Si	0,458±0,058	0,656±0,072	0,957±0,043	0,908±0,062
11	Ti	0,056±0,001	0,134±0,007	0,143±0,008	0,630±0,075
12	Cr	0	0	0,008±0,002	0,016±0,001
13	Mn	0,046±0,010	0,065±0,004	0,067±0,008	0,215±0,008
14	Fe	0,356±0,088	0,880±0,07	0,962±0,054	0,474±0,045
15	Co	0	0	0	0
16	Ni	0,004±0,002	0	0	0,011±0,001
17	Pb	0	0	0	0,011±0,003
18	Mo	0	0	0	0
19	Sn	0	0	0	0
20	Ba	0	0	0	0

Таблица 5 – Статистическая обработка результатов анализа элементного состава

	Df	Sums of Sqs	Mean Sqs	FM model	R2	Pr (>F)
Group	3	0,158631	0,052877	951,25	0,9972	0,001
Residuals	8	0,000445	0,000056	0,0028		
Total	11	0,159075	1			

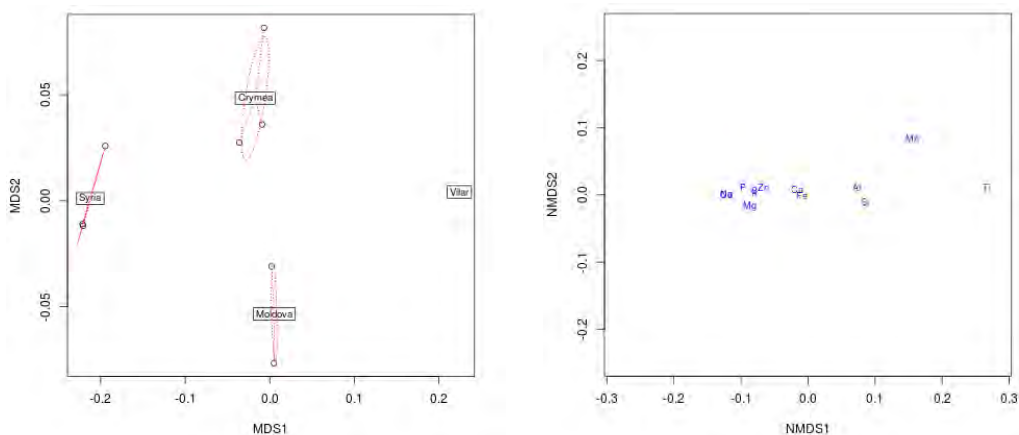


Рисунок 7 – Взаимное расположение проб и вклад каждого из исследованных элементов в главные координаты.

Органические соединения, имеющие в составе железо, нужны растению для обеспечения протекания биохимических процессов, происходящих при дыхании и фотосинтезе. Соединения, имеющие в структуре железо, выступают переносчиками электронов в биохимических процессах, поскольку являются составной частью ферментов дигидрогеназ и цитохромов. Железо принимает участие в процессе биосинтеза хлорофилла, поэтому при ограниченном его поступлении могут возникать тяжелые заболевания растений, в частности хлороз [42, 43].

В исследуемых образцах наблюдается следующая картина по накоплению железа. Его содержание оказалось выше в образцах, собранных в Молдове. В меньшем количестве железо присутствует в образцах, собранных в Сирии.

Кремний в максимальных количествах был обнаружен в образцах из питомника ФГБНУ ВИЛАР, а в образцах из Сирии – в минимальном.

Алюминия в образцах из ФГБНУ ВИЛАР оказалось в 2 раза больше по сравнению с другими образцами. В организме человека алюминий участвует в построении эпителиальной и соединительной ткани, в регенерации костей, в минеральном обмене и др. [1, 44]. Стоит отметить также, что высокое содержание алюминия может оказывать негативное действие на организм человека, поскольку при избыточном его поступлении может проявляться воздействие на центральную нервную систему, прогрессирование болезни Альцгеймера и депрессии [1].

Согласно ОФС.1.5.3.0009.15. «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», предельно допустимая концентрация (ПДК) свинца 6,0 мг/кг. Установлено, что в образцах из Сирии, Крыма и Молдовы свинец не был обнаружен. Содержание свинца в образцах, заготовленных в питомнике ФГБНУ ВИЛАР не превышало предельно допустимую концентрацию.

На основании полученных результатов был составлен ряд биологического поглощения химических элементов для якорцев стелющихся травы:

Образцы, заготовленные в Сирии: $K > Ca > Na > S > P > Al > Mg > Si > Fe > Zn > Ti > Mn > Cu > Ni$.

Образцы, заготовленные на полуострове Крым: $K > Ca > Na > S > Fe > P > Si > Al > Mg > Ti > Zn > Mn > Cu$.

Образцы, заготовленные в Молдове: $K > Ca > Na > S > Fe > Si > P > Al > Mg > Ti > Zn > Mn > Cu > Cr$.

Образцы, заготовленные в питомнике ФГБНУ ВИЛАР:

$Ca > K > Na > Al > S > Si > Ti > Fe > P > Mg > Mn > Zn > Cu > Cr > Pb > Cu$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что растения якорцев стелющихся из разных географических регионов содержат сапонины, различающиеся по составу [45, 46]. В доступной литературе встречается информация о сапонилах, выделенных из якорцев, произрастающих в Китае, Индии, Новой Зеландии, Южной Африке, Болгарии, Грузии и Молдавии [46]. По мнению Szakiel и

др. [47] структура сапонинов и их количественное содержание в этом растении зависит от нескольких факторов: климата, освещенности, наличия влаги и состава почвы, а также некоторых других локальных региональных характеристик. Кроме того, в большинстве выполненных ранее исследований, не сообщается о стадии (фазе) роста растений или о том, когда и каким образом заготовлено сырье. Указывается также, что способ экстракции стероидных сапонинов, очевидно, влияет на результаты их определения в сырье якорцев [45]. Поэтому данные об отсутствии, например, диосцина в некоторых анализировавшихся другими исследовательскими группами образцах [48] позволяют предположить, что фаза развития растений якорцев стелющихся и конкретная методика экстракции стероидных сапонинов оказывают существенное влияние на результат.

Исследования, выполненные нами, позволяют заключить, что в фазу цветения – плодоношения во всех образцах вне зависимости от зоны заготовки образцов содержатся диосцин и протодиосцин. При этом содержание протодиосцина в некоторых образцахкратно выше содержания диосцина.

В научной литературе, посвященной исследованию травы якорцев стелющихся, представлены сведения о различных методах, использовавшихся для оценки содержания стероидных сапонинов, в том числе диосцина и протодиосцина, в этом лекарственном растительном сырье [46, 48].

По мнению А.Н. Ставрианиди с соавторами [45] «наилучшим способом детектирования (по информативности, селективности и чувствительности) для определения сапонинов считается ионизация электрораспылением в сочетании с тандемной масс-спектрометрией».

Разработанная нами методика с использованием ВЭЖХ-МС/МС позволяет достоверно оценивать качество сырья (травы) якорцев стелющихся по содержанию в нем диосцина и протодиосцина с использованием метода внешнего стандарта.

Важным компонентом химического состава травы якорцев некоторыми исследователями считается характерный набор её макро- и микроэлементов [49–51].

R. Selvaraju с соавторами указывают, что трава якорцев стелющихся является хорошим источником Na, K, Ca, Mg и Fe. Однако в цветках может накапливаться существенная концентрация некоторых тяжелых металлов [49]. Они также показали, что содержание минеральных веществ в якорцах варьирует в зависимости от состава почвы, на которой произрастали растения. Полученные нами результаты позволяют также заключить, что Na, K и Ca являются преобладающими элементами в траве якорцев.

Исследование A.Ghani и др. установило, что якорцы накапливают Cu^{2+} до 0,044 % (сухой вес), Ni^{3+} – 0,239%, Zn^{2+} – 0,434%, Co^{2+} – 0,161%, Cr^{3+} – 0,241%, Cd^{2+} – 0,384%, Fe^{2+} – 0,349%, Mn^{3+} – 0,527%, Pb^{2+} – 0,494%, Mg^{2+} – 0,541% [50]. Способность этого растения в зависимости от состава почвы накапливать кадмий и свинец позволяет считать, что контроль

сырья якорцев на содержание тяжёлых металлов необходим.

I. Daur и соавторы [51] выяснили, что накопление минеральных элементов в якорцах связано, как со стрессовыми условиями в местах произрастания растений, так и с их содержанием и доступностью в почве. Ряды биологического поглощения макро- и микроэлементов, которые могут быть составлены на основе результатов, полученных для образцов якорцев стелющихся, собранных этими исследователями в Саудовской Аравии и Пакистане — $K > N > Mg > Ca > P > Na$; $Mn > Fe > Zn > Ni$ позволяют в сравнении с полученными нами данными говорить о влиянии места (зоны) произрастания на минеральный состав сырья этого растения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований методом ВЭЖХ-МС/МС во всех исследуемых образцах обнаружены диосцин и протодиосцин. Максимальное содержание диосцина наблюдали в образцах

сырья якорцев стелющихся, заготовленных в Молдове, а минимальное — в образцах из питомника ФГБНУ ВИЛАР. Наибольшее количество протодиосцина установлено в образцах сырья якорцев собранных в Крыму, а минимальное — в образцах из Молдовы. Полученные данные и методика оценки качества сырья использованы при составлении проекта фармакопейной статьи «Якорцев стелющихся трава», направленной в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России.

Проведенное исследование элементного состава якорцев стелющихся травы показало, что места обитания (географические зоны), в которых осуществлялся сбор исследованных образцов сырья, влияют на накопление элементов растением. С учетом полученных данных составлены ряды биологического поглощения для образцов каждого места произрастания. Все исследуемые образцы сырья соответствовали требованиям ОФС.1.5.3.0009.15 ГФ по содержанию тяжелых металлов.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

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

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кожин А.А. Владимирский Б.М. Микроэлементозы в патологии человека экологической этиологии // *Экология человека*. — 2013. — С. 56–63.
2. Кононова С.В., Кузин В.Б., Ловцова Л.В., Зуева И.А., Ганенков А.А. Фармакологические и клинико-экономические аспекты применения лекарственных препаратов железа (обзор) // *Медицинский альманах*. — 2010. — №3. — С. 197–201.
3. Мазнев Н. И. Энциклопедия лекарственных растений. — 3-е изд., испр. и доп. — М.: Мартин, 2004. — 494 с.
4. William L. Halvorson. Factsheet for *Tribulus terrestris* L. // Southwest Biological Science Center Sonoran Desert Field Station University of Arizona. — 2003. — 29 p.
5. Nikolova A., Vassilev A.A. Study on *Tribulus Terrestris* L. Anatomy and Ecological Adaptation — *Tribulus Terrestris* L. // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. — 2011. — Vol. 25. — P. 2369–2372.
6. Атлас лекарственных растений России. — М.: ВИЛАР, 2006. — 376 с.
7. Adaikan G.P., Gauthaman K., Prasad N.V. History of herbal medicines with an insight on the pharmacological properties of *Tribulus terrestris* // *The aging male*. — 2009. — P. 163–169. <https://doi.org/10.1080/tam.4.3.163.169>.
8. Буданцев А.Л. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейства Fabaceae — Apiaceae. — СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. — С. 102–105.
9. Dincher D., Janda B., Evstatieva L., Oleszek W., Aslani M.R., Kostova I. Distribution of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* from different geographical regions // *Phytochemistry*. — 2008. — №69. — P. 176–186. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.003>.
10. Shishovska M., Arsova-Sarafinovska Z., Memeti S. A Simple Method for Determination of Protodioscin in *Tribulus terrestris* L. and Pharmaceuticals by High Performance Liquid Chromatography Using Diode-Array Detection // *Journal of Chemical Engineering Research Updates*. — 2015. — V. 2. — P. 12–21.
11. Худенко П.Е., Терешина Н.С., Морохина С.Л. Определение флавоноидов в траве якорцев стелющихся методом ВЭЖХ // *Фармация*. — 2016. Т. 65. — № 5. — С. 19–22.
12. Ashwani K. Comparative and quantitative determination of quercetin and other flavonoids in North Indian population of *Tribulus terrestris* Linn. by HPLC // *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. — 2012. — 3(4). — P. 69–79. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1197078>.
13. Noori M., Dehshiri M.M., Zolfaghari M. R. *Tribulus Terrestris* L. (Zygophyllaceae) Flavonoid Compounds // *International Journal of Modern Botany*. — 2012. — №2. — P. 35–39. <https://doi.org/10.5923/j.ijmb.20120203.01>.
14. Умарова Г.К. Липиды травы якорцев стелющихся, произрастающих в Узбекистане // *Фармация*. — 2015. — №6. — С. 19–21.
15. Mamdouh N., Samy, Mokhtar M., Bishr, Ahmed A., Ahmed, Hanaa M., Sayed and Mohamed S. Kamel. Pharmacognostical Studies on Flower of *Tribulus terrestris* L // *Journal of pharmacognosy and phytochemistry zdb*. — 2013. — Vol. 1, Issue 5 — P.18–22.
16. Wenyi Zhu., Yijie Du., Hong Meng., Yinmao Dong., Li Li. A review of traditional pharmacological uses, phytochemistry, and pharmacological activities of *Tribulus terrestris* // *Chemistry Central Journal*. — 2017. — №11. — P. 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0289-x>.
17. Farooq Azam, Samia Munier, Maliha Batoo, Bashir Ahmad, Ghazanfar Abbas. A review on advancements in ethnomedicine and phytochemistry of *Tribulus terrestris* — a plant with multiple health benefits // *International Journal of Biosciences*. — 2019. — Vol. 14. — №1. — P. 21–37.
18. Shahid M., Riz M., Talpur M.M.A., Pirzada T. Phytopharmacology of *Tribulus terrestris* // *Journal of biological regulators homeostatic agents*. — V. 30, №3. — P. 785–788.
19. Chhatre S., Nesari T., Somani G., Kanchan D., Sathaye S. Phytopharmacological overview of *Tribulus terrestris* // *Pharmacognosy Reviews*. — 2014. — V. 8, №15. — P. 45–51. DOI: 10.4103/0973-7847.125530.
20. Mahmoud Bahmani, Babak Baharvand-Ahmadi, Pegah Tajeddini, Mahmoud Rafieian-Kopaei, Nasrollah Naghdi. Identification of medicinal plants for the treatment of kidney and urinary stones // *Journal of Renal Injury Prevention*. — 2016. — V. 5, №. 3. — P. 129–133. DOI:10.15171/jrip.2016.27.
21. Anant Gopal Singh, Akhilesh Kumar, Divya Darshan Tewari. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Terai forest of western Nepal // *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. — 2012. — V. 8. — P. 19. DOI: 10.1186/1746-4269-8-19.
22. Kevalia J., Patel B. Identification of fruits of *Tribulus terrestris* Linn. and *Pedaliumpurex* Linn.: A pharmacognostical approach // *Ayu*. — 2011. — V. 32, №4. — С. 550–553. DOI:10.4103/0974-8520.96132.

23. Roaiah M.F., El Khayat Y.I., El Din S.F., Abd El Salam M.A. Pilot Study on the Effect of Botanical Medicine (Tribulus terrestris) on Serum Testosterone Level and Erectile Function in Aging Males With Partial Androgen Deficiency (PADAM) // Journal of Sex & Marital Therapy. – 2015. – P. 1–5. DOI: 10.1080/0092623X.2015.1033579
24. Khaleghi S., Bakhtiari M., Asadmobini A., Esmaeili F. Tribulus terrestris Extract Improves Human Sperm Parameters In Vitro // Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine. – 2016. – P. 2–5. DOI:10.1177/2156587216668110
25. Salgado R.M., Marques-Silva M.H., Gonçalves E., Mathias A.C., Aguiar J.G. Effect of oral administration of Tribulus terrestris extract on semen quality and body fat index of infertile men // Andrologia. – 2016. DOI:10.1111/and.12655
26. Akhtari E., Raisi F., Keshavarz M., Hosseini H., Sohrabvand F. Tribulus terrestris for treatment of sexual dysfunction in women: randomized double-blind placebo – controlled study // Daru: Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences. – 2014. – V. 22. – P. 40. DOI:10.1186/2008-2231-22-40
27. Nasrin Babadai Samani, Azam Jokar, Mahmood Soveid, Mojtaba Heydari, Seyed Hamdollah Mosavat. Efficacy of Tribulus Terrestris Extract on the Serum Glucose and Lipids of Women with Diabetes Mellitus // Iranian Journal of Medical Sciences. – 2016. – V. 41, № 3. – P. 5.
28. Pinar Ercan, Sedef Nehir El. Inhibitory effects of chickpea and Tribulus terrestris on lipase, α -amylase and α -glucosidase // Food Chemistry. – 2016. – V. 205. – C. 163–169. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.03.012
29. Ghareeb D.A., Amani M. D. ElAhwany, Sherif M. El-Mallawany, Ashraf A. Saif. In vitro screening for anti-acetylcholinesterase, antioxidant, anti-glucosidase, anti-inflammatory and anti-bacterial effect of three traditional medicinal plants // Biotechnology, Biotechnological Equipment. – 2014. – V. 28, №6. – P. 1155–1164. DOI: 10.1080/13102818.2014.969877
30. Jun-Dong Zhang, Yong-Bing Cao, Zheng Xu, Hui-Hua Sun, Mao-Mao An. In vitro and in vivo antifungal activities of the eight steroid saponins from Tribulus terrestris L. with potent activity against fluconazole-resistant fungal pathogens // Biological & Pharmaceutical Bulletin. – 2005. – V. 28, №12. – P. 2211–2215.
31. Soleimanpour S., Sedighinia F.S., Afshar A.S., Zarif R., Ghazvini K. Antibacterial activity of Tribulus terrestris and its synergistic effect with Capsella bursa-pastoris and Glycyrrhiza glabra against oral pathogens: an in-vitro study // Avicenna Journal of Phytomedicine. – 2017. – V. 5, №3. – S. 210–217.
32. Sun W., Li H., Yang Sh.-J. A triterpene saponin from Tribulus terrestris attenuates apoptosis in cardiocyte via activating PKC signalling transduction pathway // Journal of Asian Natural Products Research. – 2017. – V. 10, №1–2. – S. 39–48. DOI:10.1080/10286020701275846
33. Liu X.-M., Huang Q.-F., Zhang Y.-L., Lou J.-L., Liu H.-Sh. Effects of Tribulus terrestris L. saponin on apoptosis of cortical neurons induced by hypoxia-reoxygenation in rats // Journal of Chinese Integrative Medicine. – 2008. – V. 6, №1. – P. 45–50.
34. Горпинченко И.И., Гурженко Ю.Н. Применение препарата Трибестан в андрологической практике // Здоровье мужчины. – 2010. – № 1. – С. 28–32.
35. Искендеров Г.Б., Гусейнгулиева К.Ф. Изучение стероидных гликозидов якорцев стелющихся, произрастающих в Азербайджане // Химия растительного сырья. – 2016. – №2. – С. 47–52. https://doi.org/10.14258/jcrpm.2016021053
36. Молохова Е.И., Карпенко Ю.Н., Аффуд А. Выбор условий масс-спектрометрического детектирования диосцина в экстракционных препаратах из *Tribulus terrestris* L. // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки. Материалы научно-практической конференции с международным участием. – 2018. – №22. – С. 158–161.
37. ОФС.1.5.3.0009.15. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах
38. Гуляев Д.К., Белоногова В.Д. Элементный состав подземных органов и экстрактов ели обыкновенной // Фармация. – 2018. – №6. – С. 20–23. https://doi.org/10.29296/25419218-2018-06-04.
39. Гуляев Д.К., Белоногова В.Д., Талипов А.М. Элементный состав корней малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.) // Вестник башкирского государственного медицинского университета. – 2018. – №4. – С. 126–130.
40. Bray J.R., Curtis J.T. 1957. An ordination of upland forest communities of southern Wisconsin. Ecological Monographs. – 1957. – №27. – P. 325–349.
41. Ricotta C., Podani J. On some properties of the Bray-Curtis dissimilarity and their ecological meaning. Ecological Complexity. – 2017. – №31. – P. 201–205.
42. Копылова Л.В. Аккумуляция железа и марганца в листьях древесных растений в техногенных районах Забайкальского края // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – т. 12, №1(3). – С. 709–712.
43. Мумбер А.Г., Чашина О.Е., Куянцева Н.Б., Потапкин А.Б. Влияние кислотных выбросов Карабашского медеплавильного комбината на жизненное состояние подростка сосны в Ильменском государственном заповеднике (Южный Урал) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – Т. 16. – №1. – С. 1230–1236.
44. Ильинских Е.Н., Огородова Л.М., Безруких П.А. Эпидемиологическая генотоксикология тяжелых металлов и здоровье человека. – Томск: СГМУ, 2003. – 300 с.
45. Ставрианиди А.Н., Стекольников Е.А., Турова П.Н., Родин И.А., Шлигун О.А. Применение метода количественного анализа многокомпонентной системы для хромато-масс-спектрометрического определения диосгенина, диосцина и протодиосцина в экстрактах из травы *Tribulus terrestris* // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2017, Vol. 58, Is.3. – P. 144–153.
46. Semerdjieva I.B., Zheljazkov V.D. Chemical Constituents, Biological Properties, and Uses of Tribulus terrestris: A Review // Natural Product Communications. 2019. Vol.14, Is. 8. 1934578X19868394.
47. Szakiel A., Pączkowski C., Henry M. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants // Phytochemistry. 2011. Vol. 10, Is. 4. P. 471–491.
48. Lazarova I., Ivanova A., Mechkarova P., Peev D., Valyovska N. Intraspecific Variability of Biologically Active Compounds of Different Populations of Tribulus Terrestris L. (Zygophyllaceae) in South Bulgaria // Biotechnology and Biotechnological Equipment. 2011. Vol. 25, Is.2. P. 2352–2356.
49. Selvaraju R., Thirupathi G., Raman R.G., Dhakshanamoorthy D. Estimation of essential and trace elements in the medicinal plant Tribulus terrestris by icp-oes and flame photometric techniques // Romanian journal of biology plant biology. 2011. Vol. 56, Is. 1. P. 65–75.
50. Ghani A., Ikram M., Hussain M., Imran M., Majid A. Evaluation of trace elements in selected medicinal plants (*Albizia lebeck*, *Acacia modesta* and *Tribulus terrestris*) of soone valley, Khushab, Pakistan // CIBTech Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2016. – Vol. 5, Is. 2. – P. 4–7.
51. Daur I., Shah Z. H., Ihsan M. Z., Ali S., Waqas M., Rehman H. M., Al-Feel A.A., Elsafori A.K., Sohrab, S. S. Occurrence, comparative growth and composition of Tribulus terrestris L. under variable in-situ water stress // Pak. J. Bot. 2017. Vol. 49, S. P. 1641–1646.

АВТОРЫ

Аффуд Абдулкарим – аспирант кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: aboud.bashar89@gmail.com

Карпенко Юлия Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры токсикологической химии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: Karpenko@pfa.ru

Гуляев Дмитрий Константинович – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: orcid.org/0000-0001-9464-1869. E-mail: dkg2014@mail.ru.

Молохова Елена Игоревна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры промышленной технологии с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая

академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: molohova@pfa.ru.

Блинова Ольга Леонидовна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: oblinoval@mail.ru

Гилева Ангелина Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: angelinaustanova@mail.ru

Белоногова Валентина Дмитриевна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: belonogova@pfa.ru.

УДК 616.36-002-085.32:615.851.859



ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ОСТРЫМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В ВОЛГОГРАДСКОМ РЕГИОНЕ И АССОРТИМЕНТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ СТАЦИОНАРНОГО ЛЕЧЕНИЯ, 2016–2018 ГГ.

Л.М. Ганичева¹, Е.А. Иоанниди¹, О.А. Панфилова¹, И.Н. Тюренок¹, Ю.С. Князева¹, Н.Ш. Кайшева²¹ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России
400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1² Пятигорский медико-фармацевтический институт –
филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России
357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина 11

E-mail: olesya.panfilova.95@mail.ru

Получено 18.07.2019

Рецензия (1) 15.10.2019

Рецензия (2) 20.10.2019

Принята к печати 28.12.2019

Цель. Исследование распространенности острых вирусных гепатитов А, В и С в Волгоградском регионе, изучение ассортимента, выявление наиболее часто назначаемых фармакологических групп для стационарного лечения и анализ динамики цен на лекарственные препараты, что позволит оценить состояние лекарственного обеспечения пациентов с данным заболеванием в условиях стационара.

Материалы и методы. Использовались методы сравнения, группировки показателей и структурно-логический. Материалами послужили листы назначений пациентов гепатологического отделения Волгоградской областной клинической инфекционной больницы №1.

Результаты. Наибольшее распространение имеет острый гепатит А – 46,9%, острый гепатит В – 27,4%, острый гепатит С – 25,7%, из которых соответственно 46,2%, 23,5% и 14,7% приходится на желтушную форму средней степени тяжести. При всех формах и степенях тяжести заболевания назначают гепатопротекторы, симптоматические препараты и препараты для регидратации, дезинтоксикации.

Заключение. За исследуемый период в Волгоградском регионе выявлено снижение заболеваемости острыми вирусными гепатитами А и В, но, в свою очередь, и рост заболеваемости острым вирусным гепатитом С. Преобладающей среди всех видов гепатита является желтушная форма средней степени тяжести. Изучен ассортимент лекарственных препаратов, применяемых при лечении острых вирусных гепатитов в Волгоградской областной клинической инфекционной больницы № 1. Наиболее часто врачи назначают гепатопротекторы, препараты для регидратации, дезинтоксикации. Изучение динамики цен показало преимущественное повышение на гепатопротекторы и понижение на препараты для регидратации и дезинтоксикации. Полученные результаты свидетельствуют о тенденции к улучшению лекарственного обеспечения в Волгоградском регионе пациентов с острыми вирусными гепатитами и позволяют рассмотреть пути его дальнейшей оптимизации.

Ключевые слова: острый вирусный гепатит, форма и степень тяжести заболевания, ассортимент лекарственных препаратов
Список сокращений: АТХ – анатомо-терапевтическо-химическая классификация; ВГА – вирусный гепатит А; ВГВ – вирусный гепатит В; ВГС – вирусный гепатит С; ГРЛС – государственный реестр лекарственных препаратов; ЖНВЛП – перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов; ОВГ – острый вирусный гепатит.

DYNAMICS OF THE ACUTE VIRAL HEPATITISES MORBIDITY AND RANGE OF MEDICINAL PREPARATIONS FOR TREATMENT IN HOSPITAL ENVIRONMENT IN THE VOLGOGRAD REGION (THE RUSSIAN FEDERATION), 2016–2018

Л.М. Ganicheva¹, Е.А. Ioannidi¹, О.А. Panfilova¹, I.N. Tyurenkov¹, Yu.S. Knyazeva¹, N.Sh. Kaysheva²¹ Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Boytsov Sq., Volgograd, Russia, 400131² Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, branch of Volgograd State Medical University
11, Kalinin ave, Pyatigorsk, Russia 357532

E-mail: olesya.panfilova.95@mail.ru

Received 18 July 2019

Review (1) 15 October 2019

Review (2) 20 October 2019

Accepted: 28 December 2019

Для цитирования: Л.М. Ганичева, Е.А. Иоанниди, О.А. Панфилова, И.Н. Тюренок, Ю.С. Князева, Н.Ш. Кайшева. Динамика заболеваемости острыми вирусными гепатитами в Волгоградском регионе и ассортимент лекарственных препаратов для стационарного лечения, 2016–2018 гг. *Фармация и фармакология*. 2019;7(6):356–362. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-356-362

© Л.М. Ганичева, Е.А. Иоанниди, О.А. Панфилова, И.Н. Тюренок, Ю.С. Князева, Н.Ш. Кайшева, 2019

For citation: L.M. Ganicheva, E.A. Ioannidi, O.A. Panfilova, I.N. Tyurenkov, Yu.S. Knyazeva, N.Sh. Kaysheva. Dynamics of the acute viral hepatitis morbidity and range of medicinal preparations for treatment in hospital environment in the Volgograd region (the Russian Federation), 2016–2018. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(6):356–362. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-356-362

The aim of the study was to investigate the prevalence of acute viral hepatitis A, B and C in the Volgograd region; the range and identification of the most frequently prescribed pharmacological groups to be used in hospital environment; and analyzing the price dynamics of medicines. These factors will make it possible to assess the state of the medicine provision for the patients with this disease in hospital environment.

Materials and methods. In the study, the following methods have been used: comparison, a method of grouping indicators and a structural-logical method. The materials were the hepatological department patients' treatment sheets (Volgograd Regional Clinical Infectious Diseases Hospital N1).

Results. Acute hepatitis A is the most common (46.9%), acute hepatitis B occupies the second position (27.4%), and acute hepatitis C – the third one (25.7%), where in 46.2%, 23.5% and 14.7%, respectively, are accounted for by icteric viral hepatitis. Hepatoprotectors, symptomatic medications and rehydration and detoxification medicinal preparations are prescribed for all forms and degrees of the disease severity.

Conclusion. The study has revealed a decreased morbidity of acute viral hepatitis A, B and an increased morbidity of acute viral hepatitis C in the Volgograd region. Among all the types of hepatitises, the prevailing one is the icteric form of moderate severity. The range of medicinal preparations prescribed for the treatment of acute viral hepatitises has been studied. Most often, doctors prescribe hepatoprotectors, rehydration and detoxification medicinal preparations. The study of price dynamics, showed a predominant increase in hepatoprotectors and a decrease in medicines for rehydration and detoxification. The results obtained indicate a tendency towards the improvement of drug provision in the Volgograd Region, for the patients with acute viral hepatitises. Besides, the results of the study give an opportunity to consider the ways of its further optimization.

Keywords: acute viral hepatitis, the form and severity of the disease, range of medicinal preparations

Abbreviations: ATC – Anatomical Therapeutic Chemical Classification System; HAV – viral hepatitis A; HBV – hepatitis B virus; HCV – viral hepatitis C; SRMP – state register of medicinal preparations; VEDL – Vital and Essential Drugs List; AVH – acute viral hepatitis.

ВВЕДЕНИЕ

Вирусные гепатиты являются широко распространенными инфекционными заболеваниями, поражающими печень человека. По данным ВОЗ вирусными гепатитами инфицированы сотни миллионов человек в разных странах, что превышает распространенность ВИЧ-инфекции. Гепатиты представляют медико-социальную проблему, как для Российской Федерации, так и для всего мира. Снижение заболеваемости острыми формами гепатита связано с усилением профилактических мер и введением вакцинации в соответствии с календарем национальных прививок¹. Вакцинация против вирусного гепатита А (ВГА) и В (ВГВ) проводится в России на протяжении последних 20 лет, но вакцина против вирусного гепатита С (ВГС) не разработана в связи с выраженной изменчивостью генома вируса [1, 2]. Главной причиной носительства вируса гепатита является эпидемиологическое неблагополучие стран за предыдущие 20–25 лет. В мире около 650 тыс. смертельных случаев в год связаны с заболеванием гепатитом В. Вирусом гепатита С инфицированы 2–3% населения России. Основными путями передачи ВГВ и ВГС являются парентеральный, контактный (через микротравмы кожных покровов, беспорядочные сексуальные связи) и вертикальный пути (от матери к ребенку). Механизмом передачи ВГА является фекально-оральный путь [3–9]. В Волгоградском регионе главным путем заражения ВГВ является парентеральный путь (введение наркотических веществ нестерильными иглами при наркомании).

ВГА чаще встречается в странах третьего мира, но единичные случаи или вспышки заболевания наблюдаются и в развитых странах. По распространенности на территории России ВГА занимает первое место (на его долю приходится более 50% случаев). В свою очередь, смертность от ВГА невелика и составляет доли процента по всему миру. В мире ежегодно регистрируется около 1,5 млн случаев ВГА, а в РФ на 2010 год – 6,3 случая на 100 тыс. населения. Широкое распространение связано с активным выделением вируса гепатита А из организма больного и высокой

его устойчивостью в окружающей среде. Как правило хронический гепатита А не развивается, если дело касается моноинфекции [10, 11]. Статистические данные Волгоградского региона по ОГА отсутствуют в общедоступных источниках информации.

В Российской Федерации в 2012 году острый гепатит В (ОГВ) составил 1,43 случая на 100 тыс. населения. Благодаря вакцинации заболеваемость в 2000 – 2012 гг. снизилась в 30 раз. ВГВ у 90-95% взрослых заканчивается выздоровлением и только 10% переходит в хроническую форму. Летальность при ОГВ составляет менее 1%. В Волгоградском регионе уровень заболеваемости ОГВ в 2015 году был ниже показателя заболеваемости по РФ в 1,7 раза, в 2015 году он составил 0,78 случаев на 100 тыс. населения, в 2016 году – 0,54. [12, 13].

Острый гепатит С (ОГС) в РФ на 2012 год составил 1,8 случаев на 100 тыс. населения. У 50–80% инфицированных людей развивается хроническая форма. В Волгоградском регионе уровень заболеваемости ОГС в 2015 году составил 0,66 на 100 тыс. населения, что в 2,1 раза ниже среднего показателя по РФ, в 2016 году составил 0,16 [14].

ЦЕЛЬ – изучение распространенности ОГА, ОГВ, ОГС в Волгоградской области в период 2016–2018 гг.; рассмотреть встречающиеся формы и степени тяжести заболевания; проанализировать ассортимент лекарственных препаратов, используемых в условиях стационаров для лечения острых гепатитов; на основании государственного реестра лекарственных препаратов (ГРЛС) исследовать динамику цен на лекарственные препараты наиболее широко используемой фармакологической группы.

Своевременное выявление и лечение заболевания играют важную роль в предотвращении осложнений здоровья граждан и экономии бюджетных средств, как государства, так и населения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследования использовались методы сравнения, структурно-логический и метод группировки показателей. Материалами для выполнения исследования явились данные историй болезни, листов назначений 175 пациентов гепатологического отделения Волгоградской областной клинической инфекционной больницы №1 и данные государственного реестра лекарственных препаратов РФ. Дизайн

¹ Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показателям [Электронный ресурс]: приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2014 г. (с изм. и доп., внесенными приказом Минздрава РФ от 16 июня 2016 г., от 13 апреля 2017 г., от 24 апреля 2019 г.). Доступ из справ.-правовой системы «Консультант Плюс»

исследования представлен 4-мя взаимосвязанными этапами: 1 – анализ динамики заболеваемости, 2 – анализ данных по продолжительности лечения в условиях стационара, 3 – выявление наиболее значимых ассортиментных групп и лекарственных препаратов для лечения, 4 – анализ динамики цен на лекарственные препараты, назначаемые для лечения ОВГ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вирусные гепатиты классифицируются в зависимости от формы течения и степени тяжести [15, 16]. В инфекционной больнице на протяжении 2016-2018 годов были зарегистрированы:

- желтушная форма (средняя и тяжелая степени тяжести);
- безжелтушная форма (легкая и средняя степени тяжести).

На 1-ом этапе исследования был проведен анализ динамики заболеваемости острыми вирусными гепатитами А, В, С (по форме и степени тяжести) в Волгоградском регионе с помощью методов сравнения и группировки (табл. 1). Из данных табл.1 следует, что наибольшее распространение имел ОГА (82 случая, 46,9%); на втором месте – ОГВ (48 случаев, 27,4%); на третьем месте – ОГС (45 случаев, 25,7%).

Динамика распространенности ОГА за 2016-2018гг: наблюдается значительное снижение уровня заболеваемости с 59,8% до 12,2% – в 5 раз (уменьшается встречаемость желтушной формы средней тяжести с 58,8% до 12,3% – в 4,5 раза). Хотя следует отметить, что был выявлен единичный случай желтушной формы тяжелой степени тяжести в 2016 году.

Динамика распространенности ОГВ за 2016–2018 гг.: отмечена тенденция к снижению уровня заболеваемости с 39,5% до 29,2% – в 1,5 раза (уменьшение желтушной формы средней тяжести с 31,3% до 25% и безжелтушной формы средней тяжести с 2,1% до 4,2%). Был выявлен 1 случай острой печеночной энцефалопатии.

Динамика распространенности ОГС за 2016–2018 гг.: обнаружена тенденция роста заболевания с 20% до 42,2% – в 2 раза (рост желтушной формы средней тяжести с 11,1% до 20%, безжелтушной формы легкой тяжести с 2,2% до 11,1% и безжелтушной формы средней тяжести с 4,4% до 11,1%). Желтушная форма тяжелой степени была диагностирована в 2016 и 2017 годах по одному случаю в год.

Снижение заболеваемости ОГА и ОГВ связано с активным использованием вакцины против гепатита [17]. Вакцинация новорожденных проводится с первых дней жизни в соответствии с национальным календарем профилактических прививок. Для взрослого населения так же предусмотрено проведение прививок¹.

На 2-м этапе исследования были рассмотрены и обобщены данные о продолжительности лечения в стационаре. Терапия острого вирусного гепатита занимает различное время в зависимости от вида гепатита, формы и степени тяжести заболевания и согласуется с клиническими рекомендациями, стандартами специализированной медицинской помощи пациентам при острых вирусных гепатитах [18]. Желтушная форма гепатитов протекает тяжелее безжелтушной формы и требует более длительной терапии. С помощью структурно-логического метода можно сделать вывод, что среди желтушных форм гепатитов труднее поддается лечению ОГВ тяжелой степени тяжести (длительность лечения составляет 25 суток $\pm$ 5). Длительность лечения желтушной

формы ОГС тяжелой степени составляет 19 суток $\pm$ 0 и занимает вторую позицию. На третьем месте находятся ОГА и ОГВ желтушной формы средней степени тяжести, продолжительность терапии которых составляет 17 суток $\pm$ 7. От 8 до 16 суток требуется для лечения безжелтушной формы легкой степени тяжести ОГС и средней степени тяжести ОГС и ОГВ, а также желтушной формы ОГС средней степени тяжести и желтушной формы ОГА тяжелой степени тяжести (табл. 2). Случаи безжелтушной формы средней тяжести ОГА и легкой степени ОГА, ОГВ в больнице зарегистрированы не были.

На следующем этапе исследования выяснены ассортиментные группы лекарственных препаратов и частота назначений лекарственных препаратов (ЛП). При лечении острых вирусных гепатитов используются патогенетическая (гепатопротекторы, ферменты, витамины, гормональные лекарственные средства, препараты для регидратации и дезинтоксикации для парентерального применения), этиотропная (интерфероны и их индукторы) и симптоматическая терапия, что также соответствует клиническим рекомендациям и стандартам специализированной медицинской помощи [19–23]. Использование групп ЛП при соответствующих видах, формах и степенях тяжести острых гепатитов представлено в табл. 3, 4, 5.

Как следует из табл. 3, этиотропная терапия не применялась при желтушной форме средней степени тяжести ОГА, и только интерфероны в качестве этиотропной терапии добавляют к основному лечению желтушной формы тяжелой степени тяжести ОГА. Следует отметить, что витамины вовсе не использовались в данной больнице при лечении ОГА.

Как следует из табл. 4 витамины не назначались при лечении острого вирусного гепатита В. Интерферонотерапия не применялась при желтушной форме тяжелой степени и безжелтушной форме средней степени тяжести ОГВ. Энзимные и гормональные препараты не назначались при лечении безжелтушной формы средней степени тяжести ОГВ.

Как следует из табл. 5, этиотропная терапия не применялась при желтушной форме тяжелой степени и безжелтушной форме легкой степени тяжести ОГС. При лечении безжелтушной формы средней степени тяжести использовались только интерфероны при этиотропной терапии. При безжелтушной форме легкой степени тяжести не употреблялись энзимные ЛП, гормональные ЛП и препараты для регидратации и дезинтоксикации. Гормональные ЛП не были зафиксированы при лечении безжелтушной формы средней степени тяжести ОГС.

Таким образом, представленные в табл. 3, 4, 5 данные иллюстрируют специфику терапии острого вирусного гепатита в зависимости от вида, формы и степени тяжести [24–27].

В табл. 6 представлен ассортимент лекарственных препаратов, используемых при лечении острых вирусных гепатитов в Волгоградской областной клинической инфекционной больнице № 1. Подробно рассмотрены ЛП, относящиеся к патогенетической и этиотропной терапии, т.к. именно они напрямую влияют на исход заболевания. Группы лекарственных средств обозначены в соответствии с анатомо-терапевтическо-химической классификацией (АТХ) [28]. Все представленные ЛП относятся к списку жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП) по данным 2016–2018 гг.

Таблица 1 – Динамика заболеваемости острыми вирусными гепатитами А, В, С в период 2016–2018 гг.

Вид гепатита	Год	Всего	Желтушная форма		Безжелтушная форма	
			Средняя степень тяжести	Тяжелая степень тяжести	Средняя степень тяжести	Легкая степень тяжести
Острый гепатит А	2016	49 (59,8)	48 (27,4%)	1 (0,7%)	–	–
	2017	23 (28%)	23 (13,1%)	–	–	–
	2018	10 (12,2%)	10 (5,7%)	–	–	–
		82(46,9%)				
Острый гепатит В	2016	19 (39,5%)	15 (8,6%)	3 (1,7%)	1 (0,5%)	–
	2017	15 (31,3%)	14 (8%)	–	1 (0,5%)	–
	2018	14 (29,2)	12 (6,9%)	–	2 (1,2%)	–
		48(27,4%)				
Острый гепатит С	2016	9 (20%)	5 (2,8%)	1 (0,6%)	2 (1,1%)	1 (0,6%)
	2017	17 (37,8%)	12 (6,8%)	1 (0,6%)	3 (1,7%)	1 (0,6%)
	2018	19 (42,2%)	9 (5,1%)	5 (2,8%)	5 (2,8%)	–
		45(25,7%)				

Таблица 2 – Длительность терапии острых вирусных гепатитов в стационаре клинической инфекционной больницы №1 (среднестатистические данные)

Вид гепатита/ форма и степень тяжести	Желтушная форма		Безжелтушная форма	
	Средняя степень тяжести	Тяжелая степень тяжести	Средняя степень тяжести	Легкая степень тяжести
Острый гепатит А	17 суток±7	14 суток±0	–	–
Острый гепатит В	17 суток±7	25 суток±5	16 суток±6	–
Острый гепатит С	15 суток±5	19 суток±0	9 суток±4	8 суток±4

Таблица 3 – Использование групп лекарственных препаратов в терапии острого вирусного гепатита А

Группа лекарственных препаратов / форма и степень тяжести	Желтушная форма	
	Средняя степень тяжести	Тяжелая степень тяжести
Симптоматические лекарственные препараты	+	+
Витаминные лекарственные препараты	–	–
Гепатопротекторные лекарственные препараты	+	+
Энзимные лекарственные препараты	+	+
Гормональные лекарственные препараты	+	+
Препараты для регидратации и дезинтоксикации для парентерального применения	+	+
Интерфероны	–	–
Индукторы интерферона	–	+

Таблица 4 – Использование групп лекарственных препаратов в терапии острого вирусного гепатита В

Группа лекарственных препаратов / форма и степень тяжести	Желтушная форма		Безжелтушная форма
	Средняя степень тяжести	Тяжелая степень тяжести	Средняя степень тяжести
Симптоматические лекарственные препараты	+	+	+
Витаминные лекарственные препараты	–	–	–
Гепатопротекторные лекарственные препараты	+	+	+
Энзимные лекарственные препараты	+	+	–
Гормональные лекарственные препараты	+	+	–
Препараты для регидратации и дезинтоксикации для парентерального применения	+	+	+
Интерфероны	+	–	–
Индукторы интерферона	+	+	+

Таблица 5 – Использование групп лекарственных препаратов в терапии острого вирусного гепатита С

Группа лекарственных препаратов / Форма и степень тяжести	Желтушная форма		Безжелтушная форма	
	Средняя степень тяжести	Тяжелая степень тяжести	Средняя степень тяжести	Легкая степень тяжести
Симптоматические лекарственные препараты	+	+	+	+
Витаминные лекарственные препараты	–	–	–	–
Гепатопротекторные лекарственные препараты	+	+	+	+
Энзимные лекарственные препараты	+	–	+	–
Гормональные лекарственные препараты	+	+	–	–
Препараты для регидратации и дезинтоксикации для парентерального применения	+	+	+	–
Интерфероны	+	–	+	–
Индуктор интерферонов	+	–	–	–

Таблица 6 – Ассортимент лекарственных препаратов и частота их назначений
в течение исследуемого периода (2016–2018 гг.)

Группа лекарственных препаратов	Торговое наименование, назначенная дозировка, лекарственная форма, способ введения	Число назначений*		
		2016 год	2017 год	2018 год
Гепатопротекторные лекарственные препараты	Гептор® 400 мг (таблетки, перорально)	1 (1,2%)	–	–
	Гептрал® 400 мг (лиофилизат, в/в)	2 (3,1%)	7 (8,5%)	4 (3,9%)
	Фосфоглив® 65 + 35 мг (капсулы, перорально)	42 (60%)	55 (66,3%)	75 (70%)
	Фосфоглив® 2,5 г (лиофилизат, в/в)	15 (21,4%)	3 (3,6%)	7 (6,7%)
	Урсодез® 250 мг (капсулы, перорально)	3 (4,3%)	15 (18%)	20 (19,4%)
	Урсодез® 500 мг (капсулы, перорально)	7 (10%)	3 (3,6%)	–
Всего		70 (100%)	83 (100%)	106 (100%)
Энзимные лекарственные препараты	Панкреатин 25 ЕД (таблетки, перорально)	–	–	9 (16%)
	Панкреатин 0,5 (таблетки, перорально)	–	–	1 (2%)
	Панкреатин 30 ЕД (таблетки, перорально)	1 (100%)	1 (100%)	46 (82%)
Всего		1 (100%)	1 (100%)	56 (100%)
Гормональные лекарственные препараты	Дексаметазон 8 мг (инъекционный р-р, в/в)	1 (14,3%)	1 (4,4%)	1 (4,5%)
	Преднизолон 5 мг (таблетки, перорально)	–	1 (4,1%)	1 (4,6%)
	Преднизолон 10 мг (таблетки, перорально)	–	1 (4,1%)	–
	Преднизолон 15 мг (таблетки, перорально)	–	1 (4,1%)	–
	Преднизолон 30 мг (инъекционный р-р, в/в)	–	2 (8,3%)	1 (4,6%)
	Преднизолон 60 мг (инъекционный р-р, в/в)	2 (26,3%)	6 (25%)	3 (13,6%)
	Преднизолон 90 мг (инъекционный р-р, в/в)	4 (57,4%)	9 (37,5%)	11 (50%)
	Преднизолон 120 мг (инъекционный р-р, в/в)	–	3 (12,5%)	5 (22,7%)
Всего		7 (100%)	24 (100%)	22 (100%)
Препараты для регидратации и дезинтоксикации для парентерального применения	Ацесоль 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	6 (7,7%)	23 (16,5%)	46 (27,5%)
	Ацесоль 450 мл (инфузионный р-р, в/в)	–	2 (1,4%)	–
	Ацесоль 800 мл (инфузионный р-р, в/в)	1 (1,3%)	1 (0,7%)	2 (1,2%)
	Глюкоза 5% – 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	32 (41%)	44 (31,7%)	60 (36%)
	Глюкоза 10% – 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	6 (7,7%)	19 (13,7%)	8 (4,8%)
	Раствор Рингера 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	9 (11,5%)	11 (8%)	4 (2,4%)
	Раствор Рингера 500 мл (инфузионный р-р, в/в)	5 (6,4%)	7 (5%)	3 (1,8%)
	Реамберин® 200 мл (инфузионный р-р, в/в)	–	11 (8%)	–
	Реамберин® 250 мл (инфузионный р-р, в/в)	1 (1,3%)	–	–
	Реамберин® 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	2 (2,6%)	–	–
	Ремаксол® 200 мл (инфузионный р-р, в/в)	–	–	1 (0,6%)
	Ремаксол® 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	–	–	4 (2,4%)
	Ремаксол® 500 мл (инфузионный р-р, в/в)	–	–	3 (1,8%)
	Хлорид калия 4% – 10 мл (инъекционный р-р, в/в)	7 (9,0%)	7 (5%)	3 (1,8%)
	Хлорид натрия 0,9% – 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	9 (11,5%)	14 (10%)	33 (19,7%)
	Всего	78 (100%)	139 (100%)	167 (100%)
Интерфероны	Альтевир® 3 млн ЕД (инъекционный р-р, в/м)	1 (12,5%)	1 (16,6%)	16 (100%)
	Альфарона® 1,5 млн ЕД (лиофилизат, в/м)	–	1 (16,7%)	–
	Альфарона® 3 млн ЕД (лиофилизат, в/м)	6 (75%)	4 (66,7%)	–
	Лайфферон® 3 млн ЕД (инъекционный р-р, лиофилизат, в/м)	1 (12,5%)	–	–
Всего		8 (100%)	6 (100%)	16 (100%)
Индукторы интерферона	Циклоферон® 12,5% – 2 мл (инъекционный р-р, в/м)	8 (100%)	2 (100%)	22 (100%)
Всего		8 (100%)	2 (100%)	22 (100%)

Примечание: * – 1 назначение = 1 человек

Таблица 7 – Динамика цен на лекарственные препараты для регидратации и дезинтоксикации, используемые в лечении острых вирусных гепатитов за период 2016–2018 гг. (по данным ГРЛС)

Группа лекарственных препаратов	Торговое наименование, дозировка, лекарственная форма, способ введения, упаковка	Предельная цена, руб. без НДС (за 1 единицу)			Изменение цены, % 2018 год к 2016 году
		2016 год	2017 год	2018 год	
Препараты для регидратации и дезинтоксикации для парентерального применения	Ацесоль 400 мл (инфузионный р-р, в/в), фл.	27,95	27,95	27,95	0
	Глюкоза 5% – 400 мл (инфузионный р-р, в/в), фл	44,06	28,72	29,88	– 32,2
	Глюкоза 10% – 400 мл (инфузионный р-р, в/в) фл	39,27	28,08	30,96	– 22,0
	Раствор Рингера 400 мл (инфузионный р-р, в/в) фл	45,93	35,78	24,89	– 46,0
	Раствор Рингера 500 мл (инфузионный р-р, в/в)	35,93	28,74	26,62	– 26,0
	Реамберин® 200 мл (инфузионный р-р, в/в)	128,31	132,99	138,00	+ 7,5
	Реамберин® 250 мл (инфузионный р-р, в/в)	113,83	113,83	113,83	0
	Реамберин® 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	157,05	162,65	168,85	+ 7,5
	Ремаксол® 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	–	–	315,00	–
	Хлорид калия 4% – 10 мл (инъекционный р-р, в/в) ампл.	2,53	4,43	4,60	+ 81,8
	Хлорид натрия 0,9% – 400 мл (инфузионный р-р, в/в)	33,64	23,94	33,26	– 1,2

Таблица 8 – Динамика цен на лекарственные препараты группы гепатопротекторов, используемых в лечении острых вирусных гепатитов (по данным ГРЛС на 2016–2018 гг)

Группа лекарственных препаратов	Торговое наименование, дозировка, лекарственная форма, способ введения	Предельная цена, руб. без НДС (за 1 единицу)			Изменение цены, %
		2016 год	2017 год	2018 год	
Гепатопротекторные лекарственные препараты	Гептор® 400 мг (таблетки, перорально)	44,80	44,80	44,80	0
	Гептрал® 400 мг (лиофилизат, в/в)	65,31	65,31	280,71	+ 329,8
	Фосфоглив® 65+35 мг (капсулы, перорально)	8,00	8,81	9,15	+ 14,4
	Фосфоглив® 2,5 г (лиофилизат, в/в)	264,45	264,45	270,12	+ 2,1
	Урсодез® 250 мг (капсулы, перорально)	9,03	9,03	12,05	+ 33,4
	Урсодез® 500 мг (капсулы, перорально)	24,11	24,11	24,11	0

Ассортимент ЛП несколько расширился в 2017–2018 гг. по сравнению с 2016 г. Наиболее широко среди гепатопротекторов стал применяться Фосфоглив® 35+65 мг, среди энзимных препаратов – панкреатин 30 ЕД, из гормональных препаратов – преднизолон 90 мг, в ряду препаратов для регидратации и дезинтоксикации – ацесоль 400 мл, из интерферонов – Альтевир® 3 млн ЕД и из индукторов интерферона – Циклоферон® 12,5% – 2 мл.

Следует подчеркнуть, что назначение одного и того же препарата в различных дозировках связано с видом, формой и степенью тяжести острого гепатита. Из списка ЛП таблицы № 6 в ГРЛС зарегистрированы следующие наименования и дозировки: Фосфоглив® 65+35 мг, Фосфоглив® 2,5 мг, Гептор® 400 мг, Гептрал® 400 мг, Урсодез® 250 мг и 500 мг; панкреатин 30 ЕД и 25 ЕД; дексаметазон 4 мг, преднизолон 30 мг и 5 мг; глюкоза 5%, 10% – 400 мл, р-р калия хлорида 4% – 10 мл, р-р натрия хлорида 0,9% – 400 мл, Ремаксол® 400 мл, р-р Рингера 400 мл и 500 мл, Реамберин® 20, 250, 400 мл, ацесоль 400 мл; Альфарона® 3 млн ЕД, Лайфферон® 3 млн ЕД, Альтевир® 3 млн ЕД; Циклоферон® 12,5% – 2 мл.

Наиболее назначаемыми препаратами за изучаемый период по данным табл. 6 являются препараты для регидратации и дезинтоксикации (47% от всего ассортимента), а также группа гепатопротекторов (31,7%). В 2018 г. в отличие от предыдущих лет достаточно широко назначались лекарства из группы энзимных препаратов.

На завершающем этапе проведен анализ динамики цен на наиболее часто назначаемые лекарственные препараты двух фармакотерапевтических групп: лекарственные препараты для регидратации, дезинтоксикации и гепатопротекторы. Поскольку представленные ЛП входят в список ЖНВЛП, цены на них и оптовые надбавки фиксированы и контролируются государством. В табл. 7, 8 представлена динамика цен на ЛП для регидратации, дезинтоксикации и назначаемые группы гепатопротекторов за 2016–2018 гг.

Наиболее назначаемыми препаратами за 2016–2018 гг. по данным, представленным в табл. 6, являются препараты для регидратации и дезинтоксикации (47% от всего ассортимента), а также группа гепатопротекторов (31,7%). В 2018 г. в отличие от предыдущих лет достаточно широко стала использоваться группа энзимных лекарственных препаратов. В табл. 7, 8 представлена динамика цен на ЛП для регидратации и дезинтоксикации, а также группы гепатопротекторов за 2016–2018 гг. Поскольку представленные ЛП входят в список ЖНВЛП, то из этого следует, что цены на них и оптовые надбавки

фиксированы и контролируются государством. Из данных табл. 7 следует, что за исследуемый период в группе ЛП для регидратации и дезинтоксикации из 11 наименований (принимая за 100%) на 3 препарата выросла цена (27%): Рамберин® 200 мл и 400 мл, хлорид калия 4% – 10 мл; остались в той же ценовой категории 2 препарата: ацесоль 400 мл и Реамберин® 250 мл (18%); на 5 препаратов цена снизилась: глюкоза 5% – 400 мл, глюкоза 10% – 400 мл, р-р Рингера 400 мл, р-р Рингера 500 мл, хлорид натрия 0,9% – 400 мл (45%). К новым препаратам 2018 г. относится Ремаксол® 400 мл (1%), динамику цен которого отследить не представляется возможным. Выявлено существенное снижение цены на 4 препарата (–22–46%), значительное повышение цены на 1 препарат (+ 81,8%) и незначительное повышение (+ 7,5%) на 2 препарата по сравнению с 2016 г. Следовательно, больший процент составляют ЛП, чья стоимость снизилась (– 45%). С данным фактом могут быть связаны повышение ценовой доступности лекарственной помощи, и, соответственно, рост врачебных назначений за 2016–2018 гг.

Из данных табл. 8 следует, что из 6 препаратов группы гепатопротекторов цена не изменилась на 2 препарата (Гептор® 400 мг и Урсодез® 500 мг), остальные препараты выросли в цене от 2,1% до 329,8%. Однако, данный факт не повлиял на частоту назначений данной группы препаратов, что может быть связано с ростом ассигнований на закупку данных наименований для стационарного лечения. Следует обратить внимание на то, что, исходя из табл. 6 и 8, цены на Гептор® 400 мг и Урсодез® 500 мг за 2016–2018 гг. оставались одинаковыми, но их назначение не было зарегистрировано в 2017 и 2018 гг., что может быть связано с отсутствием закупок данных препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В течение 2016 – 2018 гг. наблюдается устойчивая тенденция к снижению заболеваемости ОГА и ОГВ, но в свою очередь, отмечается рост заболеваемости ОГС (не зря его прозвали «ласковый убийца» из-за скрытого течения заболевания). Выявлены основные группы лекарственных препаратов, используемых в стационарных условиях при лечении ОГА, ОГВ, ОГС в зависимости от формы и степени тяжести заболевания. Исследование ассортимента лекарственных препаратов, частота врачебных назначений и дозировок показало, что наиболее часто назначаются препараты для регидратации и дезинтоксикации для парентерального применения и гепатопротекторы. Изучена динамика цен на данные группы ЛП, которая продемонстрировала преимущественное

снижение цен на препараты для регидратации и дезинтоксикации (45% от числа наименований) и преимущественный рост цен на препараты группы гепатопротекторов (66,7% от числа наименований).

Полученные результаты свидетельствуют о тенденции к улучшению лекарственного обеспечения пациентов с острыми вирусными гепатитами и позволяют рассмотреть пути дальнейшей оптимизации.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность главному врачу Волгоградской областной клинической инфекционной больницы №1 Деминой Елене Васильевне за оказанную помощь при проведении исследования.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

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

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Семенов С.И., Федоров А.И., Осаковский В.Л., Максимова С.С., Платонов Ф.А. Частота встречаемости полиморфных вариантов гена IL28B и генотипов вируса гепатита С у населения Якутии: клинические исходы // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии (ЖМЭИ). – 2017. – №2. – С. 86–92. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-2-86-92>.
2. Жебрун А.Б., Калинина О.В. Вирусный гепатит С: эволюция эпидемического процесса, эволюция вируса // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии (ЖМЭИ). – 2016. – №1. – С. 102–112. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2016-1-102-112>.
3. Аликеева Г.К., Максимов С.Л., Сафиуллина Н.Х. и др. / Вирусный гепатит Е // Лечащий врач. – 2012. – №10. – С.48–52.
4. Дерябин, П.Г. Гепатит С: современное состояние и перспективы / Дерябин П.Г. // Вопросы вирусологии. – 2012. – № S1. – С. 91–103.
5. Инфекционные болезни: национальное руководство / под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгера. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1056 с.
6. Молекулярно-генетические исследования в эпидемиологии вирусных гепатитов: достижения и перспективы / Чуланов В.П., Неверов А.Д., Карандашова И.В. и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2014. – № 2. – С. 28–34.
7. Острый вирусный гепатит: нужно ли менять существующие стратегии скрининга? / Харвала Х., Вонг В., Симмондс П. и др. // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2014. – № 3(8). – С. 23–29.
8. Учайкин В.Ф. Инфекционная гепатология: руководство для врачей / В.Ф. Учайкин, Т. В. Чердиченко, А. В. Смирнов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 627 с.
9. Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика). – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2003. – 383 с.
10. Корзунова А. Гепатит А. – М.: Эксмо, 2017. – 128 с.
11. Кареткина, Г.Н. Вирусный гепатит А в прошлом, настоящем и будущем / Кареткина Г.Н. // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2014. – № 3 (8). – С. 38–48.
12. Вирусные гепатиты в Российской Федерации: Аналитический обзор / Под ред. В.И. Покровского, А.Б. Жербун. – СПб.: ФБУН НИИЭМ им. Л. Пастера, 2011, вып. 8. – 160 с.
13. Полунина, Т.Е. Хронический вирусный гепатит В: диагностика и лечение / Полунина Т.Е. // Consilium Medicum. – 2014. – Т. 16, №8. – С. 47–52.
14. Гепатит С (диагностика, эпидемиология, лечение, профилактика) // Вирусные гепатиты: достижения и перспективы. – 2000. – Т. 3, №10. – С. 3–9.
15. Kuntz E., Kuntz H.-D. Hepatology, Principles and practice: history, morphology, biochemistry, diagnostics, clinic, therapy. Berlin Heidelberg New York Springer – Verlag, 2006.
16. Вирусный гепатит. – М.: Наука, 2015. – 114 с.
17. Бургасова О.А., Волкова В.М., Тетова В.Б., Беляева Н.М. Взгляд клинициста на особенности клинического течения и вопросы вакцинопрофилактики вирусного гепатита А // Медико-социальная экспертиза и реабилитация. 2017. №1. – С. 37–45.
18. Статистический анализ и показатели работы лечебно-профилактических учреждений Волгоградской области 2007–2009 гг. – Волгоград, 2010. – 164 с.
19. Буеверов А.О. Место гепатопротекторов в лечении заболеваний печени // Болезни органов пищеварения. 2001. №2. С. 16–18.
20. Оковитый С.В., Улейчик С.Г., Шуленин С.Н. Гепатопротектор. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 112 с.
21. Морозов С.Ю. Гепатопротекторы в практике врача-клинициста / С.Ю. Морозов // РМЖ. – 2010. – Режим доступа: http://www.rmj.ru/articles_6601.htm
22. Пахомова И.Г., Успенский Ю.П. Эссенциальные фосфолипиды: свойства и особенности // Consilium Medicum. Гастроэнтерология. – 2010. – N 1. – С. 75–79.
23. Рогов В.А., Ганичева Л.М. Лекарственное обеспечение гепатопротекторными средствами населения Волгоградского региона: взаимосвязь уровня заболеваемости и потребления // Человек и лекарство: тезисы докладов 18-го Российского национального конгресса, 2011 – С. 630.
24. Оковитый С.В. Гепатопротекторы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 112 с.
25. Boursier J., de Ledinghen V., Zarski J. P. et. al. Comparison of eight diagnostic algorithms for liver fibrosis in hepatitis C: new algorithms are more precise and entirely noninvasive // Hepatology. – 2012. – Vol. 55, N 1. – P. 58–67.
26. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection, Journal of Hepatology. – 2011. – Vol. 55. – P. 245–264.
27. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis. – 2014. Режим доступа: <http://files.easl.eu/easl-recommendations-on-treatment-of-hepatitis-C.pdf>
28. Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. – Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>

АВТОРЫ

Ганичева Людмила Михайловна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения, ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет. ORCID ID: 0000-0002-5647-0568. E-mail: Ganicheva@volgmed.ru

Иоанниди Елена Александровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней с эпидемиологией и тропической медициной, ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: eaioannidi@volgmed.ru

Панфилова Олеся Алексеевна – аспирант кафедры управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения, ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской

Федерации. ORCID ID: 0000-0003-3148-8371. E-mail: Olesya.panfilova.95@mail.ru

Туренков Иван Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ВолгГМУ, заведующий кафедрой фармакологии и биофармации ФУВ ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7574-3923>. E-mail: fibfuv@mail.ru

Князева Юлия Сергеевна – ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет.

Кайшева Нелли Шаликовна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. E-mail: caisheva2010@yandex.ru

