

2020 Том / Volume VIII

№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
Case 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 8, Выпуск 6, 2020

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

Черников Максим Валентинович доктор медицинских наук, доцент, 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

Корректор: Мищенко Екатерина Сергеевна, 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, 2020

© Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, 2020

© Авторы, 2020

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

Maxim V. Chernikov

PhD (Medicine), Associate 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

Proofreader: Mischenko Ekaterina S., 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, 2020

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2020

©Authors, 2020

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS**Обзоры, лекции / Reviews, Lectures**

<i>В.И. Петров, А.А. Амосов, А.С. Герасименко, О.В. Шаталова, А.В. Пономарева, А.Н. Акинчиц, И.С. Кулакова, В.С. Горбатенко</i> МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЦИТОКИНОВОГО ШТОРМА ПРИ COVID-19 И НОВЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МИШЕНИ ФАРМАКОТЕРАПИИ.....	<i>V.I. Petrov, A.A. Amosov, A.S. Gerasimenko, O.V. Shatalova, A.V. Ponomareva, A.N. Akinchits, I.S. Kulakov, V.S. Gorbatenko</i> MECHANISMS OF CYTOKINE STORM DEVELOPMENT IN COVID-19 AND NEW POTENTIAL TARGETS OF PHARMACOTHERAPY	380
<i>Б.И. Кантемирова, Е.А. Орлова, О.С. Полунина, Е.Н. Чернышева, М.А. Абдуллаев, Д.А. Сычев</i> ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОГО НАЗНАЧЕНИЯ АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ В РАЗЛИЧНЫХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ.....	<i>B.I. Kantemirova, E.A. Orlova, O.S. Polunina, E.N. Chernysheva, M.A. Abdullaev, D.A. Sychev</i> PHARMACOGENETIC BASES OF INDIVIDUAL SENSITIVITY AND PERSONALIZED ADMINISTRATION OF ANTIPLATELET THERAPY IN DIFFERENT ETHNIC GROUPS	392

Оригинальные статьи / Research Article**Фармацевтическая технология и биотехнология / Pharmaceutical Technology and Biotechnology**

<i>Э.Ф. Степанова, И.П. Ремезова, А.М. Шевченко, А.В. Морозов, В.К. Мальцева</i> ФЛЕБОПРОТЕКТОРЫ НА БАЗЕ ФЛАВОНОИДОВ: ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ, БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ.....	<i>E.F. Stepanova, I.P. Remezova, A.M. Shevchenko, A.V. Morozov, V.K. Maltseva</i> PHLEBOPROTECTORS BASED ON FLAVONOIDS: DOSAGE FORMS, BIOPHARMACEUTICAL CHARACTERISTICS, TECHNOLOGICAL FEATURES	405
--	---	-----

Фармакология и клиническая фармакология / Pharmacology and Clinical Pharmacology

<i>П.А. Голубинская, М.В. Сарычева, А.А. Должиков, В.П. Бондарев, М.С. Стефанова, В.О. Солдатов, С.В. Надеждин, М.В. Корокин, М.В. Покровский, Ю.Е. Бурда</i> ПРИМЕНЕНИЕ СЕКРЕТОМА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ АДЪЮВАНТНОГО АРТРИТА И КОНТАКТНО-АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА НА ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ.....	<i>P.A. Golubinskaya, M.V. Sarycheva, A.A. Dolzhikov, V.P. Bondarev, M.S. Stefanova, V.O. Soldatov, S.V. Nadezhdin, M.V. Korokin, M.V. Pokrovsky, Yu.E. Burda</i> APPLICATION OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STEM CELL SECRETOME IN THE TREATMENT OF ADJUVANT ARTHRITIS AND CONTACT-ALLERGIC DERMATITIS IN ANIMAL MODELS	416
<i>Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Н.А. Осадченко, Д.А. Бакулин, Е.Е. Абросимова, М.А. Дубровина, Н.С. Ковалёв, Ю.В. Горбунова, И.Н. Тюренок</i> КОРРЕКЦИЯ ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ АЛКОГОЛЕМ У КРЫС НОВОЙ КОМПОЗИЦИЕЙ НА ОСНОВЕ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА	<i>D.V. Kurkin, E.I. Morkovin, N.A. Osadchenko, D.A. Bakulin, E.E. Abrosimova, M.A. Dubrovina, N.S. Kovalev, Yu.V. Gorbunova, I.N. Tyurenkov</i> CORRECTION OF PSYCHONEUROLOGICAL SIGNS OF ACUTE ALCOHOL INTOXICATION IN RATS WITH A NEW ACETYLCYSTEINE-BASED COMPOSITION	426
<i>Е.А. Орлова, И.П. Дорфман, М.А. Орлов, М.А. Абдуллаев</i> ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОВЕДЕНИЯ АНТИПНЕВМОКОККОВОЙ ВАКЦИНАЦИИ В ГРУППАХ РИСКА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ СРЕДИ ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ	<i>E.A. Orlova, I.P. Dorfman, M.A. Orlov, M.A. Abdullaev</i> PHARMACOECONOMIC EVALUATION OF ANTI-PNEUMOCOCCAL VACCINATION IN RISK GROUPS FOR THE PREVENTION OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA AMONG ADULTS IN THE ASTRAKHAN REGION	436

Информационные технологии в фармации / Informational Technologies in Pharmacy

<i>Э.Т. Оганесян, С.С. Шатохин</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ (НО·) АКТИВНОСТИ РОДСТВЕННЫХ СТРУКТУР, СОДЕРЖАЩИХ ЦИННАМОИЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ. III. ХАЛКОНЫ, ФЛАВАНОНЫ И ФЛАВОНЫ С ФЛОРОГЛУЦИНОВЫМ ТИПОМ КОЛЬЦА «А»	<i>E.T. Oganesyan, S.S. Shatokhin</i> USE OF QUANTUM-CHEMICAL PARAMETERS FOR FORECASTING ANTIRADICAL (HO·) ACTIVITY OF RELATED STRUCTURES CONTAINING A CINNAMIC MOLD FRAGMENT. III. CHALCONES, FLAVANONES AND FLAVONES WITH PHLOROGLUCINIC TYPE OF RING "A"	446
---	--	-----

Организация и экономика фармацевтического дела / Organization and Economy of Pharmacy

<i>Н.Ю. Порсева, А.В. Солонина, О.Н. Дворская</i> ИЗУЧЕНИЕ ИНФОРМИРОВАННОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ ПО ВОПРОСАМ ЗЛОУПОТРЕБЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ	<i>N.Yu. Porseva, A.V. Soloninina, O. N. Dvorskaya</i> STUDY OF PHARMACEUTICAL SPECIALISTS' INFORMATION AWARENESS ON THE MATTERS OF DRUG ABUSE	456
--	---	-----

Экономика и менеджмент медицины / Economy and Management of Medicine

<i>И.А. Наркевич, О.Д. Немытых, К.А. Ковалева, Л.Г. Ратова, И.О. Трушников, Е.Н. Паризжская, А.О. Конради</i> ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ СО СТАБИЛЬНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПОСЛЕ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА	<i>I.A. Narkevich, O.D. Nemytykh, K.A. Kovaleva, L.G. Ratova, I.O. Trushnikova, E.N. Parizhskaya, A.O. Konradi</i> LIFE QUALITY ASSESSMENT OF PATIENTS WITH STABLE CORONARY ARTERY DISEASE AFTER MYOCARDIAL REVASCULARIZATION	465
--	--	-----

Краткое сообщение / Case Report

<i>М.Р.Ф. Пратама, Сисвандоно</i> ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОЛИЧЕСТВА ЗАПУСКОВ AUTODOCK 4 НА СРЕДНЕКВАДРАТИЧЕСКОЕ ОТКЛОНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ДОКИНГА	<i>M.R.F. Pratama, Siswandono</i> NUMBER OF RUNS VARIATIONS ON AUTODOCK 4 DO NOT HAVE A SIGNIFICANT EFFECT ON RMSD FROM DOCKING RESULTS	476
---	--	-----

УДК 616.2



МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЦИТОКИНОВОГО ШТОРМА ПРИ COVID-19 И НОВЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МИШЕНИ ФАРМАКОТЕРАПИИ

В.И. Петров, А.А. Амосов, А.С. Герасименко, О.В. Шаталова, А.В. Пономарева,
А.Н. Акинчиц, И.С. Кулакова, В.С. Горбатенко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

E-mail: brain@sprintnet.ru

Получено 15.12.2020

Принята к печати 30.12.2020

Для тяжёлых форм COVID-19 характерно развитие «цитокинового шторма» – состояния неконтролируемого высвобождения большого количества медиаторов воспаления. Присоединение S-гликопротеина SARS-CoV-2 к ангиотензин-превращающему ферменту 2 рассматривается как процесс, запускающий сложные молекулярные взаимодействия, которые приводят к гипертрофии, которое в свою очередь реализуется через несколько систем: ренин-ангиотензин-альдостероновую, калликреин-кининовую и систему комплемента. Знание данных механизмов позволяет предположить потенциальные точки терапевтического вмешательства, на которые можно воздействовать существующими терапевтическими средствами для противостояния «цитокиновому шторму» и лечения острого респираторного дистресс-синдрома, связанного с COVID-19.

Цель. В обзоре обобщаются известные на сегодняшний день данные по молекулярным процессам, лежащим в основе неконтролируемого «цитокинового шторма» у пациентов с тяжёлой формой COVID-19 и возможные варианты их фармакологической коррекции.

Материалы и методы. В системах Medline, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Scopus, Web of Science Core Collection, Cochrane Library, ClinicalTrials.gov, Elibrary, Google-академия был проведен поиск по ключевым словам и комбинации этих слов: COVID-19, ренин-ангиотензин-альдостероновая система, брадикинин, система комплемента, гиалуроновая кислота, фармакотерапия.

Результаты. Развитие «цитокинового шторма» при COVID-19 опосредованно патогенетическими изменениями, происходящими в организме в ответ на проникновения SARS-CoV-2 в клетку. В РААС подавление АПФ2 приводит к снижению его способности расщеплять АТII, что, с одной стороны, ведет к уменьшению количества АТ1-7, а с другой – к воздействию АТII на АТ1R с последующим развитием вазоконстрикции и повреждения лёгких. Нарушения в калликреин-кининовой системе связаны, с одной стороны, с повышенной экспрессией калликреина и усилением образования брадикинина и его метаболита des-Arg 9-брадикинина, с другой стороны, с подавлением экспрессии ингибитора С1-эстеразы, который препятствует образованию калликреина, и нарушением инактивации des-Arg 9-брадикинина под действием АПФ 2. Нуклеокапсидный белок SARS-CoV-2 запускает активацию системы комплемента по лектиновому пути, что приводит к продукции анафилатоксинов C3a и C5a, которые стимулируют синтез провоспалительных цитокинов. Провоспалительные цитокины являются сильными индукторами гена HAS 2 в эндотелии, который кодирует мембранные ферменты гиалуронатсинтазы. Вызванное «брадикининовым штормом» пропотевание жидкости в альвеолы в сочетании с гиперпродукцией гиалуроновой кислоты, которая накапливает воду в 1000 раз больше собственной массы, может приводить к образованию плотного желеобразного вещества, препятствующего газообмену.

Заключение. Перспективные направления фармакотерапии «цитокинового шторма» связаны с влиянием на дисфункцию перечисленных систем. Однако эффективность и безопасность применения большинства препаратов для лечения COVID-19 еще предстоит изучить с помощью тщательно спланированных клинических исследований.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; «цитокиновый шторм»; фармакотерапия COVID-19

Список сокращений: АПФ – ангиотензин-превращающий фермент; АТ – ангиотензин; ГКС – глюкокортикостероиды; ДИ – доверительный интервал; Ил – интерлейкин; ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром; РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система; РКИ – рандомизированное контролируемое исследование; ФНО α – фактора некроза опухоли α; АТ1R – ангиотензиновый рецептор первого типа; БК – брадикинин; ВКВ 1R – рецептор брадикинина 1 типа; ВКВ 2R – рецептор брадикинина 2 типа; MASP-2 – маннан-связывающая лектин-ассоциированная сериновая протеаза 2

Для цитирования: В.И. Петров, А.А. Амосов, А.С. Герасименко, О.В. Шаталова, А.В. Пономарева, А.Н. Акинчиц, И.С. Кулакова, В.С. Горбатенко. Механизмы развития цитокинового шторма при COVID-19 и новые потенциальные мишени фармакотерапии. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):380-391. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-380-391

© В.И. Петров, А.А. Амосов, А.С. Герасименко, О.В. Шаталова, А.В. Пономарева, А.Н. Акинчиц, И.С. Кулакова, В.С. Горбатенко, 2020

For citation: V.I. Petrov, A.A. Amosov, A.S. Gerasimenko, O.V. Shatalova, A.V. Ponomareva, A.N. Akinchits, I.S. Kulakov, V.S. Gorbatenko. Mechanisms of cytokine storm development in COVID-19 and new potential targets of pharmacotherapy. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):380-391. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-380-391

MECHANISMS OF CYTOKINE STORM DEVELOPMENT IN COVID-19 AND NEW POTENTIAL TARGETS OF PHARMACOTHERAPY

V.I. Petrov, A.A. Amosov, A.S. Gerasimenko, O.V. Shatalova, A.V. Ponomareva,
A.N. Akinchits, I.S. Kulakov, V.S. Gorbatenko

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

E-mail: brain@sprintnet.ru

Received 15 Dec 2020

Accepted 30 Dec 2020

The development of a "cytokine storm", characteristic of severe COVID-19 forms, can be defined as a state of uncontrolled release of a large number of inflammatory mediators.

The attachment of SARS-CoV-2 S-glycoprotein to angiotensin-converting enzyme 2 is considered a process that triggers complex molecular interactions that lead to hyperinflammation. In its turn, it is realized through several systems: renin-angiotensin-aldosterone, kallikrein-kinin and a complement system. Knowledge of these mechanisms suggests potential therapeutic interventions that can be targeted by existing therapeutic agents to counter the cytokine storm and treat the acute respiratory distress syndrome associated with COVID-19.

The aim of the review article is to summarize the currently known data on the molecular processes underlying the uncontrolled "cytokine storm" in the patients with severe COVID-19, and possible options for their pharmacological correction.

Materials and methods. The data base was represented by such systems as Medline, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Scopus, Web of Science Core Collection, Cochrane Library, ClinicalTrials.gov, Elibrary, Google-Academy. A search was carried out for the following keywords and combinations: COVID-19, renin-angiotensin-aldosterone system, bradykinin, complement system, hyaluronic acid, pharmacotherapy.

Results. The development of a "cytokine storm" in COVID-19 is mediated by pathogenetic changes in the body in response to the penetration of SARS-CoV-2 into the cell. In the RAAS, suppression of ACE2 leads to a decrease in its ability to degrade ATII, which, on the one hand, leads to a decrease in the amount of AT1-7, and, on the other hand, to the effect of ATII on AT1R with the subsequent development of vasoconstriction and lung damage. The disturbances in the kallikrein-kinin system are associated, on the one hand, with the increased expression of kallikrein and an increase in the formation of bradykinin and its metabolite des-Arg 9-bradykinin. On the other hand, the disturbances are associated with the suppression of the expression of the C1-esterase inhibitor which prevents the formation of kallikrein, and impaired inactivation of des-Arg 9-bradykinin under the action of ACE 2. The nucleocapsid protein SARS-CoV-2 triggers the activation of the complement system through the lectin pathway. It leads to the production of anaphylatoxins C3a and C5a, which stimulate the synthesis of pro-inflammatory cytokines. Proinflammatory cytokines are potent inducers of the HAS 2 gene in the endothelium, which encodes the membrane enzymes of hyaluronate synthase. The sweating of the fluid into the alveoli caused by the "bradykinin storm" in combination with the overproduction of hyaluronic acid, which accumulates water 1000 times its own mass, can lead to the formation of a dense jelly-like substance that prevents gas exchange.

Conclusion. Promising areas of pharmacotherapy for "cytokine storm" are associated with its impact on the dysfunction of the listed above systems. However, the efficacy and safety of most drugs for the treatment of COVID-19, is to be studied through carefully designed clinical trials.

Keywords: SARS-CoV-2; "cytokine storm"; pharmacotherapy for COVID-19

Abbreviations: ACE – angiotensin converting enzyme; AT – angiotensin; GCS – glucocorticosteroids; CI – confidence interval; IL – interleukine; ARDS – acute respiratory distress syndrome; RAAS – renin-angiotensin-aldosterone system; RCS – randomised controlled study; TNF – tumour necrosis factor; AT1R – angiotensin receptor; BK – bradykinin; BKB 1R – type 1 Bradykinin Receptor; BKB 2R – type 2 Bradykinin Receptor 2; MASP-2 – Mannan-binding lectin-associated serine protease-2; MCP-1 – Monocyte chemotactic protein-1; MAPK – mitogen-activated protein kinase

ВВЕДЕНИЕ

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19), которая в 2020 году распространилась в масштабе пандемии, вызвана оболочечным РНК вирусом SARS-CoV-2, принадлежащим к семейству Coronaviridae, род бета-коронавирус. Структурные и вспомогательные белки вируса участвуют в проникновении в клетку и влияют на иммунный ответ заражённого [1].

Научные данные свидетельствуют, что иммунный ответ на вирусную инфекцию способствует

развитию тяжёлых форм таких инфекций, как MERS-CoV, SARS-CoV и SARS-CoV-2 [2]. Иммунные реакции при тяжёлой форме COVID-19 представляют собой такое явление как «цитокиновый шторм». «Цитокиновый шторм» – это массивное и неконтролируемое высвобождение цитокинов, которое наблюдается при некоторых инфекционных и неинфекционных заболеваниях, приводящее к гипервоспалительной реакции организма, связанной с неблагоприятным клиническим прогнозом [3]. Эта гипериммунная реакция коррелирует с высокой частотой госпитализа-

ций в отделения реанимации и интенсивной терапии и частой смертностью от COVID-19.

Начальная фаза проникновения в клетку SARS-CoV-2 опосредуется путём связывания S-гликопротеина оболочки вируса с мембраносвязанной формой ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) 2 на клетке-мишени [1]. Присоединение вируса к АПФ2 в качестве его клеточного рецептора обеспечивает проникновение в клетку-мишень путём виропексиса, что приводит к проникновению (интернализации) фермента в клетку и подавлению его функции [4]. Интернализация АПФ2 потенциально может привести к увеличению концентрации ангиотензина (АТ) II и снижению уровня АТ1-7, что в последствии приводит к запуску воспалительных реакций, связанных с дисбалансом в функционировании ренин-ангиотензин-альдостероновой системе (РААС) [4].

Существуют и другие ключевые механизмы возникновения «цитокинового шторма». Так, анализ бронхоальвеолярного лаважа показал, что SARS-CoV-2 вызывает увеличение уровня брадикинина в клетках (так называемый «брадикининовый шторм»). Известно, что брадикинин участвует в формировании боли и расширяет кровеносные сосуды, увеличивая их проницаемость, что приводит к отёку и воспалению. Кроме того, было выявлено, что у пациентов с COVID-19 увеличивается продукция гиалуроновой кислоты, а синтез ферментов гиалуронидаз, которые могли бы её разрушить, уменьшается [5]. Вызванное «брадикининовым штормом» пропотевание жидкости в альвеолы в сочетании с гиперпродукцией гиалуроновой кислоты приводит к образованию плотного желеобразного вещества, препятствуя газообмену. Таким образом, не только дисбаланс в системе РААС, непосредственно приводящий к «цитокиновому шторму», но и «брадикининовый шторм» с гиперпродукцией гиалуроновой кислоты может стать причиной тяжёлого течения COVID-19. Однако потенциальные клеточные и молекулярные механизмы развития тяжёлых форм при COVID-19 ещё недостаточно изучены.

ЦЕЛЬ. В обзоре обобщаются известные на сегодняшний день данные по молекулярным процессам, лежащим в основе неконтролируемого «цитокинового шторма» у пациентов с тяжёлой формой COVID-19. Понимание данных процессов будет иметь решающее значение для выбора эффективной терапевтической мишени в патогенезе COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В системах Medline, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Scopus, Web of Science Core Collection, Cochrane Library, ClinicalTrials.gov, Elibrary, Google-академия был проведен поиск по ключевым словам и комбинации этих слов: COVID-19, «цитокиновый шторм», ренин-ангиотензин-альдостероновая система, брадикинин, система комплемента, гиалуроновая кислота,

фармакотерапия, – как в русском, так и в английском эквиваленте. Ограничение по дате отсутствовало. Список литературы были проверены вручную, а электронные архивы клинических исследований использовались для поиска дополнительных исследований по данной теме. Дата обращения 14.12.2020. Поиск осуществлялся двумя исследователями, разногласия разрешались путем достижения консенсуса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система

РААС – система вазоактивных пептидов, регулирующая артериальное давление, объем циркулирующей жидкости, баланс ионов плазмы, а также участвующая в поддержании воспаления. Один из ключевых ферментов этой системы – АПФ2 экспрессируется в сердце, почках, семенниках, желудочно-кишечном тракте и лёгких [6]. Он расщепляет АТII с образованием пептида АТ1-9, который может быть превращён в пептид АТ1-7 с помощью АПФ или других пептидаз. АПФ 2 может также непосредственно метаболизировать АТII с образованием АТ1-7 [7]. АТ1-7 – это вазодилататорный пептид, который, обладает антипролиферативной, антитромботической и противовоспалительной активностью, ослабляет эффекты активации ангиотензиновых рецепторов первого типа (АТ1R) [8], снижает экспрессию таких воспалительных факторов, как интерлейкин (Ил)-6, фактора некроза опухоли α (ФНО α) и Ил-8 [9].

Перечисленные положительные эффекты АТ1-7 происходят через воздействия на рецептор MasR [9]. MasR экспрессируются в эпителии и гладких мышцах бронхов, следовательно, АТ1-7 может модулировать острые и хронические воспалительные процессы в легких посредством активации MasR [10]. Также АТ1-7 опосредованно влияет на продукцию Ил-10, который в свою очередь индуцирует дифференциацию Т-хелперов в Т-хелперов 2 типа [11]. Т-хелперы 2 типа регулируют иммунные ответы, продуцируя противовоспалительные цитокины: Ил-4, Ил-5, Ил-9 и Ил-13 [12]. Кроме того, Ил-10 может участвовать в предотвращении альтерации тканей [13].

Таким образом, РААС можно рассматривать как гормональную систему с двумя осями: ось АПФ/АТII/АТ1R – патологическая – и, противоположная ей, защитная ось – АПФ2/АТ1-7/MasR (Рис. 1).

Проникновение SARS-CoV-2 в клетку и его последующее связывание с АПФ2 приводит к отклонению системы в сторону патологической оси, так как снижается способность АПФ2 расщеплять АТII, что приводит, с одной стороны, к уменьшению количества АТ1-7, а с другой – к воздействию АТII на АТ1R с последующим развитием вазоконстрикции и повреждения лёгких [14].

Полученные клинические данные подтверждают влияние дисбаланса РААС в патогенезе развития острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС).

Лабораторно у пациентов с COVID-19 выявлены более высокие концентрации АТII, которые линейно коррелируют со степенью тяжести поражения лёгких [15]. Помимо этого, применение ингибиторов АПФ и блокаторов рецептора ангиотензина для лечения артериальной гипертензии связано с более низкой тяжестью заболевания и тенденцией к низкому уровню Ил-6 у пациентов с COVID-19 [16]. Положительное влияние ингибиторов РААС подтверждается в метаанализе с участием в общей сложности 24676 пациентов с COVID-19, где было продемонстрировано снижение риска смерти и/или развития критического состояния примерно на 23% (отношение шансов: 0,768, 95% доверительный интервал (ДИ): 0,651-0,907, $p = 0,0018$) [16].

Накопленные клинико-эпидемиологические данные о COVID-19 показывают, что у пациентов с изначально сниженным уровнем экспрессии АПФ2 или нарушенной функцией РААС (пациенты пожилого возраста, мужского пола и страдающие от сахарного диабета, гипертонии, ожирения) истощение АПФ2, связанное с действием SARS-CoV-2, приводит к более тяжёлому клиническому течению [17].

Калликреин-кининовая система

Калликреин-кининовая система включает в себя неактивный предшественник кининоген, из которого под действием сериновой протеазы калликреина образуется брадикинин, активным метаболитом которого является des-Arg 9-брадикинин. Эти пептиды могут воздействовать на два типа рецепторов, ассоциированных с G-белком: рецептор брадикинина 1 типа (BKB 1R), основным агонистом которого является des-Arg 9-брадикинин, и рецептор брадикинина 2 типа (BKB 2R), который активируется под действием брадикинина [18]. Со стимуляцией этих рецепторов связаны принципиально различные эффекты, так активация рецептора BKB 2R вызывает вазодилатацию, усиливает экскрецию натрия и снижает артериальное давление, в то время как воздействие на BKB 1R приводит к высвобождению провоспалительных хемокинов и усиливает миграцию нейтрофилов к тканям (Рис. 2).

Калликреин-кининовая система тесно связана с РААС, поскольку передача сигналов рецептора брадикинина усиливается при воздействии АТ1-9, а АПФ2 инактивирует брадикинин [19]. В экспериментальных исследованиях было показано, что des-Arg 9-брадикинин является субстратом легочного АПФ2 и ослабление его активности приводит к нарушению инактивации des-Arg 9-брадикинина и, таким образом, к усилению передачи сигналов через BKB 1R [18].

При исследовании экспрессии отдельных генов в образцах бронхоальвеолярного лаважа пациентов с COVID-19 было показано, что экспрессия кининогена и калликреинов ярко выражена, что не обнаруживается в контроле [5]. Экспрессия АПФ, который расщепляет

брадикинин, подавлена в 8 раз, а экспрессия BKB 2R увеличена в 207 раз, BKB 1R в 2945 раз. Следует отметить, что BKB 1R обычно экспрессируется в очень низком количестве почти во всех тканях, но в данном случае экспрессия этого рецептора ярко выражена, тогда как в контроле она практически не обнаруживается.

Циркулирующий плазменный калликреин активируется фактором XIIa (Фактор Хагемана) внутреннего пути коагуляции, который подавляется ингибитором C1-эстеразы, кодируемым геном SERPING1 [20]. В образцах бронхоальвеолярного лаважа пациентов с COVID-19 экспрессия фактора Хагемана не изменена, при этом ген SERPING 1, был подавлен в 33 раза, что приводило к снижению концентрации ингибитора C1-эстеразы и, как следствие, недостаточному подавлению фактора Хагемана. Это способствовало синтезу брадикинина из кининогена и ещё большему увеличению концентрации этого медиатора у пациентов с COVID-19 [20]. Возникающий в результате «брадикининовый шторм» потенциально ответственен за большинство симптомов, наблюдаемых при COVID-19: сухой кашель, усталость, головные боли, миалгию, диспепсические расстройства, снижение когнитивных функций, аритмию и внезапную сердечную смерть [5].

Система комплемента

Система комплемента включает в себя множество белков и продуктов их расщепления, которые могут координировать воспалительный ответ в местах инфекции. Активация системы комплемента происходит через несколько механизмов, которые включают три основных пути: классический, лектиновый и альтернативный. Лектиновый путь и его эффекторный фермент, маннан-связывающая лектин-ассоциированная сериновая протеаза 2 (MASP-2), напрямую связаны с повреждением лёгких при коронавирусной инфекции. В частности, было показано, что нуклеокапсидный белок SARS-CoV-2, а также белки SARS и MERS активируют MASP-2, а следы MASP-2 наблюдаются в сосудистой сети лёгочной ткани пациентов с COVID-19 [21]. Активированный MASP-2 инициирует серию ферментативных реакций, которые приводят к продукции анафилатоксинов C3a и C5a и к образованию комплекса мембранной атаки C5b-9 [22].

Фактор C5a – самый сильный воспалительный пептид в системе комплемента, который провоцирует высвобождение ряда провоспалительных цитокинов [22] и ФНО- α [23]. Мембраноатакующий комплекс C5b-9 индуцирует высвобождение Ил-6 посредством активации нуклеарного фактора транскрипции, активирующего белка-1 [24] и хемотаксического белка моноцитов-1 [25]. Повышенная концентрация C3a приводит к гиперпродукции Ил-1, Ил-6 и ФНО- α [26]. Кроме того, лектиновый путь активации комплемента сопряжён с повреждением эндотелия и тромбозом [27].

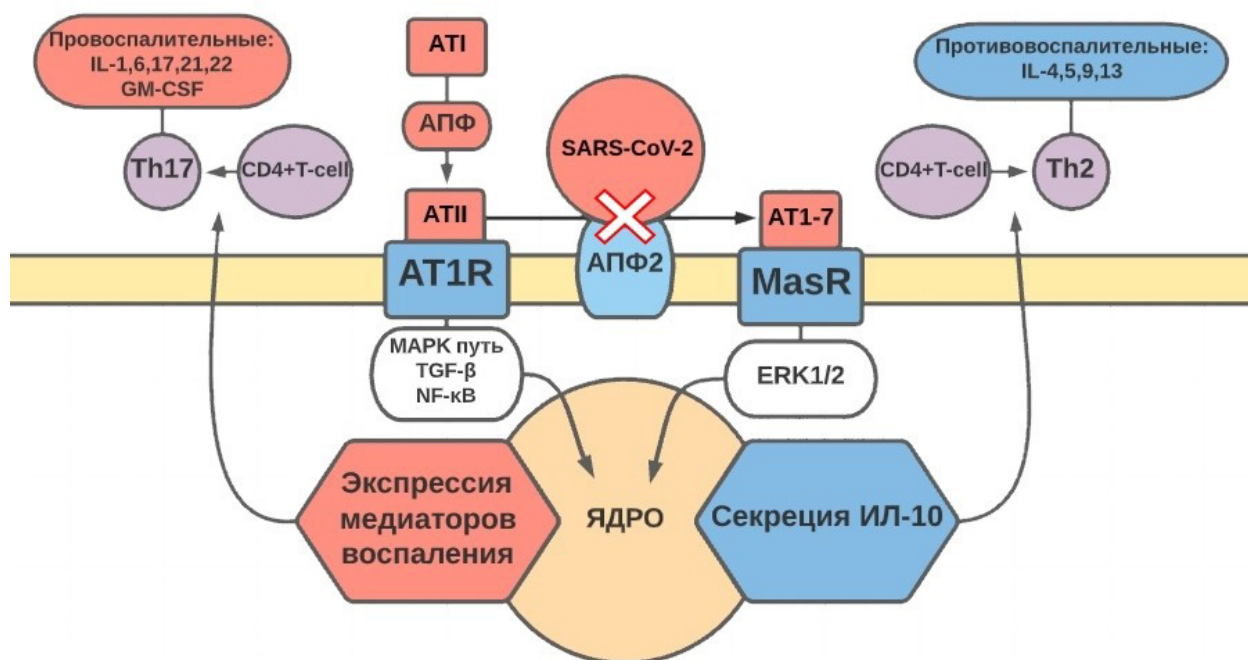


Рисунок 1 – РААС это система двумя осями: ось АПФ/АТII/АТ1R – патологическая – и, противоположная ей, противовоспалительная ось – АПФ2/АТ1-7/MasR. Проникновение SARS-CoV-2 в клетку и его последующее подавление АПФ2 смещает баланс в сторону патологической оси и, как следствие, повышенное общее соотношение АТII к АТ1-7 приводит к ухудшению лёгочной функции и повреждению лёгких

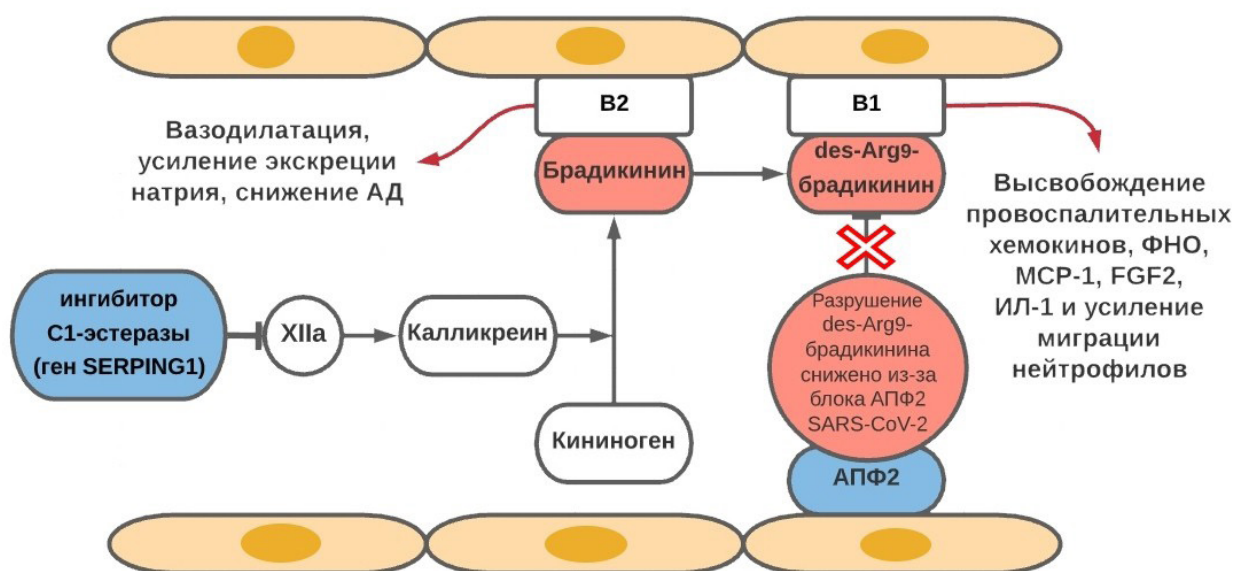


Рисунок 2 – Нарушения в калликреин-кининовой системе связаны с одной стороны, с повышенной экспрессией калликреина и усилением образования брадикинина и его метаболита des-Arg 9-брадикинина, с другой стороны, с подавлением экспрессии ингибитора С1-эстеразы, который препятствует образованию калликреина, и нарушением инактивации des-Arg 9-брадикинина под действием АПФ2

Таблица 1 – Потенциальные мишени фармакотерапии «цитокинового шторма» при COVID-19

Мишень воздействия	Терапевтическое решение
	Плазмаферез – устранение циркулирующих в плазме компонентов системы комплемента, иммунных комплексов и цитокинов
Ренин-ангиотензин-альдостероновая система	Человеческий рекомбинантный растворимый АПФ2
	Введение экзогенного АТ1-7
	Применение витамина D
Калликреин-кининовая система	Селективные блокаторы ВКВ 1R
	Конестат альфа – рекомбинантные форма С1-ингибитора
	Ланаделумаб – человеческое моноклональное антитело, связывающее плазменный калликреин
Система комплемента	Икатибант – селективный антагонист ВКВ 2R
	Нарсоплимаб – высокоаффинное человеческое моноклональное IgG4-антитело, связывающее MASP-2 и блокирующее лектиновый путь
	Экулизумаб – высокоаффинное моноклональное антитело к белку C5
Гиалуроновая кислота	Компстатин AMY-101 – ингибирует расщепление C3 до C3a и C3b C3-конвертазами
	Интраназальное введение экзогенной гиалуронидазы
	Гимекромон (4-метилумбеллиферон) – ингибитор экспрессии гиалуронатсинтаз (HAS2 и HAS3)
Другие звенья патогенеза	Силтуксимаб – препарат моноклональных антител против Ил-6 и тоцилизумаб, сарилумаб
	препараты против рецепторов Ил-6
	Системные глюкокортикостероиды

Гипотеза о роли компонентов системы комплемента в патогенезе ОРДС при коронавирусной инфекции подтверждена в экспериментальных и клинических исследованиях. В частности, в исследовании Gralinski L.E. и соавторов было изучено течение SARS-CoV-1 у мышей с дефицитом C3 и без него (группа контроля) и показано, что мыши с дефицитом C3 демонстрировали значительно меньшую потерю веса и меньшую респираторную дисфункцию в сравнении с контрольной группой, несмотря на эквивалентную вирусную нагрузку в лёгких [28]. А при аутопсийных исследованиях пациентов, умерших от COVID-19, наблюдались отложения компонентов комплемента (C3, C3a и C5b-9) в лёгких и повышенные уровни C5a в плазме [27].

Гиалуроновая кислота

Гиалуроновая кислота – это полисахарид, который может удерживать воды в 1000 раз больше собственной массы с образованием плотного гидрогеля. Гены HAS1, HAS2 и HAS3 кодируют мембранные ферменты гиалуронатсинтазы. Разрушение гиалуроновой кислоты происходит под действием ферментов гиалуронидаз, кодируемых генами HYAL1 (лизосомальная гиалуронидаза) и HYAL2 (мембраносвязанная гиалуронидаза) [29]. Синтез и распад гиалуроновой кислоты регулируется по принципу отрицательной обратной связи: гиалуроновая кислота стимулирует CD44 (рецептор гиалуроновой кислоты), который в свою очередь индуцирует синтез гиалуронидаз [30].

Предположение о роли гиалуроновой кислоты в патогенезе тяжёлых форм COVID-19 было выска-

зано после обнаружения на аутопсии пациентов, умерших от инфекции, прозрачного желеобразного экссудата, которым были заполнены ткани легких [31]. Хотя природа обнаруженных изменений на тот момент ещё не была определена, предположение о гиалуроновой кислоте было связано, во-первых, с тем, что ее накопление при ОРДС отмечено в более раннем исследовании [32], во-вторых, отмечалось нарушение регуляции выработки гиалуроновой кислоты при инфекции SARS [33]. Было показано, что провоспалительные цитокины (Ил-1, ФНО-α), повышение количества которых наблюдается в лёгких при ОРДС, являются сильными индукторами фермента HAS2 в эндотелии, альвеолоцитах и фибробластах. Анализ бронхоальвеолярного лаважа пациентов с COVID-19 обнаружил значительное усиление активности генов, участвующих в синтезе гиалуроновой кислоты: HAS1 (в 9113 раз), HAS2 (в 493 раза) и HAS3 (в 32 раза) [5]. Ген CD44, кодирующий рецептор CD44, необходимый для деградации гиалуроновой кислоты, и ген, кодирующий внеклеточную гиалуронидазу HYAL2 были подавлены (в 11 и 5 раз соответственно). В результате нарушения синтеза и распада гиалуроновой кислоты, индуцированного SARS-CoV-2, происходит её накопление в альвеолах с последующей их закупоркой, что и было позднее показано при гистохимическом исследовании лёгочной ткани пациентов, умерших от COVID-19 [34]. Именно с накоплением гиалуроновой кислоты в лёгких и связаны те изменения в виде матового стекла на компьютерных томограммах, которые обнаруживаются при пневмониях, ассоциированных с SARS-CoV-2 [34].

Новые потенциальные мишени терапии COVID-19

Снижение отрицательного влияния избыточной выработки медиаторов воспаления может быть достигнуто путём проведения плазмафереза. Продemonстрирована эффективность плазмафереза при лечении тяжёлой формы COVID-19 [35]. В настоящее время не до конца изучена безопасность данного метода у пациентов с COVID-19. Целесообразно рассмотреть возможности терапевтического влияния на отдельные системы, вовлечённые в патогенез развития «цитокинового шторма» при COVID-19 (таб. 1).

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система. Более десяти лет ведётся работа над первым человеческим рекомбинантным растворимым АПФ2 (GSK2586881) для лечения ОРДС. На данный момент завершены две фазы клинических испытаний. В первой фазе было продемонстрировано, что препарат хорошо переносится здоровыми добровольцами и не вызывает побочных эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы [36]. В рамках второй фазы было показано, что данный препарат (GSK2586881) не вызывает гипотензию, но достоверно чаще вызывает гипернатриемию, дисфагию и сыпь [37]. В тоже время, его эффективность в снижении уровня Ил-6 и улучшении клинико-инструментальных показателей на небольшой выборке пациентов с ОРДС не была доказана [37]. В конце 2020 было завершено повторное исследование второй фазы (Идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT04335136), включающее пациентов с COVID-19 и ОРДС. Кроме того, недавно было показано, что человеческий рекомбинантный растворимый АПФ2 может предотвращать проникновение SARS-CoV-2 в клетки кровеносных сосудов и почек [38].

Учитывая роль AT1-7 в противодействии воспалительным эффектам АПФ, защите эндотелиальных клеток и предотвращении повреждения лёгких с последующим развитием ОРДС, было предложено введение AT1-7 при COVID-19 [39]. Однако эффективность применения AT1-7 при ОРДС была продемонстрирована лишь на экспериментальных моделях. Исследований с участием пациентов с COVID-19 на данный момент не проводилось [14].

Также было опубликовано два обзора, свидетельствующих о потенциальной пользе витамина D в терапии тяжёлых форм коронавирусной инфекции [40]. Подобный эффект предположительно был связан с его способностью снижать уровень ренина и, как следствие, уменьшать продукцию АПФ, что было показано в нескольких исследованиях [41]. Не ясна взаимосвязь между выработкой ренина и концентрацией витамина D, однако некоторые исследования демонстрируют взаимосвязь его дефицита с развитием тяжёлых форм COVID-19 [42]. Однако положительное влияние терапии витамином D на течение коронавирусной инфекции было показано только в наблюдательных исследованиях, в то время как в

рандомизированных контролируемых испытаниях (РКИ) не было отмечено его влияния на какую-либо патологию, кроме скелетной [43]. По данным другого метаанализа регулярный приём витамина D в дозах до 2000 МЕ/сутки безопасен и защищает от острой инфекции дыхательных путей, особенно у субъектов с дефицитом витамина D [44]. Таким образом, представляется возможным, что профилактическая терапия витамином D может снизить тяжесть заболевания, вызванного SARS-CoV-2, особенно в условиях, где распространён его гиповитаминоз [40].

Калликреин-кининовая система. Поскольку во многих исследованиях показана весомая роль «брадикининового шторма» в патогенезе COVID-19, воздействие путём ингибирования брадикининового рецептора BKB 1R потенциально может иметь положительные терапевтические эффекты. В период с 2004 по 2012 года сразу несколько крупных фармацевтических компаний подали патентные заявки на регистрацию химических соединений, обладающих свойствами селективной блокады BKB 1R и показавших многообещающие результаты в доклинических испытаниях [45]. Препараты компаний Sanofi, Merck и Boehringer Ingelheim даже достигли I и II фаз клинических испытаний, однако дальнейшие исследования были внезапно прекращены без объяснения причин [45]. Вероятно, такие факторы как ограниченная предсказуемость животных моделей, токсикологические проблемы, неоптимальный фармакокинетический профиль послужили причинами прекращения дальнейших разработок данной группы препаратов. Так или иначе, в настоящее время нет ни одного зарегистрированного лекарственного препарата – блокатора BKB 1R.

В качестве другого потенциально перспективного терапевтического направления можно рассматривать снижение выработки БК в организме. Одним из способов, позволяющих этого достичь, является влияние на активность ингибитора С1-эстеразы, который подавляет выработку фактора Хагемана и, как следствие, снижает количество брадикинина. Препараты, обладающие подобным механизмом действия, используются для лечения наследственного ангионевротического отека – редкого генетического заболевания, ассоциированного с уменьшением количества или активности ингибитора С1-эстеразы. Поскольку в ряде исследований продемонстрировано подавление гена SERPING1 и снижение концентрации или активности ингибитора С1-эстеразы у пациентов с COVID-19, рекомбинантные формы ингибитора (Berinert – зарегистрирован в РФ, Cinryze, Haegarda, Ruconest) могут применяться для снижения активности брадикинина [46]. На данный момент отсутствуют РКИ, изучавшие применение этой группы препаратов у пациентов с COVID-19. В небольшом неконтролируемом испытании пяти пациентам с признаками гиперактивации калликреин-кининовой системы назначали препарат конестат альфа (Ruconest), у всех

пациентов отмечалась положительная клинико-лабораторная динамика [47].

Ещё одним препаратом для лечения наследственного ангионевротического отёка является ланаделумаб. Ланаделумаб – человеческое моноклональное антитело, которое связывает плазменный калликреин и предотвращает расщепление циркулирующего высокомолекулярного кининогена до брадикинина. Ланаделумаб не оказывает влияние ни на C1-ингибитора, ни на ген SERPING1, кодирующий активность C1-ингибитора.

Икатибант, блокируя связывание брадикинина с BKB 2R, препятствует развитию вазодилатации, повышению проницаемости сосудов, сокращению гладких мышц висцеральных органов и развитию отёка. Эффективность препарата в терапии COVID-19 была продемонстрирована в исследовании случай-контроль с участием 27 пациентов с сатурацией менее 90%, которым назначали икатибант или стандартную терапию [48]. У пациентов, принимавших икатибант, наблюдалось снижение потребности в кислородотерапии и улучшение показателей сатурации в течение 24 часов после начала лечения. Однако полномасштабных РКИ, посвящённых изучению эффективности данного препарата при COVID-19 не проводилось.

Система комплемента. Основные терапевтические пути влияния на систему комплемента заключаются в блокировании лектинового пути его активации и подавлении белков, провоцирующих развитие воспалительных реакций – C5a и C3.

Нарсоплимаб представляет собой высокоаффинное полностью человеческое моноклональное антитело к иммуноглобулину G4, которое связывает MASP-2 и блокирует лектиновый путь активации комплемента. Данный препарат показал эффективность в лечении пациентов с тромботической микроангиопатией, связанной с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток, а также проходит третью фазу клинических испытаний в лечении иммуноглобулин А-нефропатии и атипичного гемолитико-уремического синдрома [27]. В августе 2020 года были опубликованы результаты исследования данного препарата в лечении пациентов с тяжёлой инфекцией COVID-19 и ОРДС [27]. В исследовании приняло участие 6 пациентов, которым нарсоплимаб в дозе 4 мг/кг вводили внутривенно дважды в неделю в течение 2–4 недель, также они получали стандартную терапию согласно рекомендациям и респираторную поддержку. У всех участников испытания наблюдалось клиническое и лабораторное улучшение, развития нежелательных реакций, связанных с приёмом препарата, не отмечалось. Из положительных моментов применения нарсоплимаба также отмечалось то, что он не препятствует активации системы комплемента по классическому пути и не мешает адаптивному иммунному ответу.

Экулизумаб – это высокоаффинное моноклональное антитело к белку C5. Препарат показал обнадеживающие результаты в терапии тяжёлой формы COVID-19,

осложнённой ОРДС, в нескольких небольших исследованиях, у всех пациентов наблюдалось улучшение [49].

В настоящий момент находятся в стадии клинической разработки препараты для терапии различных заболеваний, связанных с патологией системы комплемента, являющиеся ингибиторами белка C3. Один из представителей нового поколения высокоселективных и сильнодействующих ингибиторов C3, называемых компстатинами, AMY-101 проходит II фазу клинических испытаний, продемонстрировав хорошую безопасность и переносимость у добровольцев в ходе исследования I фазы [50]. Данный препарат было предложено использовать в терапии тяжелобольных пациентов с новой коронавирусной инфекцией и ОРДС, и уже опубликованы результаты нескольких работ, свидетельствующих о его эффективности [51]. В одном исследовании, сравнивавшем экулизумаб с AMY-101, было продемонстрировано преимущество последнего в скорости наступления эффекта и выраженности клинического и лабораторного улучшения при ОРДС, ассоциированным с COVID-19 [51]. Авторы работы связывают полученные результаты с тем, что активация C3 является точкой схождения всех путей комплемента и ингибирование на уровне C3 обеспечивает одновременное блокирование образования всех нижестоящих провоспалительных медиаторов, участвующих в SARS-CoV-2-индуцированном ОРДС.

Ограничениями этих исследований являются небольшая популяция пациентов, отсутствие контрольных групп и одновременный приём других препаратов против COVID-19. SOLID-C19 (Идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT04288713), CORIMUNO19-ECU (Идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT04346797) и SAVE (Идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT04395456) являются одними из немногих продолжающихся исследований, изучающих терапевтический эффект и переносимость ингибиторов комплемента у пациентов с COVID-19 [52].

Гиалуроновая кислота. Учёными из Китая было сделано предположение о том, что вдыхание гиалуронидазы приведёт к деградации и снижению количества гиалуроновой кислоты в дыхательных путях [53]. Экспериментально было показано, что интраназальное введение экзогенной гиалуронидазы может снизить содержание гиалуроновой кислоты в лёгких и восстановить функцию лёгких после инфекции гриппа [33]. Однако, скорее всего, этот метод может быть эффективен только на ранних стадиях заболевания [34].

Ещё одним методом терапевтического воздействия на синтез гиалуроновой кислоты является применение препарата 4-метилумбеллиферона (гимекромона), который может ингибировать выработку гиалуроновой кислоты, ингибируя экспрессию генов двух гиалуронатсинтаз (HAS2 и HAS3) и блокируя последнюю стадию образования гиалуроновой кислоты из метаболитов глюкозы [54]. Данный препарат одобрен для лечения спазма желчевыводящих путей, однако он может вызвать диарею с последую

щей гипокалиемией. Исследований эффективности применения 4-метилумбеллиферона у пациентов с COVID-19 на данный момент не проводилось.

Другие препараты для патогенетической терапии. Среди наиболее доступных и часто применяемых средств в терапии «цитокинового шторма» следует выделить препараты моноклональных антител против ИЛ-6 (силтуксимаб) или его рецепторов (тоцилизумаб, сарилумаб), а также глюкокортикостероиды (ГКС).

Ингибиторы ИЛ-6 ещё не одобрены для лечения COVID-19, однако ряд неPLACEBO-контролируемых и наблюдательных исследований у пациентов с тяжёлой формой COVID-19 и ОРДС указывают на значительный потенциал этих препаратов (в первую очередь, тоцилизумаба) [55]. Опубликованы результаты нескольких метаанализов эффективности тоцилизумаба при COVID-19. Один из недавно опубликованных метаанализов отдельно оценивал результаты контролируемых и неконтролируемых испытаний [56]. Он включал 16 контролируемых исследований с участием в общей сложности 2545 пациентов и показал снижение смертности при терапии тоцилизумабом на 55% в сравнении с контролем (отношение шансов 0,453, 95% доверительный интервал 0,376–0,547, $p < 0,001$). В 18 неконтролируемых испытаниях, в которых приняло участие 886 человек, уровень смертности от тяжёлой формы COVID-19 колебался от 0% до 42,4%.

Однако данный метаанализ не включал неопубликованные результаты РКИ COVACTA, в котором не было выявлено снижения смертности от COVID-19 при применении тоцилизумаба по сравнению со стандартной терапией, что поставило под сомнение потенциальную эффективность препарата и этическую основу продолжения других исследований [56]. Тем не менее, по-прежнему продолжают несколько РКИ для оценки эффективности тоцилизумаба у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (Идентификаторы ClinicalTrials.gov: NCT04409262, NCT04372186, NCT04356937, NCT04412772).

Остаётся спорным вопрос в отношении применения ГКС при COVID-19. Существуют данные, свидетельствующие как об улучшении симптомов и снижении смертности при назначении этой группы препаратов, так и исследования показывающие, что лечение кортикостероидами при COVID-19 либо не приносит пользы, либо вредно [57]. В настоящий мо-

мент опубликованы результаты РКИ RECOVERY [58]. В исследование включено 2104 пациента, которым назначен дексаметазон в дозе 6 мг/сутки в течение 10 дней, а 4321 – стандартную терапию. В течение 28 дней процент летальных исходов в первой группе составил 21,6%, во второй – 24,6%. В группе дексаметазона частота летальных исходов была ниже, чем в группе стандартной терапии, среди пациентов, получавших инвазивную искусственную вентиляцию лёгких (29,3% против 41,4%; соотношение частот, 0,64; 95% ДИ, 0,51–0,81) и среди пациентов, получавших кислород без инвазивной искусственной вентиляции лёгких (23,3% против 26,2%; коэффициент частоты 0,82; 95% ДИ от 0,72 до 0,94), но не среди тех, кто не получал респираторной поддержки (17,8% против 14,0%; соотношение частот 1,19; 95% ДИ от 0,91 до 1,55). На основании имеющихся данных можно сделать вывод о том, что назначение дексаметазона показано в небольших дозах только пациентам, находящимся в тяжёлом состоянии и требующим респираторной поддержки. В настоящее время продолжается РКИ, изучающее эффективность использования высоких доз дексаметазона (16 мг/сутки) в терапии ОРДС при COVID-19 [59].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, понимание патогенетических механизмов развития «цитокинового шторма» при COVID-19 открывает путь к изучению новых фармакологических мишеней и дальнейшей разработке препаратов, способных предотвратить осложнения и снизить летальность. Эффективность и безопасность применения большинства препаратов для лечения COVID-19 ещё предстоит изучить в качественно спланированных клинических исследованиях. Однако уже на данном этапе инструменты терапии патологических процессов, индуцированных вирусной инфекцией, представляются более надёжным решением в долгосрочной перспективе ввиду того, что вирусные белки-мишени обладают изменчивостью и видовой специфичностью. Это существенно ограничивает применение этиотропной терапии, в то время как типовые патологические процессы реагирования иммунной системы на инфекционный агент стабильны, что даёт возможность применять препараты, не опасаясь терапевтической устойчивости.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данный обзор не имел финансирования от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

В.И. Петров – планирование и редактирование обзора; А.А. Амосов – написание обзора;
А.С. Герасименко – написание обзора; О.В. Шаталова – написание обзора;
А.В. Пономарева – сбор материала для обзора; А.Н. Акинчиц – планирование и редактирование обзора,
И.С. Кулакова – сбор материала для обзора; В.С. Горбатенко – сбор материала для обзора.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis // *J Med Virol.* – 2020. – Vol. 92. – No.4. – P. 418–423. DOI: 10.1002/jmv.25681.
- Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu W., Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo L., Xie J., Wang G., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // *Lancet.* – 2020. – Vol. 395. – No.10223. – P. 497–506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- Tisoncik J.R., Korth M.J., Simmons C.P., Farrar J., Martin T.R., Katze M.G. Into the eye of the cytokine storm // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2012. – Vol. 76. – No.1. – P. 16–32. DOI: 10.1128/MMBR.05015-11
- Vaduganathan M., Vardeny O., Michel T., McMurray J.J.V., Pfeffer M.A., Solomon S.D. Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors in Patients with Covid-19 // *N Engl J Med.* – 2020. – Vol. 382. – No.17. – P. 1653–1659. DOI: 10.1056/NEJMSr2005760
- Garvin M.R., Alvarez C., Miller J.I., Prates E.T., Walker A.M., Amos B.K., Mast A.E., Justice A., Aronow B., Jacobson D. A mechanistic model and therapeutic interventions for COVID-19 involving a RAS-mediated bradykinin storm // *Elife.* – 2020. – Vol. 7. – No.9. – e59177. DOI: 10.7554/eLife.59177
- Pacurari M., Kafoury R., Tchounwou P.B., Ndebele K. The Renin-Angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling // *Int J Inflam.* – 2014. – Vol. 2014. – 689360. DOI: 10.1155/2014/689360
- Xu P., Sriramula S., Lazartigues E. ACE2/ANG-(1-7)/Mas pathway in the brain: the axis of good // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2011. – Vol. 300. – No.4. – P. 804–817. DOI: 10.1152/ajpregu.00222.2010
- Santos R.A., Ferreira A.J., Verano-Braga T., Bader M. Angiotensin-converting enzyme 2, angiotensin-(1-7) and Mas: new players of the renin-angiotensin system // *J Endocrinol.* – 2013. – Vol. 216. – No.2. – P. 1–17. DOI: 10.1530/JOE-12-0341
- Xu X., Cui L., Hou F., Liu X., Wang Y., Wen Y., Chi C., Li C., Liu R., Yin C. Angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7)-Mas axis prevents pancreatic acinar cell inflammatory response via inhibition of the p38 mitogen-activated protein kinase/nuclear factor- κ B pathway // *Int J Mol Med.* – 2018. – Vol. 41. – No. 1. – P. 409–420. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3252
- Magalhães G.S., Rodrigues-Machado M.G., Motta-Santos D., Silva A.R., Caliri M.V., Prata L.O., Abreu S.C., Rocco P.R., Barcelos L.S., Santos R.A., Campagnole-Santos M.J. Angiotensin-(1-7) attenuates airway remodelling and hyperresponsiveness in a model of chronic allergic lung inflammation // *Br J Pharmacol.* – 2015. – Vol. 172. – No.9. – P. 2330–2342. DOI: 10.1111/bph.13057
- Chang C.F., D'Souza W.N., Ch'en I.L., Pages G., Pouyssegur J., Hedrick S.M. Polar opposites: Erk direction of CD4 T cell subsets // *J Immunol.* – 2012. – Vol. 189. – No.2. – P. 721–731. DOI: 10.4049/jimmunol.1103015
- Mosmann T.R., Kobie J.J., Lee F.E., Quataert S.A. T helper cytokine patterns: defined subsets, random expression, and external modulation // *Immunol Res.* – 2009. – Vol. 45. – No.2–3. – P. 173–184. DOI: 10.1007/s12026-009-8098-5
- Guilliams M., Movahedi K., Bosschaerts T., VandenDriessche T., Chuah M.K., Hérin M., Acosta-Sanchez A., Ma L., Moser M., Van Ginderachter J.A., Brys L., De Baetselier P., Beschin A. IL-10 dampens TNF/inducible nitric oxide synthase-producing dendritic cell-mediated pathogenicity during parasitic infection // *J Immunol.* – 2009. – Vol. 182. – No.2. – P. 1107–1118. DOI: 10.4049/jimmunol.182.2.1107
- Soto M., diZerega G., Rodgers K.E. Countermeasure and therapeutic: A(1-7) to treat acute respiratory distress syndrome due to COVID-19 infection // *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* – 2020. – Vol. 21. – No.4. – 1470320320972018. DOI: 10.1177/1470320320972018
- Liu Y., Yang Y., Zhang C., Huang F., Wang F., Yuan J., Wang Z., Li J., Li J., Feng C., Zhang Z., Wang L., Peng L., Chen L., Qin Y., Zhao D., Tan S., Yin L., Xu J., Zhou C., Jiang C., Liu L. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury // *Sci China Life Sci.* – 2020. – Vol. 63. – No.3. – P. 364–374. DOI: 10.1007/s11427-020-1643-8
- Pirola C.J., Sookoian S. Estimation of Renin-Angiotensin-Aldosterone-System (RAAS)-Inhibitor effect on COVID-19 outcome: A Meta-analysis // *J Infect.* – 2020. – Vol. 81. – No.2. – P. 276–281. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.05.052
- Cheng H., Wang Y., Wang G.Q. Organ-protective effect of angiotensin-converting enzyme 2 and its effect on the prognosis of COVID-19 // *J Med Virol.* – 2020. – Vol. 92. – No.7. – P. 726–730. DOI: 10.1002/jmv.25785
- Sodhi C.P., Wohlford-Lenane C., Yamaguchi Y., Prindle T., Fulton W.B., Wang S., McCray P.B. Jr., Chappell M., Hackam D.J., Jia H. Attenuation of pulmonary ACE2 activity impairs inactivation of des-Arg9 bradykinin/BKB1R axis and facilitates LPS-induced neutrophil infiltration // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* – 2018. – Vol. 314. – No.1. – P. 17–31. DOI: 10.1152/ajplung.00498.2016
- Erdős E.G., Jackman H.L., Brovkovich V., Tan F., Deddish P.A. Products of angiotensin I hydrolysis by human cardiac enzymes potentiate bradykinin // *J Mol Cell Cardiol.* – 2002. – Vol. 34. – No.12. – P. 1569–1576. DOI: 10.1006/jmcc.2002.2080
- Kaplan A.P., Ghebrehwet B. The plasma bradykinin-forming pathways and its interrelationships with complement // *Mol Immunol.* – 2010. – Vol. 47. – No.13. – P. 2161–2169. DOI: 10.1016/j.molimm.2010.05.010
- Gao T., Hu M., Zhang X., et al. Highly pathogenic coronavirus N protein aggravates lung injury by MASP-2-mediated complement over-activation // *medRxiv.* – 2020.03.29.20041962 DOI:10.1101/2020.03.29.20041962
- Dobó J., Kocsis A., Gál P. Be on Target: Strategies of Targeting Alternative and Lectin Pathway Components in Complement-Mediated Diseases // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 8. – No. 9. – P. 1851. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01851
- Schindler R., Gelfand J.A., Dinarello C.A. Recombinant C5a stimulates transcription rather than translation of interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor: translational signal provided by lipopolysaccharide or IL-1 itself // *Blood.* – 1990. – Vol. 76. – No.8. – P. 1631–1638.
- Viedt C., Hänsch G.M., Brandes R.P., Kübler W., Kreuzer J. The terminal complement complex C5b-9 stimulates interleukin-6 production in human smooth muscle cells through activation of transcription factors NF- κ B and AP-1 // *FASEB J.* – 2000. – Vol. 14. – No.15. – P. 2370–2372. DOI: 10.1096/fj.00-0468fje
- Torzewski J., Oldroyd R., Lachmann P., Fitzsimmons C., Proudfoot D., Bowyer D. Complement-induced release of monocyte chemotactic protein-1 from human smooth muscle cells. A possible initiating event in atherosclerotic lesion formation // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1996. – Vol. 16. – No. 5. – P. 673–677. DOI: 10.1161/01.atv.16.5.673
- Laudisi F., Spreafico R., Evrard M., Hughes T.R., Mandriani B., Kandasamy M., Morgan B.P., Sivasankar B., Mortellaro

- A. Cutting edge: the NLRP3 inflammasome links complement-mediated inflammation and IL-1 β release // *J Immunol.* – 2013. – Vol. 191. – No. 3. – P. 1006–1010. DOI: 10.4049/jimmunol.1300489
27. Rambaldi A., Gritti G., Micò M.C., Frigeni M., Borleri G., Salvi A., Landi F., Pavoni C., Sonzogni A., Gianatti A., Binda F., Fagioli S., Di Marco F., Lorini L., Remuzzi G., Whitaker S., Demopoulos G. Endothelial injury and thrombotic microangiopathy in COVID-19: Treatment with the lectin-pathway inhibitor narsoplimab // *Immunobiology.* – 2020. – Vol. 225. – No. 6. DOI: 10.1016/j.imbio.2020.152001
 28. Gralinski L.E., Sheahan T.P., Morrison T.E., Menachery V.D., Jensen K., Leist S.R., Whitmore A., Heise M.T., Baric R.S. Complement Activation Contributes to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Pathogenesis // *mBio.* – 2018. – Vol. 9. – No. 5. – P. e01753–18 DOI: 10.1128/mBio.01753-18
 29. Kaneiwa T., Mizumoto S., Sugahara K., Yamada S. Identification of human hyaluronidase-4 as a novel chondroitin sulfate hydrolase that preferentially cleaves the galactosaminidic linkage in the trisulfated tetrasaccharide sequence // *Glycobiology.* – 2010. – Vol. 20. – No. 3. – P. 300–309. DOI: 10.1093/glycob/cwp174
 30. Harada H., Takahashi M. CD44-dependent intracellular and extracellular catabolism of hyaluronic acid by hyaluronidase-1 and -2 // *J Biol Chem.* – 2007. – Vol. 282. – No. 8. – P. 5597–5607. DOI: 10.1074/jbc.M608358200
 31. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C., Liu S., Zhao P., Liu H., Zhu L., Tai Y., Bai C., Gao T., Song J., Xia P., Dong J., Zhao J., Wang F.S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome // *Lancet Respir Med.* – 2020. – Vol. 8. – No. 4. – P. 420–422. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X
 32. Hällgren R., Samuelsson T., Laurent T.C., Modig J. Accumulation of hyaluronan (hyaluronic acid) in the lung in adult respiratory distress syndrome // *Am Rev Respir Dis.* – 1989. – Vol. 139. – No. 3. – P. 682–687. DOI: 10.1164/ajrccm/139.3.682
 33. Bell T.J., Brand O.J., Morgan D.J., Salek-Ardakani S., Jagger C., Fujimori T., Cholewa L., Tilakaratna V., Östling J., Thomas M., Day A.J., Snelgrove R.J., Hussell T. Defective lung function following influenza virus is due to prolonged, reversible hyaluronan synthesis // *Matrix Biol.* – 2019. – Vol. 80. – P. 14–28. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.06.006
 34. Hellman U., Karlsson M.G., Engström-Laurent A., Cajander S., Dorofte L., Ahlm C., Laurent C., Blomberg A. Presence of hyaluronan in lung alveoli in severe Covid-19: An opening for new treatment options? // *J Biol Chem.* – 2020. – Vol. 295. – No. 45. – P. 15418–15422. DOI: 10.1074/jbc.AC120.015967
 35. Safari S., Salimi A., Zali A., Jahangirifard A., Bastanagh E., Aminnejad R., Dabbagh A., Lotfi A.H., Saeidi M. Extracorporeal Hemoperfusion as a Potential Therapeutic Option for Severe COVID-19 patients; a Narrative Review // *Arch Acad Emerg Med.* – 2020. – Vol. 8. – No. 1. – P. e67.
 36. Haschke M., Schuster M., Poglitsch M., Loibner H., Salzberg M., Bruggisser M., Penninger J., Krähenbühl S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 in healthy human subjects // *Clin Pharmacokinet.* – 2013. – Vol. 52. – No. 9. – P. 783–792. DOI: 10.1007/s40262-013-0072-7
 37. Khan A., Benthin C., Zeno B., Albertson T.E., Boyd J., Christie J.D., Hall R., Poirier G., Ronco J.J., Tidswell M., Hards K., Powley W.M., Wright T.J., Siederer S.K., Fairman D.A., Lipson D.A., Bayliffe A.I., Lazaar A.L. A pilot clinical trial of recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 in acute respiratory distress syndrome // *Crit Care.* – 2017. – Vol. 21. – No. 1. – P. 234. DOI: 10.1186/s13054-017-1823-x
 38. Monteil V., Kwon H., Prado P., Hagelkrüys A., Wimmer R.A., Stahl M., Leopoldi A., Garreta E., Hurtado Del Pozo C., Prosper F., Romero J.P., Wirnsberger G., Zhang H., Slutsky A.S., Conder R., Montserrat N., Mirazimi A., Penninger J.M. Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2 // *Cell.* – 2020. – Vol. 181. – No. 4. – P. 905–913 DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.004
 39. Peiró C., Moncada S. Substituting Angiotensin-(1-7) to Prevent Lung Damage in SARS-CoV-2 Infection? // *Circulation.* – 2020. – Vol. 141. – No. 21. – P. 1665–1666. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047297
 40. Grant W.B., Lahore H., McDonnell S.L., Baggerly C.A., French C.B., Aliano J.L., Bhattoa H.P. Evidence that Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 12. – No. 4. – P. 988. DOI: 10.3390/nu12040988
 41. Li Y.C., Qiao G., Uskokovic M., Xiang W., Zheng W., Kong J. Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2004. – P. 387–392. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2004.03.004
 42. Maghbooli Z., Sahraian M.A., Ebrahimi M., Pazoki M., Kafan S., Tabriz H.M., Hadadi A., Montazeri M., Nasiri M., Shirvani A., Holick M.F. Vitamin D sufficiency, a serum 25-hydroxyvitamin D at least 30 ng/mL reduced risk for adverse clinical outcomes in patients with COVID-19 infection // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15. – No. 9. – P. e0239799. DOI: 10.1371/journal.pone.0239799
 43. Rejmark L., Bislev L.S., Cashman K.D., Eiríksdóttir G., Gaksch M., Gröbler M., Grimnes G., Gudnason V., Lips P., Pilz S., van Schoor N.M., Kiely M., Jorde R. Non-skeletal health effects of vitamin D supplementation: A systematic review on findings from meta-analyses summarizing trial data // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12. – No. 7. – P. e0180512. DOI: 10.1371/journal.pone.0180512
 44. Martineau A.R., Jolliffe D.A., Hooper R.L., Greenberg L., Aloia J.F., Bergman P., Dubnov-Raz G., Esposito S., Ganmaa D., Ginde A.A., Goodall E.C., Grant C.C., Griffiths C.J., Janssens W., Laaksi I., Manaseki-Holland S., Mauger D., Murdoch D.R., Neale R., Rees J.R., Simpson S. Jr., Stelmach I., Kumar G.T., Urashima M., Camargo C.A. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data // *BMJ.* – 2017. – Vol. 356. – P. i6583. DOI: 10.1136/bmj.i6583
 45. Bozó É., Éles J., Keserű G.M. Bradykinin B1 receptor antagonists: a patent update 2009 – 2012 // *Expert Opin Ther Pat.* – 2012. – Vol. 22. – No. 12. – P. 1443–1452. DOI: 10.1517/13543776.2012.730521
 46. Thomson T.M., Toscano E., Casis E., Paciucci R. C1-INH and the contact system in COVID-19 // *Br J Haematol.* 2020. – Vol. 190. – No. 4. – P. 520–524. DOI: 10.1111/bjh.16938.
 47. Urwyler P., Moser S., Charitos P., Heijnen I.A.F.M., Rudin M., Sommer G., Giannetti B.M., Bassetti S., Sendi P., Trendelenburg M., Osthoff M. Treatment of COVID-19 With Conestat Alfa, a Regulator of the Complement, Contact Activation and Kallikrein-Kinin System // *Front Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 2072. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02072
 48. van de Veerdonk F.L., Koutijzer I.J.E., de Nooijer A.H., van der Hoeven H.G., Maas C., Netea M.G., Brüggemann R.J.M. Outcomes Associated With Use of a Kinin B2 Receptor Antagonist Among Patients With COVID-19 // *JAMA Netw Open.* – 2020. – Vol. 3. – No. 8. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.17708
 49. Diurno F., Numis F.G., Porta G., Cirillo F., Maddaluno S., Ragozzino A., De Negri P., Di Gennaro C., Pagano A.,

- Allegorico E, Bressy L, Bosso G, Ferrara A, Serra C, Montisci A, D'Amico M, Schiano Lo Morello S, Di Costanzo G, Tucci AG, Marchetti P, Di Vincenzo U., Sorrentino I., Casciotta A., Fusco M., Buonerba C., Berretta M., Ceccarelli M., Nunnari G., Diessa Y., Cicala S., Facchini G. Eculizumab treatment in patients with COVID-19: preliminary results from real life ASL Napoli 2 Nord experience // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2020. – Vol. 24. – No.7. – P. 4040–4047. DOI: 10.26355/eurev_202004_20875
50. Mastellos D.C., Ricklin D., Lambris J.D. Clinical promise of next-generation complement therapeutics // *Nat Rev Drug Discov.* – 2019. – Vol. 18. – No.9. – P. 707–729. DOI: 10.1038/s41573-019-0031-6
51. Mastellos D.C., Pires da Silva B.G.P., Fonseca B.A.L., Fonseca N.P., Auxiliadora-Martins M., Mastaglio S., Ruggeri A., Sironi M., Radermacher P., Chrysanthopoulou A., Skendros P., Ritis K., Manfra I., Iacobelli S., Huber-Lang M., Nilsson B., Yancopoulos D., Connolly E.S., Garlanda C., Ciceri F., Risitano A.M., Calado R.T., Lambris J.D. Complement C3 vs C5 inhibition in severe COVID-19: Early clinical findings reveal differential biological efficacy // *Clin Immunol.* – 2020. – Vol. 220. – P. 108598. DOI: 10.1016/j.clim.2020.108598
52. Wang X., Sahu K.K., Cerny J. Coagulopathy, endothelial dysfunction, thrombotic microangiopathy and complement activation: potential role of complement system inhibition in COVID-19 // *J Thromb Thrombolysis.* – 2020. – Vol. 1–6. DOI: 10.1007/s11239-020-02297-z
53. Shi Y., Wang Y., Shao C., Huang J., Gan J., Huang X., Bucci E., Piacentini M., Ippolito G., Melino G. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses // *Cell Death Differ.* – 2020. – Vol. 27. – No.5. – P. 1451–1454. DOI: 10.1038/s41418-020-0530-3
54. Kultti A., Pasonen-Seppänen S., Jauhiainen M., Rilla K.J., Kärnä R., Pyöriä E., Tammi R.H., Tammi M.I. 4-Methylumbelliferone inhibits hyaluronan synthesis by depletion of cellular UDP-glucuronic acid and downregulation of hyaluronan synthase 2 and 3 // *Exp Cell Res.* – 2009. – Vol. 315. – No.11. – P. 1914–1923. DOI: 10.1016/j.yexcr.2009.03.002
55. Nasonov E., Samsonov M. The role of Interleukin 6 inhibitors in therapy of severe COVID-19 // *Biomed Pharmacother.* – 2020. – Vol. 131. – P. 110698. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110698
56. Kaye A.G., Siegel R. The efficacy of IL-6 inhibitor Tocilizumab in reducing severe COVID-19 mortality: a systematic review // *PeerJ.* – 2020. – Vol. 2. – No.8. – P.e10322. DOI: 10.7717/peerj.10322
57. Rafiullah M., Siddiqui K. Corticosteroid use in viral pneumonia: experience so far and the dexamethasone breakthrough in coronavirus disease-2019 // *J Comp Eff Res.* – 2020. – Vol. 9. – No.18. – P. 1247–1254. DOI: 10.2217/ceer-2020-0146
58. RECOVERY Collaborative Group; Horby P., Lim W.S., Emberson J.R., Mafham M., Bell J.L., Linsell L., Staplin N., Brightling C., Ustianowski A., Elmahi E., Prudon B., Green C., Felton T., Chadwick D., Rege K., Fegan C., Chappell L.C., Faust S.N., Jaki T., Jeffery K., Montgomery A., Rowan K., Juszczak E., Baillie J.K., Haynes R., Landray M.J. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 – Preliminary Report // *N Engl J Med.* – 2021. – Vol. 384. – No.8. – P. 693–704. DOI: 10.1056/NEJMoa2021436
59. Maskin LP, Olarte GL, Palizas F Jr, Velo AE, Lurbet MF, Bonelli I, Baredes ND, Rodríguez PO. High dose dexamethasone treatment for Acute Respiratory Distress Syndrome secondary to COVID-19: a structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials.* – 2020. – Vol. 21. – No.1. – P. 743. DOI: 10.1186/s13063-020-04646-y

АВТОРЫ

Петров Владимир Иванович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России; главный внештатный специалист – клинический фармаколог Министерства здравоохранения Российской Федерации, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный врач РФ. ORCID ID: 0000-0002-0258-4092. E-mail: brain@sprintnet.ru

Амосов Александр Александрович – студент 6-го курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4539-7577. E-mail: aleksandr.amosov.1998@mail.ru

Герасименко Анастасия Сергеевна – ассистент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7957-3770. E-mail: 16any_61@mail.ru

Шаталова Ольга Викторовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский уни-

верситет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7311-4549. E-mail: shov_med@mail.ru

Пономарева Анжелика Викторовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8237-8335. E-mail: angelvr@yandex.ru

Акинчиц Александр Николаевич – доктор медицинских наук, доцент, первый проректор ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5428-3179. E-mail: aakochetova@volgmed.ru

Кулакова Ираида Сахаветовна – студентка 6 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2717-8218. E-mail: iraida97@mail.ru

Горбатенко Владислав Сергеевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6565-2566. E-mail: vlad30.03@mail.ru

УДК 615.03+575



ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОГО НАЗНАЧЕНИЯ АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ В РАЗЛИЧНЫХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ

Б.И. Кантемирова¹, Е.А. Орлова¹, О.С. Полунина¹, Е.Н. Чернышева¹, М.А. Абдуллаев¹, Д.А. Сычев²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

414000, Россия, Астраханская область, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации
125993, Россия, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

E-mail: belakantemirova@rambler.ru

Получено 10.11.2020

Принята к печати 25.12.2020

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной инвалидности и смертности населения во всем мире. Повышенное тромбообразование является пусковым моментом развития различных ССЗ и их осложнений, в связи с чем, терапия ингибиторами P2Y₁₂-рецепторов всегда является патогенетически обоснованной и жизненно необходимой. Однако, по разным данным, у 10-25% пациентов, получающих клопидогрел, отмечается «резистентность» к антиагрегантной терапии. Причины формирования резистентности до сих пор не ясны. Общеизвестной, стандартной методики определения резистентности к антиагрегантам не существует. Кроме того, нет методологических подходов по выявлению пациентов с невосприимчивостью к антиагрегационным препаратам и стандартизованных схем коррекции низкой чувствительности к ним.

Цель. Целью написания данного обзора было резюмировать имеющиеся результаты зарубежных и отечественных исследований, посвященных изучению вопросов эффективности и безопасности назначения антитромбоцитарных препаратов с позиции генетической предрасположенности к изменению их метаболизма.

Материалы и методы. Для обзора использовали сведения научной литературы из открытых и доступных источников за период 1996–2020 гг., размещенных в электронных базах данных: pharmpkb.org; PubMed; Scopus; Web of Science Core Collection; Elibrary. Поисковые запросы – «генетические особенности+антиагрегационная терапия+этнические группы», «CYP2C19+клопидогрел+эффективность антитромбоцитарной терапии»; «ретромбоз стента+полиморфизм CYP2C19+остаточная реактивность тромбоцитов» и «полиморфизм CYP2C19+этнические группы+резистентность к клопидогрелу» как в русском, так и английском эквиваленте.

Результаты. Проблема формирования резистентности к антиагрегационным препаратам в настоящее время изучена недостаточно. Наиболее проработанным вопросом является изучение влияния носительства полиморфных аллелей гена CYP2C19 на остаточную реактивность тромбоцитов, у пациентов получающих двойную антиагрегационную терапию, включающую клопидогрел. Анализ открытых литературных источников, в целом, свидетельствует о наличии статистически значимой ассоциативной связи между носительством медленных аллелей гена CYP2C19 и остаточной реактивностью тромбоцитов, клинически проявляющуюся тромбозом и неблагоприятными сердечно-сосудистыми событиями. Частота встречаемости полиморфного носительства гена CYP2C19 варьирует в разных этнических группах, поэтому не может быть экстраполирована на отдельные субъекты, отличающиеся этническим разнообразием.

Заключение. Для разработки превентивных и предиктивных мер по преодолению резистентности к антиагрегантам, а также методологических подходов к персонализированному назначению препаратов этой группы, требуются дальнейшие исследования, с расширением поиска причин и изучением участия других генов системы цитохрома P450.

Ключевые слова: антиагреганты; клопидогрел; фармакогенетика; этнические группы; резистентность к антиагрегантной терапии

Список сокращений: ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ССП – сердечно-сосудистая патология; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; АСК – ацетилсалициловая кислота; ССО – сердечно-сосудистые осложнения; ИМ – инфаркт миокарда; ОКС – острый коронарный синдром; ИБС – ишемическая болезнь сердца.

Для цитирования: Б.И. Кантемирова, Е.А. Орлова, О.С. Полунина, Е.Н. Чернышева, М.А. Абдуллаев, Д.А. Сычев. Фармакогенетические основы индивидуальной чувствительности и персонализированного назначения антиагрегантной терапии в различных этнических группах. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):392-404. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-392-404

© Б.И. Кантемирова, Е.А. Орлова, О.С. Полунина, Е.Н. Чернышева, М.А. Абдуллаев, Д.А. Сычев, 2020

For citation: B.I. Kantemirova, E.A. Orlova, O.S. Polunina, E.N. Chernysheva, M.A. Abdullaev, D.A. Sychev. Pharmacogenetic bases of individual sensitivity and personalized administration of antiplatelet therapy in different ethnic groups. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):392-404. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-392-404

PHARMACOGENETIC BASES OF INDIVIDUAL SENSITIVITY AND PERSONALIZED ADMINISTRATION OF ANTIPLATELET THERAPY IN DIFFERENT ETHNIC GROUPS

B.I. Kantemirova¹, E.A. Orlova¹, O.S. Polunina¹, E.N. Chernysheva¹, M.A. Abdullaev¹, D.A. Sychev²

¹ Astrakhan State Medical University

121, Bakinskaya Str., Astrakhan, Russia 414000

² Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (RMA CPE)

Bld. 1, 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, Russia, 125993

E-mail: belakantemirova@rambler.ru

Received 10 Nov 2020

Accepted 25 Dec 2020

Cardiovascular diseases (CVDs) are the leading cause of disability and mortality worldwide. Increased thrombosis is the trigger point for the development of various CVDs and their complications, and therefore, therapy with P2Y₁₂-receptor inhibitors is always pathogenetically justified and vital. However, according to the various data, 10-25% of patients treated with clopidogrel have "resistance" to antiplatelet therapy. The causes for the formation of resistance are still not clear. There is no generally accepted, standard methodology for determining resistance to antiplatelet agents. In addition, there are no methodological approaches to identify the patients with resistance to antiplatelet drugs, and standardized schemes for correcting a low sensitivity to these drugs.

The aim of this review was to summarize the available results of foreign and domestic studies devoted to the investigation of the effectiveness and safety problems of antiplatelet drugs administration from the point of view of the genetic predisposition to changes in their metabolism.

Materials and methods. For the review, the following information from scientific literature represented in open and accessible sources for the period of 1996-2020, was used: pharmpkb.org, PubMed, Scopus, Web of Science Core Collection, Elibrary. Search queries – "Genetic features+antiplatelet therapy+ethnic groups", "CYP2C19+clopidogrel+antiplatelet therapy effectiveness"; "Stent retrombosis+CYP2C19 polymorphism+ residual platelet reactivity" and "CYP2C19 polymorphism+ethnic groups+clopidogrel resistance" in both Russian and English equivalents. All these data are placed in electronic databases.

Results. Currently, the problem of the resistance formation to antiplatelet drugs is studied insufficiently. The best thought-out issue is the research of the effect of the polymorphic alleles carriage of the CYP2C19 gene on the residual platelet reactivity in the patients administrated with dual antiplatelet treatment, including clopidogrel. In general, the analysis of open literature sources indicates the presence of a statistically significant association between the carrier of slow alleles of the CYP2C19 gene and the residual platelet reactivity, clinically manifested by thrombosis and adverse cardiovascular events. The occurrence frequency of polymorphic carriage of the CYP2C19 gene varies in different ethnic groups, so it cannot be extrapolated to individual subjects, peculiar in the ethnic diversity.

Conclusion. To develop preventive and predictive measures aimed at overcoming resistance to antiplatelet agents, as well as working out methodological approaches to personalized prescription of this group drugs, a further investigation with the expansion of the search for causes and the study of the other genes participation of the cytochrome P450 system, is required.

Keywords: antiplatelet agents; clopidogrel; pharmacogenetics; ethnic groups; resistance to antiplatelet therapy

Abbreviations: CVD – cardiovascular diseases; CVC – cardiovascular pathology; PCI – percutaneous coronary intervention; ASA – acetylsalicylic acid; CVD – cardiovascular complication; MI – myocardial infarction; ACS – acute coronary syndrome; CHD – coronary heart disease.

ВВЕДЕНИЕ

Современный мир охватила эпидемия инфекционных и неинфекционных заболеваний [1]. Ведущей причиной смертности и инвалидности населения в настоящее время являются сердечно – сосудистые заболевания (ССЗ). В Российской Федерации на 100 тысяч взрослого населения патология системы кровообращения диагностирована у 27355,3 человек, в качестве причины смерти заболевания сердечно-сосудистой системы составляют 56,8% [2].

Сердечно – сосудистая патология (ССП) существенно нарушает привычный образ жизни пациентов, способствует инвалидизации и меди-

ко-социальной дизадаптации. Роль избыточного функционирования тромбоцитов в патогенезе сердечно – сосудистых осложнений во многом является определяющей, поскольку системность микроциркуляторных нарушений влечет за собой дальнейшие, более необратимые последствия. В связи с чем патогенетическая, антиагрегантная терапия ССЗ осуществляется длительно, при этом обязательными условиями ее проведения являются эффективность и безопасность.

В клинической практике довольно часто приходится наблюдать пациентов с отсутствием восприимчивости даже к двойной антиагрегационной

терапии. У таких больных развиваются серьезные сердечно-сосудистые события: внезапная смерть, инфаркт миокарда (ИМ), ишемический инсульт, нестабильная стенокардия и тромбоз стента, который может быть повторным после проведения чрезкожного коронарного вмешательства (ЧКВ) [3].

Отсутствие эффекта на терапию ацетилсалициловой кислотой (АСК) встречается, в среднем, у 54,8% больных, и у 10–25% пациентов, получающих клопидогрел [4–6]. Как показывают многочисленные отечественные и зарубежные исследования риск развития инфаркта миокарда (ИМ), эпизодов нестабильной стенокардии, ишемического инсульта у пациентов с резистентностью к антитромбоцитарной терапии в 2,5–3,5 раза выше, чем у пациентов к ней чувствительных. Проведенные исследования демонстрируют различную этническую чувствительность к клопидогрелу, обусловленную вариабельностью частоты встречаемости медленных аллелей гена CYP2C19.

В связи с чем, изучение генетических причин развития резистентности в различных этнических группах, на наш взгляд, имеет перспективное научно-практическое значение.

ЦЕЛЬ. Резюмировать имеющиеся результаты зарубежных и отечественных исследований, посвященных изучению вопросов эффективности и безопасности назначения антитромбоцитарных препаратов с позиции генетической предрасположенности к изменению метаболизма назначаемых средств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для обзора использовали сведения научной литературы из открытых и доступных источников за период 1996–2020 гг., размещенных в электронных базах данных: pharmsgkb.org; PubMed; Scopus; Web of Science Core Collection; Elibrary. Поисковые запросы: «генетические особенности+антиагрегационная терапия+этнические группы»; «CYP2C19+клопидогрел+эффективность антитромбоцитарной терапии»; «ретромбоз стента+полиморфизм CYP2C19+остаточная реактивность тромбоцитов»; «полиморфизм CYP2C19+этнические группы+резистентность к клопидогрелу» как в русском, так и английском эквиваленте.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Метаболизм клопидогрела

Наиболее часто в качестве антитромбоцитарной терапии назначают клопидогрел в сочетании с ацетилсалициловой кислотой. Клопидогрел является пролекарством, что требует его трансформации в печени до активного метаболита, способного оказать

деагрегационный эффект. Всасывание препарата в кишечнике происходит с участием Р-гликопротеина, синтез которого регулируется геном MDR1 (ABCB1). В случае носительства полиморфных аллелей гена ABCB1 (аллели CC, CT, TT) активность клопидогрела при его абсорбции может меняться [7]. Примерно 85% всосавшегося препарата под действием ферментов печени дезактивируются, в то время как 15% при участии изоферментов цитохрома P450 CYP1A2, CYP2B6 и CYP2C19, превращаются в промежуточный метаболит 2-оксо-клопидогрел (тиолактон). Далее из промежуточного неактивного метаболита, преимущественно при участии CYP2C19, образуется активное соединение R130964, которое ингибирует агрегацию тромбоцитов посредством необратимой блокады АДФ P2Y₁₂ на поверхности тромбоцитов. Наиболее изученным является носительство полиморфных аллелей CYP2C19, связанных с полной утратой или снижением функции фермента, при которых образования активного метаболита клопидогрела не происходит [8–10]. Участие других ферментов цитохрома P450 требует дальнейшего глубокого изучения и систематизации.

Методами генетической идентификации обнаружен ряд аллелей, связанных с изменением активности фермента CYP2C19: полной потерей, например CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*4, CYP2C19*5, CYP2C19*6, CYP2C19*7, CYP2C19*8; со снижением активности, например CYP2C19 * 9, CYP2C19 * 11, CYP2C19 *13; или повышением активности – CYP2C19*17. В случае утраты или потери функции фермента CYP2C19, образование активных метаболитов клопидогрела не происходит, что клинически может проявиться активацией процесса тромбообразования. В случае носительства полиморфного аллеля, ответственного за быструю скорость метаболических реакций, у ряда индивидуумов могут наблюдаться нежелательные побочные эффекты, связанные с чрезмерной дезагрегационной активностью, например, различной степени выраженности геморрагии [11].

Опыт исследователей из других стран

Зарубежные фармакокинетические и фармакодинамические исследования продемонстрировали широкую вариабельность концентрации активного метаболита клопидогрела и изменчивость подавления функции тромбоцитов после приема клопидогрела в стандартной дозе. Имеются значительные отличия в распределении полиморфных аллелей CYP2C19. Причем отличия касаются как отдельных индивидуумов, так и этнических популяций, проживающих на определенных территориях [12–14].

Таблица 1 – Сводные сведения по проведенному анализу литературных источников

Страна	Вид исследования	Краткие результаты/выводы	Ссылка на источник литературы
США	Рандомизированное двойное слепое исследование с активным контролем (оценка реактивности с помощью анализа Verify Now – влияние на тромбоз и безопасность [GRAVITAS]) 2214 пациентов с высокой реактивностью на лечение через 12–24 часа после ЧКВ, со стентами, в 83 центрах в Северной Америке в период с июля 2008 по апрель 2010 года.	Установлено, что проблема резистентности к клопидогрелу не решается увеличением дозы препарата. Необходимо генетическое тестирование на предмет носительства полиморфных аллелей гена CYP2C19 2*;3* с потерей функциональной активности фермента	[15]
США	Общегеномное, ассоциативное исследование реактивности тромбоцитов и сердечно-сосудистых событий у пациентов, получавших клопидогрел (GWAS). В исследовании приняли участие 2750 человек европейского происхождения, чьи ДНК были генотипированы.	Ответ на клопидогрел имеет значительную вариабельность. Исследование GWAS не выявило ни одного другого SNP, кроме CYP2C19*2, чье бы значение достигло общегеномной значимости.	[21]
США	Проспективное, рандомизированное, контролируемое исследование антиагрегантной терапии, с учетом ассоциации генотипа CYP2C19 и фактических клинических данных	Разработанный документ представляет собой обновление руководства Консорциума по клиническому использованию результатов тестирования генотипа CYP2C19 для пациентов, нуждающихся в антитромбоцитарной терапии. Документ свидетельствует о наличии межиндивидуальной, межэтнической вариабельности распределения частот полиморфных аллелей CYP2C19	[32]
ВЕЛИКО-БРИТАНИЯ	Ассоциативное клиническое исследование с 1.04 1996 года по 1.04.2008 года 259 молодых пациентов (в возрасте <45 лет)	Генетический вариант CYP2C19*2 является основным фактором, определяющим прогноз у молодых пациентов, получающих лечение клопидогрелом, после инфаркта миокарда.	[22]
ВЕЛИКО-БРИТАНИЯ	Общегеномное, ассоциативное клиническое наблюдение у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) с подъемом сегмента ST и без подъема ST (n=2208 человек), получавших клопидогрел	Пациенты – носители двух аллелей гена CYP2C19 *2;*3 были более подвержены риску развития «конечной точки», чем в группе пациентов без полиморфного носительства	[23]
ПОЛЬША	Позиционный документ рабочей группы по устойчивости к антитромбоцитарным препаратам, назначенной секцией сердечно-сосудистых вмешательств польского кардиологического общества, одобренный рабочей группой по тромбозам европейского кардиологического общества (включая 91 источник)	Исследования доказали значительную межиндивидуальную, этническую чувствительность к клопидогрелу. Кроме того, изучены полиморфизмы в генах Р-гликопротеина и пуринергического рецептора P2Y12 (рецептора для действия клопидогрела) и их роли в реактивности клопидогрела. Был сделан вывод о том, что рассмотрение генотипа ABCB1 в дополнение к CYP2C19 позволяет лучше предсказать формирование резистентности к клопидогрелу.	[16]
ГЕРМАНИЯ	В 2008 году в Германии у 797 пациентов был изучен 2C19 681G> полиморфизм цитохрома P450 и феномен высокой реактивности тромбоцитов на фоне приема клопидогрела.	Установлено, что носители полиморфных, нефункциональных аллелей CYP2C19 ассоциированы с повышенной остаточной активностью тромбоцитов и неблагоприятным клиническим исходом планового ЧКВ в течение первого года.	[37]
КИТАЙ	Общегеномное, ассоциативное клиническое исследование с изучением влияния носительства полиморфных аллелей CYP2C19*2, ABCB1 и PON1 на фармакодинамику клопидогрела и клинические исходы у 670 китайских пациентов после ЧКВ.	Результаты свидетельствуют об этнической специфичности распространенности аллеля CYP2C19*2. Частота встречаемости CYP2C19*2 у китайцев выше, чем у европейцев, поэтому случаев неэффективности антитромбоцитарной терапии и применения ЧКВ в китайской этнической группе сопоставимо больше.	[34]

Страна	Вид исследования	Краткие результаты/выводы	Ссылка на источник литературы
КИТАЙ	Сравнительный анализ встречаемости частот полиморфного носительства CYP2C19 по сравнению с кавказскими и восточными этническими группами	Анализ генотипов CYP2C19 у 107 тайцев показал, что частоты аллелей для CYP2C19*1, CYP2C19*2 и CYP2C19*3 имеют этническую специфичность в распределении. Частоты дефектных аллелей CYP2C19 у тайцев, особенно CYP2C19*3, были ниже, чем в других восточных популяциях.	[36]
ЯПОНИЯ	Ассоциативное клинико-фармакогенетическое обследование 114 пациентов, перенесших ЧКВ	Авторы пришли к выводу, что не только межиндивидуальное различие в носительстве полиморфных аллелей CYP2C19 в японской популяции влияет на чувствительность к клопидогрелу, но и уровень гиперлипидемии. Авторами разработан многофакторный алгоритм прогноза индивидуального ответа на терапию клопидогрелом.	[29]
ЮЖНАЯ КОРЕЯ	В мета-анализ были включены 16 проспективных когортных исследований, включающих 7 035 пациентов, несущих ≥ 1 аллель CYP2C19 LOF (потеря функции), и 13750 пациентов с генотипом дикого типа	Стратифицированный анализ по этнической принадлежности исследуемой популяции показал более высокие шансы неблагоприятных клинических событий в азиатской популяции с вариантами LOFCYP2C19 (или 1,89, 95% ДИ 1,32-2,72) по сравнению с Западной популяцией (или 1,28, 95% ДИ 1,00–1,64).	[33]
ИСПАНИЯ	Сравнительное изучение частоты встречаемости полиморфных генов CYP2C8, CYP2C9 и CYP2C19 в этнических группах испанцев (n=282) и эквадорских метисов (n=297)	Установлена этническая специфичность в распределении частот встречаемости полиморфных аллелей CYP2C19. Частота аллелей CYP2C19*17 была выше у эквадорцев, чем у испанцев ($P<0,001$), а частота CYP2C19*3 была одинаковой в изучаемых группах. Выявлялась более высокая активность CYP2C8, CYP2C9 и CYP2C19 у метисов-эквадорцев в отличие от испанцев.	[40]
КАНАДА	Исследован CYP2C19-ассоциированный полиморфизм мефенитоина в популяции инуитов, проживающих в Канаде (n=152)	Установлена этническая специфичность в распределении частот встречаемости полиморфных аллелей CYP2C19. Полиморфизм CYP2C19*2 в этой этнической группе не обнаружен. По частоте фенотипов и по молекулярной основе полиморфизма канадские инуиты близки к кавказским, а не к азиатским этническим группам.	[41]
ХОРВАТИЯ	Генотипированы 200 образцов крови для изучения распространенности аллельных вариантов CYP2C9, CYP2C19 и CYP2D6 в хорватской этнической группе	Для CYP2C19 наиболее частыми аллелями были CYP2C19*1 и CYP2C19*2, с частотами 0,85 и 0,15. Частоты встречаемости полиморфных аллелей CYP2C19 в хорватской этнической группе оказались сопоставимы со среднеевропейскими и средиземноморскими популяциями	[43]
СИНГАПУР	Исследована функциональная значимость SNP CYP2C19*2, *3, *17 и у азиатских пациентов, получавших лечение клопидогрелом, и распространенность функционально значимых полиморфизмов среди 300 китайцев, малайцев и азиатских индийцев.	Установлены межэтнические различия в распределении частот генотипов CYP2C19. Для изучения ответа на клопидогрел предложено исследовать полиморфизмы CYP2C19*2 и *3, но не *17 у китайцев, и полиморфизмы CYP2C19*2 и *17, но не *3 у индийцев. У малайцев должны быть генотипированы все три полиморфизма	[45]
РОССИЯ	Сравнительно оценена частота встречаемости полиморфных аллелей CYP2C19 у пациентов центральной части России и Сибири	Выявлена межэтническая вариабельность распределения полиморфных аллелей гена CYP2C19	[47]
РОССИЯ	Определена частота встречаемости полиморфных аллелей генов метаболизма и транспортных белков в трех этнических группах Дагестана	Выявлена межэтническая вариабельность распределения полиморфных аллелей гена CYP2C19	[14]

Страна	Вид исследования	Краткие результаты/выводы	Ссылка на источник литературы
РОССИЯ	Проведена работа по оценке влияния полиморфизмов генов CYP2C19, ABCB1 и низкой активности изофермента CYP3A4 на развитие осложнений после имплантации стента у пациентов с ОКС	Отмечалась повышенная лабораторная резистентность к клопидогрелу (PRU>208) у носителей полиморфных аллелей CYP2C19*2: 53,8 % против 16,2 %, что, однако, не повлияло на частоту тромбоза стента.	[49]
РОССИЯ	Было проведено клиническое наблюдение в течение 18 месяцев и генетическое тестирование 399 больных с ССП	Статистически значимой зависимости между уровнем остаточной реактивности тромбоцитов и носительством полиморфных маркеров гена CYP2C19 обнаружено не было.	[50]
РОССИЯ	Изучена распространенность аллельных вариантов гена CYP2C19*1, *2, *3, *17 у пациентов, получающих клопидогрел – представителей Западно-Сибирского и Дальневосточного регионов	В зависимости от степени агрегации тромбоцитов были выделены группы пациентов с различной чувствительностью к клопидогрелу.	[51]

Рандомизированное, двойное слепое, многоцентровое, контролируемое исследование GRAVITAS, позволило сделать несколько существенных выводов, необходимых для разработки адресной стратегии антиагрегантной терапии. Во-первых, было установлено, что нет никакой пользы от употребления двойной дозы клопидогрела пациентами, у которых реактивность тромбоцитов резко повышается после чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) [15]. Во-вторых, исследование позволило расширить фармакогенетическое тестирование в отношении фермента CYP2C19. Было исследовано 1152 образца крови, изучено 40 полиморфизмов, в том числе CYP2C19*2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, и *17; ABCB1 и PON1. Результаты, свидетельствовали, что пациенты с одним или двумя полиморфными аллелями гена CYP2C19, при котором теряется их функциональная активность вообще не реагируют на двойную дозу клопидогрела. Было выявлено 11-кратное увеличение риска устойчивого повышения реактивности тромбоцитов в течение 30 дней у пациентов – гомозиготных носителей гена CYP2C19 * 2, по сравнению с пациентами, которые имели функционально активный дикий тип гена. У гетерозигот также сохранялась высокая реактивность тромбоцитов – до 62% по сравнению с носителями дикого, быстрого аллеля [15].

В Польше Kuliczowski W. с соавт. изучалась межличностная вариабельность ответа на оральный прием антитромбоцитарных препаратов. Был разработан позиционный документ рабочей группы по устойчивости к антитромбоцитарным препаратам, назначенный секцией сердечно-сосудистых вмешательств польского кардиологического общества, также одобренный рабочей группой по тромбозам Европейского кардиологического общества [16]. Позиционный документ объединил и обобщил все имеющиеся результаты исследований в области изучения атеротромбоза и позволил также констатировать высокий процент клинических неудач у пациентов, получающих двойную дезагрегационную

терапию, что предопределило актуальность поиска индивидуальных генетических причин резистентности к антиагрегационным препаратам. Проведены исследования, доказавшие значительную межличностную, этническую чувствительность к клопидогрелу. Основной причиной снижения продукции активных метаболитов препарата были генетические изменения в ферментах CYP3A4, CYP3A5 и CYP2C19. Комплексно изучались полиморфизмы в генах Р-гликопротеина и пуриnergического рецептора P2Y12 (рецептора для действия клопидогрела) и их роли в реактивности клопидогрела. Был сделан вывод о том, что рассмотрение генотипа ABCB1 в дополнение к CYP2C19 позволило лучше предсказать формирование резистентности к клопидогрелу.

CYP2C19*2 встречался наиболее часто у Кавказских, афроамериканских и азиатских народностей [17]. Частота встречаемости аллелей CYP2C19*2 в азиатских популяциях (~30%) оказалась значительно выше, чем у кавказцев (~13%) и афроамериканцев (18%) [18, 19]. В исследовании, проведенном Sorich Michael J. с соавт. была установлена связь между носительством аллеля потери функции CYP2C19 и основными сердечно-сосудистыми событиями. Причем частота ЧКВ значительно различалась в этнических группах европейцев и азиатов [20].

В общегеномном, ассоциативном исследовании реактивности тромбоцитов и сердечно-сосудистых событий у пациентов, получавших клопидогрел (GWAS), проводимом международным фармакогенетическим консорциумом (ICPC) также было показано, что ответ на клопидогрел имеет значительную вариабельность. При этом, по мнению авторов, аллели потери функции CYP2C19 составляют лишь определенную часть в структуре причин низкого ответа на препарат. В исследовании приняли участие 2750 человек европейского происхождения, чьи ДНК были генотипированы. Исследование GWAS не выявило ни одного другого SNP, кроме CYP2C19*2, чье бы значение достигло общегеномной значимости.

В то же время в подгруппах ишемической болезни сердца, чрескожного коронарного вмешательства и острого коронарного синдрома мутации в SCOS5P1, CDC42BPA и CTRAC1 показали общегеномную значимость в ассоциативной связи с возникновением сердечно-сосудистой смерти, инфаркта миокарда или инсульта, что требует осмысления и дальнейших исследований в этом направлении [21].

Выявлена ассоциация между генотипом CYP2C19 и фактом «конечной точки» в виде сердечно-сосудистой смерти, не фатального инфаркта миокарда у молодых пациентов, перенесших инфаркт миокарда и получающих клопидогрел в дозе 75 мг/сут. Оказалось, что у пациентов – носителей CYP2C19*2 (28%) риск повтора острого коронарного события в течение первого года оказался в несколько раз выше, чем у пациентов-носителей дикого генотипа. Причем авторы позиционировали полиморфизм генотипа CYP2C19, как единственно значимый предиктор первичного результата в этой популяции пациентов [22].

В Англии проведено исследование у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) с подъемом сегмента ST и без подъема ST (n=2208 человек), получавших клопидогрел [23]. Всем пациентам было проведено генотипирование по следующим генам – CYP2C19; CYP3A5; ABCB1; P2Y12, P2RY12; ITGB3 (IIB-IIIa рецептор). Для CYP2C19 были изучены частоты встречаемости аллелей CYP2C19*2, *3, *4 и *5. В этом исследовании использовался критерий – «конечная точка» или первичный результат, который включал смерть от любой причины (инсульты, инфаркты миокарда, тромбозы стентов и пр.) в течении первого года после развития ИМ. В группе пациентов с наличием сердечно-сосудистых событий и осложнений достоверно выше (чем в группе без «конечной точки») отмечалась частота однонуклеотидных полиморфизмов в генах CYP3A5, P2RY12 и ITGB3. Пациенты – носители двух аллелей гена CYP2C19 были более подвержены риску развития «конечной точки», чем в группе пациентов без полиморфного носительства [23].

Исследовательская группа под руководством Sibbing D., Stegherr J., Latz W. провели обследование 772 пациентов, стентированных и получающих двойную антиагрегантную терапию аспирином и клопидогрелом. Все пациенты получали клопидогрел 600-мг в виде нагрузочной дозы и поддерживающей дозы – 75 мг/сут. Были генотипированы аллели CYP2C19*1 и *2. Первичная конечная точка или вероятный тромбоз стента определялись в течение 6 месяцев после его установки. Оказалось, что у пациентов, несущих по крайней мере один вариант аллеля CYP2C19*2 риск развития повторного тромбоза был гораздо выше, чем у пациентов, носителей функционально-активных аллелей [24].

Другими рандомизированными, контролируемые исследованиями было доказано, что пациенты, которым было проведено ЧКВ и получающие

клопидогрел 300 мг в виде нагрузочной дозы с последующей поддерживающей дозой 75 мг/сут, имели более высокую частоту неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов (смерти от сердечно-сосудистых причин) и повторного тромбоза стента, в случае носительства полиморфных генов, кодирующих CYP2C19, CYP2C9, CYP2B6, CYP3A5, CYP3A4 и CYP1A2. Причем было установлено, что наиболее выраженной являлась взаимосвязь между носительством полиморфных аллелей изофермента CYP2C19 и летальным исходом [25, 26].

Проблемой поиска причин развития резистентности к клопидогрелу занимались в Португалии. Согласно приведенным исследованиям пациенты с носительством CYP2C19*2 и *17 имели более плохой среднесрочный прогноз ишемических событий по сравнению с другими диплотидами, что также отражает специфичность в установлении ассоциативных связей с клиническими исходами сердечно-сосудистых заболеваний [27].

Отдельные исследования были посвящены изучению полиморфизма Р-гликопротеина – гена ABCB1, ответственного за адсорбцию клопидогрела в желудочно-кишечном тракте при пероральном приеме. Так, было показано, что снижение концентрации клопидогрела после однократной дозы 300 или 600 мг было отмечено у пациентов, гомозиготных для варианта ABCB1 3435T аллеля [28].

В Японии Miura G. с соавт. проведено исследование, посвященное изучению генетических и негенетических факторов, ответственных за анти-тромбоцитарные эффекты клопидогрела у японских пациентов, перенесших имплантацию коронарного стента [29]. Были сделаны выводы, что частота полиморфного носительства CYP2C19 у японских пациентов близка к частоте встречаемости идентичных однонуклеотидных замен у азиатов. Исследователи связали анти-тромбоцитарные эффекты клопидогрела в устойчивом состоянии не только с генотипами CYP2C19, но и с несколькими негенетическими, модифицируемыми факторами, включающими дислипидемию. На основании собственных результатов исследования авторами был предложен многофакторный алгоритм прогноза индивидуального ответа на терапию клопидогрелом [29].

В фармакоэкономическом исследовании Jiang Minghuan, You Joyce H.S. были смоделированы пожизненные медицинские затраты, с учетом скорректированных по качеству лет жизни (QALYs) трех анти-тромбоцитарных схем назначения, у гипотетических 60-летних пациентов с ОКС после ЧКВ. При этом первая модель включала назначение клопидогрела в дозе 75 мг ежедневно, вторая – клопидогрела в дозе 225 мг ежедневно и третья модель предполагала универсальную альтернативную анти-тромбоцитарную терапию (prasugrel или ticagrelor). Математическим методом было показано, что терапия

клопидогрелом в дозе 75 мг ежедневно является экономически более эффективной только при распространенности среди населения аллелей CYP2C19 с потерей функции менее 2,6%, что объясняет актуальность и необходимость дальнейших популяционных генетических исследований [30].

В исследовании Hokimoto Seiji, Akasaka Tomonori с соавт. было выявлено, что одновременное применение эзомепразола с клопидогрелом не вызывает снижения антитромбоцитарной эффективности клопидогрела или повышение риска сердечно-сосудистых событий, причем независимо от генотипа CYP2C19. Данные результаты представляются интересными с научно-практической точки зрения, поскольку свидетельствуют о менее значимой роли модифицируемых факторов, таких как взаимодействие лекарственных препаратов, на эффективность антиагрегационной терапии [31].

В США были разработаны клинические рекомендации консорциума врачей по внедрению фармакогенетических исследований гена CYP2C19 в процесс терапии клопидогрелом [32]. Документ был разработан на основании фундаментальных исследований показавших, что аллели потери функции CYP2C19 нарушают образование активных метаболитов клопидогрела, что приводит к значительному снижению ингибирования тромбоцитов. Неэффективные аллели CYP2C19 повышают риск серьезных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий среди пациентов, получающих клопидогрел с ОКС, подвергающихся ЧКВ. Разработаны соответствующие показания для генотип-направленной антиагрегантной терапии CYP2C19 и уточнены рекомендации для конкретных аллелей CYP2C19.

Группа ученых Южной Кореи провела сравнительный мета-анализ полиморфизма гена CYP2C19 и риска неблагоприятных клинических исходов у больных ишемической болезнью сердца различных этнических групп, получавших клопидогрел [33]. В мета-анализ были включены 16 проспективных когортных исследований, включающих 7035 пациентов, несущих ≥ 1 аллель CYP2C19 LOF (потеря функции), и 13750 пациентов с генотипом дикого типа. Результаты исследований из центральной, восточной части Европы оказались идентичными, в то время как из западных стран оказались противоречивыми. Стратифицированный анализ по этнической принадлежности исследуемой популяции показал более высокие шансы неблагоприятных клинических событий в азиатской популяции с вариантами LOFCYP2C19 (или 1,89, 95% ДИ 1,32–2,72) по сравнению с Западной популяцией (или 1,28, 95% ДИ 1,00–1,64). Кроме того, носители ≥ 1 аллеля CYP2C19 LOF имели в 2 раза большую смертность и тромбоз стента по сравнению с гомозиготами дикого типа.

По мнению китайских исследователей Tang Xiao-Fang, Wang Jing, Zhang Jia-Hui и соавт., распростра-

ненность аллели CYP2C19*2 у китайцев выше, чем у европеоидов, поэтому случаев неэффективности антитромбоцитарной терапии и применения ЧКВ в китайской этнической группе сопоставимо больше. Авторы изучали влияние носительства полиморфных аллелей CYP2C19*2, ABCB1 и PON1 на фармакодинамику клопидогрела и клинические исходы у 670 китайских пациентов после ЧКВ. Оказалось, что только аллели потери функции CYP2C19 оказывали дозозависимое влияние на фармакодинамику клопидогрела. При этом роль генотипов ABCB1 и PON1 в антитромбоцитарном эффекте клопидогрела установлена не была [34]. Проведены исследования касающиеся изучения активности клопидогрела у 183 китайских пациента с инсультом. После нагрузки клопидогрелом в дозе 300 мг и семи поддерживающих доз клопидогрела в дозе 75 мг оценивали функцию тромбоцитов. По результатам исследования установлено, что обе аллели CYP2C19 (*2 и *3) достоверно связаны с максимальной агрегацией тромбоцитов и низким ответом на клопидогрел [35]. В тайской популяции проведен сравнительный анализ встречаемости частот полиморфного носительства CYP2C19 по сравнению с кавказскими и восточными этническими группами [36]. Анализ генотипов CYP2C19 у 107 тайцев показал, что частоты аллелей для CYP2C19*1, CYP2C19*2 и CYP2C19*3 составили 0,71 (95% ДИ 0,65–0,77), 0,27 (95% ДИ 0,21–0,33) и 0,02 (95% ДИ 0,01–0,05) соответственно. Частоты дефектных аллелей CYP2C19 у тайцев, особенно CYP2C19*3, были ниже, чем в других восточных популяциях.

В 2008 году в Германии у 797 пациентов был изучен CYP2C19 681G> полиморфизм цитохрома P450 и феномен высокой реактивности тромбоцитов на фоне приема клопидогрела. Установлено, что носители полиморфных, нефункциональных аллелей CYP2C19 ассоциированы с повышенной остаточной активностью тромбоцитов и неблагоприятным клиническим исходом планового ЧКВ в течение первого года. Причем было выявлено, что остаточная агрегация тромбоцитов в исходном состоянии достоверно между генотипами не различалась [37].

В Польше группой ученых у 105 пациентов с ОКС, получавших ЧКВ, была изучена функция тромбоцитов. Пациенты наблюдались в течение 12 месяцев после ОКС. В течение первого года наблюдения у двух пациентов из 11, которые оказались носителями полиморфных аллелей 2*CYP2C19 отмечалось повторное развитие ОКС [38].

Подобные исследования проведены во Флоренции [39]. Оценивалась роль полиморфизма CYP2C19*2 в возникновении тромбоза стента (ST), или неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в течение 6-месячного наблюдения после ЧКВ с имплантацией стента, на фоне двойной антиагрегантной терапии. У пациентов с тромбозом стента или сочетанием тромбоза и внезапной смерти отмечена

более высокая распространенность носителей медленных аллелей CYP2C19.

Зарубежными исследователями проведено сравнительное изучение частоты встречаемости полиморфных генов CYP2C8, CYP2C9 и CYP2C19 в этнических группах испанцев (n=282) и эквадорских метисов (n=297). Были генотипированы образцы крови по аллелям CYP2C8*3, CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP2C19*2 и CYP2C19*3, CYP2C19*17 [40]. Оказалось, что частота аллелей CYP2C19*17 была выше у эквадорцев, чем у испанцев ($P < 0,001$), а частота CYP2C19*3 была одинаковой в этих двух популяциях ($P > 0,05$). Другие аллельные варианты были обнаружены на значительно более низких частотах у эквадорцев, чем у испанцев ($P < 0,05$). Выявлялась более высокая активность CYP2C8, CYP2C9 и CYP2C19 у метисов-эквадорцев в отличие от испанцев, что, по мнению авторов может означать различия в требованиях к дозировке препаратов, метаболизируемых этими цитохромами, а также должно рассматриваться в исследованиях ассоциации аллелей и заболеваний [40].

Исследован CYP2C19-ассоциированный полиморфизм мефенитоина в популяции инуитов, проживающих в Канаде (n=152). Частота полиморфного аллеля CYP2C19*1, определенная у неродственных субъектов, составила 0,12 (95% ДИ: 0,07-0,17). CYP2C19*2 в этой этнической группе не обнаруживался. Был сделан вывод, что канадские инуиты напоминают кавказские, а не азиатские популяции, как по частоте фенотипов, так и по молекулярной основе полиморфизма [41].

Группой иранских ученых изучено влияние полиморфизма генов P2Y12, CYP3A5 и CYP2C19 на реактивность тромбоцитов в послеоперационном периоде. Все пациенты, вошедшие в исследование, получали за неделю до проведения ЧКВ аспирин в дозе 80–325 мг. После приема 600 мг клопидогрела через 2 часа, 24 часа и 30 дней после ЧКВ измеряли агрегацию тромбоцитов методом турбидиметрического агрегационного анализа с двумя различными концентрациями АДФ. В работе было показано, что максимальная невосприимчивость к клопидогрелу наблюдалась через 2 часа после приема нагрузочной дозы препарата. При этом ассоциативной связи между носительством полиморфных аллелей CYP2C19, CYP3A5 и P2Y12 и реактивностью клопидогрела в иранской популяции установлено не было, что свидетельствует, по мнению авторов, о большем влиянии на изменчивость ответа на клопидогрел негенетических, модифицируемых признаков [42].

В 2003 году в Хорватии были генотипированы 200 образцов крови для изучения распространенности аллельных вариантов CYP2C9, CYP2C19 и CYP2D6. Частоты аллелей CYP2C9*1 (wt), CYP2C9*2 и CYP2C9*3 составляли 0,74, 0,165 и 0,095 соответственно. Для CYP2C19 наиболее частыми аллелями были CYP2C19*1 и CYP2C19*2, с частотами 0,85 и 0,15. Для

CYP2D6 наиболее частыми аллелями были CYP2D6*1 (частота 0,765), CYP2D6*2 (0,04), CYP2D6*3 (0,0275), CYP2D6*4 (0,14), CYP2D6*5 (0,01) и CYP2D6*6 (0,015). Исследование показало, что распространенность аллельных вариантов и прогнозируемых генотипов в хорватской этнической группе соответствует другим европейским популяциям и может быть интерполирована между значениями для среднеевропейских и средиземноморских популяций [43].

В Мексике изучался полиморфизм генов ABCB1, CYP3A5, CYP2C19 и P2RY12 [44]. Полиморфизмы ABCB1 T3435C, CYP3A5 V3 A6986G, P2RY12 G52T, P2RY12 C34T, CYP2C19 V2 и V3 (положения g681a и G636A соответственно) были проанализированы с помощью 5' экзонуклеазного генотипирования. Аллель CYP2C19 *3 G636A в популяции мексиканских метисов выявлен не был. Однако в исследуемой группе наблюдались достоверные различия ($P < 0,05$) в распределении полиморфизмов T3435C, A6986G, G681A, G52T и C34T по сравнению с зарегистрированными частотами в популяциях индейцев Южной Америки, Кавказа, Азии и Африки [44].

Изучена клиническая значимость SNPs CYP2C19*2, *3, *17 и PON1 Q192R у китайцев, малайцев и азиатских индийцев. Были получены результаты, свидетельствующие о наличии выраженной межэтнической вариативности в формировании ответа на клопидогрел. Авторы пришли к выводу, что у китайцев обязательно должны изучаться полиморфизмы CYP2C19*2 и *3, но не *17. В то время как у индийцев большую клиническую значимость в формировании резистентности к клопидогрелу имеют полиморфизмы CYP2C19*2 и *17, но не *3. У малайцев, для индивидуального подбора дозы клопидогрела авторы предлагают изучать все три полиморфизма [45].

Во Франции в рамках создания французского регистра инфаркта миокарда (FAST-MI), изучали модификацию рецептора P2RY12 и влияние носительства полиморфных последовательностей в участках этого гена на клиническую эффективность клопидогрела. Ассоциативных связей установлено не было [46]. По-видимому, носительство данного полиморфизма не может рассматриваться как самостоятельная причина клинических неудач антиагрегантной терапии. Представляется перспективным и наиболее важным изучать частоту носительства полиморфных аллелей P2RY12, ABCB1(C3435T, G2677T, и C136T) в сочетании с исследованием полиморфизма гена CYP2C19 как в популяциях, так и у отдельных индивидуумов.

Результаты российских исследований

В Российской Федерации изучена частота встречаемости полиморфизмов CYP2C19 в русской и нонгайской популяциях. Сравнительно оценена частота встречаемости полиморфных аллелей CYP2C19 у пациентов центральной части России и Сибири [47]. Определена частота встречаемости полиморфных

аллелей генов метаболизма и транспортных белков в трех этнических группах Дагестана [14]. Исследования продемонстрировали широкую межэтническую вариабельность распределения полиморфных аллелей гена CYP2C19.

Проведена работа по оценке влияния полиморфизмов генов CYP2C19, ABCB1 и низкой активности изофермента CYP3A4 на развитие осложнений после имплантации стента у пациентов с ОКС [48]. Отмечалась повышенная лабораторная резистентность к клопидогрелу (PRU>208) у носителей полиморфных аллелей CYP2C19*2: 53,8% против 16,2%, что, однако, не повлияло на частоту тромбоза стента. Такие же изменения касались и изучения полиморфизма гена CYP2C19*17.

Изучено влияние полиморфизма гена CYP2C19 на реактивность тромбоцитов, фармакокинетику и фармакодинамику клопидогрела, частоту развития сердечно-сосудистых событий и осложнений [49]. В результате генотипирования из 55 человек были выявлены 39 с генотипом (CYP2C19*1/*1), 14 гетерозиготных носителей (CYP2C19*1/*2) и 2 пациента – носителя CYP2C19*2/*2. Было установлено что больные, имеющие клиническую резистентность к клопидогрелу, подтвержденную лабораторными тестами, имели более высокий риск развития ишемических осложнений.

Комаровым А. Л. с соавторами в течение 18 месяцев было проведено клиническое наблюдение и генетическое тестирование 399 больных с ССП [50]. Основными критериями включения были: стабильные проявление ИБС, реваскуляризация миокарда, перенесенный эпизод ОКС более месяца назад, монотерапия клопидогрелом (n=83), либо клопидогрел + АСК (n=316). При этом суточная доза клопидогрела и АСК составляла 75–150 мг каждого препарата. В качестве первичных конечных точек были выбраны следующие параметры: смерть от сердечно-сосудистых причин, ОКС, ишемический инсульт, транзиторная ишемическая атака (ТИА), реваскуляризация коронарных артерий и случаи любых кровотечений

по TIMI (Thrombolysis In Myocardial Infarction). Остаточная реактивность тромбоцитов определялась турбидиметрическим методом Борна в 3 и 6 месяцев. Статистически значимой зависимости между уровнем остаточной реактивности тромбоцитов и носительством полиморфных маркеров гена CYP2C19 обнаружено не было.

Изучена распространенность аллельных вариантов гена CYP2C19*1, *2, *3,17 у пациентов, получающих клопидогрел – представителей Западно-Сибирского и Дальневосточного регионов. В зависимости от степени агрегации тромбоцитов были выделены группы пациентов с различной чувствительностью к клопидогрелу. В данном исследовании была установлена статистически достоверная связь полиморфного варианта CYP2C19*2 с изменением агрегации после приема клопидогрела [51].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных источников, посвященных изучению вопросов носительства полиморфных генов цитохрома P450, участвующих в метаболизме антиагрегантных препаратов, свидетельствует о мультифакториальности генов-кандидатов и неоднородности распределения полиморфных аллелей генов CYP2C19 в этнических группах, что создает предпосылки для необходимости проведения фундаментальных, популяционных исследований наследственной чувствительности к антиагрегационным препаратам в различных субъектах Российской Федерации. Во многих странах, на основании результатов определения генотипов CYP2C19, уже разработаны соответствующие показания для генотип-направленной антиагрегантной терапии и уточнены рекомендации для конкретных аллелей CYP2C19.

В то же время, считаем необходимым дальнейшее изучение влияния носительства других полиморфных аллелей генов цитохрома P450 – CYP1A2 и CYP2B6, а также полиморфизма тромбоцитарных рецепторов на формирование резистентности к антиагрегационной терапии.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данный обзор не имел финансирования со стороны сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

ВКЛАД АВТОРОВ

Б.И. Кантемирова – планирование и написание обзора; Е.А. Орлова – сбор материала и редактирование обзора; О.С. Полунина – редактирование обзора; Е.Н. Чернышева – сбор материала для обзора; М.А. Абдуллаев – сбор материала для обзора; Д.А. Сычев – планирование, концепция статьи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Исаков Е.Б. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний // Медицина и экология. – 2017. – №2. – С. 19–28.
2. Иванов Д.О., Орел В.И., Александрович Ю.С., Пшенищев К.В., Ломовцева Р.Х. Заболевания сердечно-сосудистой системы как причина смертности в Российской Федерации: пути решения проблемы // Медицина и организация здравоохранения. – 2019. – Т. 4. – №2. – С. 4–11.
3. Mărginean A., Bănescu C., Moldovan V., Scridon A., Mărginean M., Bălașa R., Maier S., Țăruși M., Dobreanu M. The Impact of CYP2C19 Loss-of-Function Polymorphisms, Clinical, and Demographic Variables on Platelet Response to Clopidogrel Evaluated Using Impedance Aggregometry // Clin Appl Thromb Hemost. – 2017. – Vol. 23. – No.3. – P. 255–265. DOI: 10.1177/1076029616629211.
4. Меситская Д.Ф., Никитина Ю.М., Копылов Ф.Ю., Нестерова С.Г. Резистентность к клопидогрелу: все ли мы знаем? // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2013. Т. 6. – №1. – С. 27–32.
5. Lewis J.P., Riaz M., Xie S., Polekhina G., Wolfe R., Nelson M., Tonkin A.M., Reid C.M., Murray A.M., McNeil J.J., Shuldiner A.R., Lacaze P. Genetic Variation in PEAR1, Cardiovascular Outcomes and Effects of Aspirin in a Healthy Elderly Population // Clin Pharmacol Ther. – 2020. – Vol. 108. – No.6. – P. 1289–1298. DOI: 10.1002/cpt.1959.
6. Gum P.A., Kottke-Marchant K., Welsh P.A., White J., Topol E.J. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease // J Am Coll Cardiol. – 2003. – Vol. 41. – No.6. – P. 961–965. DOI: 10.1016/s0735-1097(02)03014-0.
7. Курчева Н.П., Мирзаев К.Б., Сычев Д.А. Многофакторный алгоритм прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела, как потенциальный способ повышения эффективности и безопасности антиагрегантной терапии // Фармакогенетика и Фармакогеномика. – 2015. – №2. – С. 29–32.
8. Gershlick A.H., Price M.J. Full Revascularization in the Patient With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: The Story So Far // J Am Coll Cardiol. – 2019. – Vol. 74. – No.22. – P. 2724–2727. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.10.022.
9. Mega J.L., Close S.L., Wiviott S.D., Shen L., Hockett R.D., Brandt J.T., Walker J.R., Antman E.M., Macias W., Braunwald E., Sabatine M.S. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel // N Engl J Med. – 2009. – Vol. 360. – No.4. – P. 354–362. DOI: 10.1056/NEJMoa0809171.
10. Мирзаев К.Б., Сычев Д.А., Андреев Д.А. Генетические основы резистентности к клопидогрелу: современное состояние проблемы // Российский кардиологический журнал. – 2015. – Т. 10. – №126. – С. 92–98. DOI: 10.15829/1560-4071-2015-10-92-98.
11. Saiz-Rodríguez M., Romero-Palacián D., Villalobos-Vilda C., Caniego J.L., Belmonte C., Koller D., Bárcena E., TALEGÓN M., Abad-Santos F. Influence of CYP2C19 Phenotype on the Effect of Clopidogrel in Patients Undergoing a Percutaneous Neurointervention Procedure // Clin Pharmacol Ther. – 2019. – Vol. 105. – No.3. – P. 661–671. DOI: 10.1002/cpt.1067.
12. Грабуздов А.М., Шуев Г.Н., Сулейманов С.Ш., Рыжикова К.А., Сычев Д.А. Сравнение частоты встречаемости одонуклеотидного варианта CYP3A5*3 в этнических группах русских и нанайцев // Фармакогенетика и Фармакогеномика. – 2017. – №2. – С. 48–49.
13. Melissa M., Wen Ni T, Lana Yin Hui Lai, Lee Len Tiong, Adam Mohamad Bujang et all. CYP2C19 genotypes and their impact on clopidogrel responsiveness in percutaneous coronary intervention // International Journal of Clinical Pharmacy. – 2013. – Vol. 35. – P. 621–628. DOI: 10.1007/s11096-013-9783-y
14. Mirzaev K.B., Sychev D.A., Ryzhikova K.A., Konova O.D., Mammaev S.N., Gafurov D.M., Shuev G.N., Grishina E.A., Sozaeva Z.A. Genetic Polymorphisms of Cytochrome P450 Enzymes and Transport Proteins in a Russian Population and Three Ethnic Groups of Dagestan // Genet Test Mol Biomarkers. – 2017. – Vol. 21. – No.12. – P. 747–753. DOI: 10.1089/gtmb.2017.0036.
15. Price M.J., Berger P.B., Teirstein P.S., Tanguay J.F., Angiolillo D.J., Spriggs D., Puri S., Robbins M., Garratt K.N., Bertrand O.F., Stillabower M.E., Aragon J.R., Kandzari D.E., Stinis C.T., Leil M.S., Manoukian S.V., Cannon C.P., Schork N.J., Topol E.J.; GRAVITAS Investigators. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial // JAMA. – 2011. – Vol. 305. – No.11. – P. 1097–1105. DOI: 10.1001/jama.2011.290.
16. Kuliczowski W., Witkowski A., Polonski L., Watala C., Filipiak K., Budaj A., Golanski J., Sitkiewicz D., Pregowski J., Gorski J., Zembala M., Opolski G., Huber K., Arnesen H., Kristensen S.D., De Caterina R. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology // Eur Heart J. – 2009. – Vol. 30. – No.4. – P. 426–435. DOI: 10.1093/eurheartj/ehn562.
17. Desta Z., Zhao X., Shin J.G., Flockhart D.A. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism // Clin Pharmacokinet. – 2002. – Vol. 41. – No.12. – P. 913–958. DOI: 10.2165/00003088-200241120-00002.
18. Xie H.G., Kim R.B., Wood A.J., Stein C.M. Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response // Annu Rev Pharmacol Toxicol. – 2001. – No.41. – P. 815–850. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.41.1.815.
19. Zand N., Tajik N., Moghaddam A.S., Milanian I. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes 2C9 and 2C19 in a healthy Iranian population // Clin Exp Pharmacol Physiol. – 2007. – Vol. 34. – No.1–2. – P. 102–105. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2007.04538.x.
20. Soric M.J., Rowland A., McKinnon R.A., Wiese M.D. CYP2C19 genotype has a greater effect on adverse cardiovascular outcomes following percutaneous coronary intervention and in Asian populations treated with clopidogrel: a meta-analysis // Circ Cardiovasc Genet. – 2014. – Vol. 7. – No.6. – P. 895–902. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.114.000669.
21. Verma S.S., Bergmeijer T.O., Gong L., Reny J.L., Lewis J.P., Mitchell B.D., Alexopoulos D., Aradi D., Altman R.B., Bliden K., Bradford Y., Campo G., Chang K., Cleator J.H., Déry J.P., Dridi N.P., Fernandez-Cadenas I., Fontana P., Gawaz M., Geisler T., Gensini G.F., Giusti B., Gurbel P.A., Hochholzer W., Holmvang L., Kim E.Y., Kim H.S., Marcucci R., Montaner J., Backman J.D., Pakyz R.E., Roden D.M., Schaeffeler E.,

- Schwab M., Shin J.G., Siller-Matula J.M., Ten Berg J.M., Trenk D., Valgimigli M., Wallace J., Wen M.S., Kubo M., Lee M.T.M., Whaley R., Winter S., Klein T.E., Shuldiner A.R., Ritchie M.D.; ICPC Investigators. Genomewide Association Study of Platelet Reactivity and Cardiovascular Response in Patients Treated With Clopidogrel: A Study by the International Clopidogrel Pharmacogenomics Consortium // *Clin Pharmacol Ther.* – 2020. – Vol. 108. – No.5. – P. 1067–1077. DOI: 10.1002/cpt.1911.
22. Collet J.P., Hulot J.S., Pena A., Villard E., Esteve J.B., Silvain J., Payot L., Brugier D., Cayla G., Beygui F., Bensimon G., Funck-Brentano C., Montalescot G. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study // *Lancet.* – 2009. – Vol. 373. – No.9660. – P. 309–317. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61845-0.
 23. Simon T., Verstuyft C., Mary-Krause M., Quteineh L., Drouet E., Méneveau N., Steg P.G., Ferrières J., Danchin N., Beccquemont L.; French Registry of Acute ST-Elevation and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (FAST-MI) Investigators. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events // *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 360. – No.4. – P. 363–375. DOI: 10.1056/NEJMoa0808227.
 24. Sibbing D., Stegheer J., Latz W., Koch W., Mehilli J., Dörrler K., Morath T., Schömig A., Kastrati A., von Beckerath N. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention // *Eur Heart J.* – 2009. – Vol. 30. – No.8. – P. 916–22. DOI: 10.1093/eurheartj/ehp041.
 25. Mega J.L., Close S.L., Wiviott S.D., Shen L., Walker J.R., Simon T., Antman E.M., Braunwald E., Sabatine M.S. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis // *Lancet.* – 2010. – Vol. 376. – No.9749. – P. 1312–1319. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61273-1.
 26. Zhang H.Z., Kim M.H., Guo L.Z., Serebruany V. CYP2C19 but not CYP2B6, CYP3A4, CYP3A5, ABCB1, PON1 or P2Y12 genetic polymorphism impacts antiplatelet response after clopidogrel in Koreans // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2017. – Vol. 28. – No.1. – P. 56–61. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000536.
 27. Rogério T., Manuela G., Pedro M., Francisco S., Margarida L., et al. CYP2C19 (+ or $\square$)*2/(+ or $\square$)*17 Diplotypes: Prognostic impact on patients with acute coronary syndrome // *World Journal of Cardiovascular Diseases.* – 2012. – Vol. 2. – No.4. – 9 pp. DOI: 10.4236/wjcd.2012.24041
 28. Taubert D., von Beckerath N., Grimberg G., Lazar A., Jung N., Goesser T., Kastrati A., Schömig A., Schömig E. Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption // *Clin Pharmacol Ther.* – 2006. – Vol. 80. – No.5. – P. 486–501. DOI: 10.1016/j.clpt.2006.07.007.
 29. Miura G., Ariyoshi N., Sato Y., Yamaguchi H., Iwata Y., Fujimoto Y., Kobayashi Y., Ishii I. Genetic and non-genetic factors responsible for antiplatelet effects of clopidogrel in Japanese patients undergoing coronary stent implantation: an algorithm to predict on-clopidogrel platelet reactivity // *Thromb Res.* – 2014. – Vol. 134. – No.4. – P. 877–883. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.07.018.
 30. Jiang M., You J.H. CYP2C19 genotype plus platelet reactivity-guided antiplatelet therapy in acute coronary syndrome patients: a decision analysis // *Pharmacogenet Genomics.* – 2015. – Vol. 25. – No.12. – P. 609–617. DOI: 10.1097/FPC.0000000000000177.
 31. Hokimoto S., Akasaka T., Tabata N., Arima Y., Tsujita K., Sakamoto K., Kaikita K., Morita K., Kumagai N., Yamamoto E., Oniki K., Nakagawa K., Ogawa H. Impact of esomeprazole on platelet reactivity and clinical outcome according to CYP2C19 genotype in coronary heart disease patients during dual antiplatelet therapy // *Thromb Res.* – 2015. – Vol. 135. – No.6. – P. 1081–1086. DOI: 10.1016/j.thromres.2015.03.033.
 32. Scott S.A., Sangkuhl K., Stein C.M., Hulot J.S., Mega J.L., Roden D.M., Klein T.E., Sabatine M.S., Johnson J.A., Shuldiner A.R.; Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update // *Clin Pharmacol Ther.* – 2013. – Vol. 94. – No.3. – P. 317–323. DOI: 10.1038/clpt.2013.105.
 33. Jang J.S., Cho K.I., Jin H.Y., Seo J.S., Yang T.H., Kim D.K., Kim D.S., Seol S.H., Kim D.I., Kim B.H., Park Y.H., Je H.G., Jeong Y.H., Lee S.W. Meta-analysis of cytochrome P450 2C19 polymorphism and risk of adverse clinical outcomes among coronary artery disease patients of different ethnic groups treated with clopidogrel // *Am J Cardiol.* – 2012. – Vol. 110. – No.4. – P. 502–508. DOI: 10.1016/j.amjcard.2012.04.020.
 34. Tang X.F., Wang J., Zhang J.H., Meng X.M., Xu B., Qiao S.B., Wu Y.J., Chen J., Wu Y., Chen J.L., Gao R.L., Yuan J.Q., Yang Y.J. Effect of the CYP2C19 2 and 3 genotypes, ABCB1 C3435T and PON1 Q192R alleles on the pharmacodynamics and adverse clinical events of clopidogrel in Chinese people after percutaneous coronary intervention // *Eur J Clin Pharmacol.* – 2013. – Vol. 69. – No.5. – P. 1103–1112. DOI: 10.1007/s00228-012-1446-8.
 35. Yang J., Zhao H.D., Tan J., Ding Y.L., Gu Z.Q., Zou J.J. CYP2C19 polymorphism and antiplatelet effects of clopidogrel in Chinese stroke patients // *Pharmazie.* – 2013. – Vol. 68. – No.3. – P. 183–186.
 36. Tassaneeyakul W., Tawalee A., Tassaneeyakul W., Kukongviriyapan V., Blaisdell J., Goldstein J.A., Gaysornsirir D. Analysis of the CYP2C19 polymorphism in a North-eastern Thai population. *Pharmacogenetics.* 2002 Apr;12(3):221-5. DOI: 10.1097/00008571-200204000-00006.
 37. Trenk D., Hochholzer W., Fromm M.F., Chialda L.E., Pahl A., Valina C.M., Stratz C., Schmiebusch P., Bestehorn H.P., Büttner H.J., Neumann F.J. Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents // *J Am Coll Cardiol.* – 2008. – Vol. 51. – No.20. – P. 1925–1934. DOI: 10.1016/j.jacc.2007.12.056.
 38. Malek L.A., Kisiel B., Spiewak M., Grabowski M., Filipiak KJ., Kostorzewski G., Huczek Z., Ploski R., Opolski G. Coexisting polymorphisms of P2Y12 and CYP2C19 genes as a risk factor for persistent platelet activation with clopidogrel // *Circ J.* – 2008. – Vol. 72. – No.7. – P. 1165–1169. DOI: 10.1253/circj.72.1165.
 39. Giusti B., Gori A.M., Marcucci R., Saracini C., Sestini I., Paniccia R., Buonamici P., Antoniucci D., Abbate R., Gensini G.F. Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis // *Am J Cardiol.* – 2009. – Vol. 103. – No.6. – P. 806–811. DOI: 10.1016/j.amjcard.2008.11.048.

40. Vicente J., González-Andrade F., Soriano A., Fanlo A., Martínez-Jarreta B., Sinués B. Genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 in Ecuadorian Mestizo and Spaniard populations: a comparative study // *Mol Biol Rep.* – 2014. – Vol. 41. – No.3. – P. 1267–1272. DOI: 10.1007/s11033-013-2971-y.
41. Jurima-Romet M., Goldstein J.A., LeBelle M., Aubin R.A., Foster B.C., Walop W., Rode A. CYP2C19 genotyping and associated mephenytoin hydroxylation polymorphism in a Canadian Inuit population // *Pharmacogenetics.* – 1996. – Vol. 6. – No.4. – P. 329–339. DOI: 10.1097/00008571-199608000-00006.
42. Namazi S., Kojuri J., Khalili A., Azarpira N. The impact of genetic polymorphisms of P2Y12, CYP3A5 and CYP2C19 on clopidogrel response variability in Iranian patients // *Biochem Pharmacol.* – 2012. – Vol. 83. – No.7. – P. 903–908. DOI: 10.1016/j.bcp.2012.01.003.
43. Bozina N., Granić P., Lalić Z., Tramišak I., Lovrić M., Stavljenić-Rukavina A. Genetic polymorphisms of cytochromes P450: CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 in Croatian population // *Croat Med J.* – 2003. – Vol. 44. – No.4. – P. 425–428.
44. Vargas-Alarcón G., Ramírez-Bello J., de la Peña A., Calderón-Cruz B., Peña-Duque M.A., Martínez-Ríos M.A., Ramírez-Fuentes S., Pérez-Méndez O., Fragoso J.M. Distribution of ABCB1, CYP3A5, CYP2C19, and P2RY12 gene polymorphisms in a Mexican Mestizos population // *Mol Biol Rep.* – 2014. – Vol. 41. – No.10. – P. 7023–7029. DOI: 10.1007/s11033-014-3590-y.
45. Huay-Cheem Tan, Mark Y., Chan M.Y., Tan K., Tan H.C et al. Functional significance and differential prevalence of CYP2C19 and PON1 polymorphisms regulating clopidogrel bioactivation in chinese, malay and indian subjects // *Pharmacogenomics.* – 2012. – No.13. – P. 533–542. DOI: 10.2217/pgs.12.24
47. Simon T., Steg P.G., Gilard M., Blanchard D., Bonello L., Hanssen M., Lardoux H., Coste P., Lefèvre T., Drouet E., Mulak G., Bataille V., Ferrières J., Verstuyft C., Danchin N. Clinical events as a function of proton pump inhibitor use, clopidogrel use, and cytochrome P450 2C19 genotype in a large nationwide cohort of acute myocardial infarction: results from the French Registry of Acute ST-Elevation and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (FAST-MI) registry // *Circulation.* – 2011. – Vol. 123. – No.5. – P. 474–482. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.965640.
48. Mirzaev K.B., Zelenskaya E.M., Barbarash O.L., Ganyukov V.I., Apartsin K.A., Saraeva N.O., Nikolaev K.Y., Ryzhikova K.A., Lifshits G.I., Sychev D.A. CYP2C19 polymorphism frequency in Russian patients in Central Russia and Siberia with acute coronary syndrome // *Pharmgenomics Pers Med.* – 2017. – No.10. – P. 107–114. DOI: 10.2147/PGPM.S126305.
49. Рыткин Э.И., Мирзаев К.Б., Смирнов В.В., Рыжикова К.А., Созаева Ж.А., Андреев Д.А., Сычѳв Д.А. Осложнения чрескожного коронарного вмешательства у пациентов с острым коронарным синдромом: связь с полиморфизмами генов CYP2C19, ABCB1, CYP3A5 и активностью изофермента CYP3A4 // *Фармакогенетика и Фармакогеномика.* – 2017. – №2. – С. 26–26.
50. Голухова Е.З., Григорян М.В., Рябинина М.Н. Реактивность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии после стентирования коронарных артерий: генетический полиморфизм и клинические варианты // *Креативная кардиология.* – 2013. – Т. 7. – №2.
51. Комаров А.Л., Шахматова О.О., Илющенко Т.А., Донников А.Е., Добровольский А.Б., Панченко Е.П. Оценка риска сердечно-сосудистых осложнений у больных стабильной ИБС, получающих клопидогрел: функция тромбоцитов или генетические исследования? // *Кардиология; Доктор.ру.* – 2012. – Т. 6. – №74. – С. 1–9.
52. Кнауэр Н.Ю., Лифшиц Г.И., Воронина Е.Н., и др. Информативность генетических маркеров для оптимизации персонализированной терапии клопидогрелом // *Кардиология.* – 2013. – №8. – С. 72–75.

АВТОРЫ

Кантемирова Бэла Исмаиловна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3278-2556. E-mail: belakantemirova@rambler.ru

Орлова Екатерина Алексеевна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-9126-1171. E-mail: eorlova56@mail.ru

Полунина Ольга Сергеевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой внутренних болезней педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-8299-6582. E-mail: admed@yandex.ru

Чернышева Елена Николаевна – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой кардиологии факультета после-

дипломной подготовки Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID ID: 0000-0001-8884-1178. E-mail: lena.chernysheva@inbox.ru

Абдуллаев Мусалитдин Абсаламович – аспирант кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-000107374-2660. E-mail: abdullaev-musalitdin@mail.ru

Сычев Дмитрий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, ректор ФГБОУ ВО ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии; член-корреспондент РАН. ORCID ID: 0000-0002-5195-4301. E-mail: dimasychev@mail.ru

УДК 615.2



ФЛЕБОПРОТЕКТОРЫ НА БАЗЕ ФЛАВОНОИДОВ: ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ, БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Э.Ф. Степанова, И.П. Ремезова, А.М. Шевченко, А.В. Морозов, В.К. Мальцева

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

E-mail: efstepanova@yandex.ru.

Получена 20.09.2020

Принята к печати 11.11.2020

Микронизированная очищенная флавоноидная фракция (МОФФ) – оригинальный флеботропный препарат, и его выпускаемая на рынок форма (Детралекс®) состоит из 90% диосмина и 10% – другие флавоноиды, в пересчете на гесперидин и является наиболее широко используемым в настоящее время лекарственным препаратом. Диосмин и гесперидин, входящие в состав большинства веноактивных лекарственных средств, являются труднорастворимыми в воде соединениями, что может сказываться на их клинической эффективности. Одним из способов повышения растворимости данных соединений, который приводит к повышению биодоступности, является микронизация действующих веществ.

Цель. Сравнительное определение динамики и результативности растворения лекарственных препаратов, содержащих биофлавоноидные фракции, при проведении теста растворения, а также анализ степени микронизации и ее влияние на технологию и биофармацевтические показатели.

Материалы и методы. Биофармацевтический профиль высвобождения определяли с помощью ВЭЖХ. Распадаемость, характеристика формы и размера частиц таблеток определяли согласно методикам Государственной Фармакопеи XIV издания.

Результаты. Подробно рассмотрены объекты, созданные с использованием диосмина и гесперидина. Отмечена роль технологических решений в отношении соответствующих лекарственных форм. Установлена подробная биофармацевтическая характеристика с выбором методики для контроля высвобождения на основе ВЭЖХ. Все препараты данной группы обладают небольшой растворимостью в воде, что приводит к максимальной биодоступности для Детралекса®, составляющей около 1,26%; для других анализируемых моделей – не более 0,2%.

Заключение. Среди проанализированных объектов (таблетки) по степени высвобождения доминирует Детралекс®. Что касается общих количественных показателей высвобождения, то фактические числа довольно низкие, что связано с плохой растворимостью в воде действующих веществ.

Ключевые слова: диосмин; гесперидин; таблетки Детралекс®; профиль высвобождения; ВЭЖХ

Список сокращений: ХЗВ – хронические заболевания вен; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; ГРЛС – Государственный реестр лекарственных средств РФ; МКЦ – микрокристаллическая целлюлоза

PHLEBOPROTECTORS BASED ON FLAVONOIDS: DOSAGE FORMS, BIOPHARMACEUTICAL CHARACTERISTICS, TECHNOLOGICAL FEATURES

E.F. Stepanova, I.P. Remezova, A.M. Shevchenko, A.V. Morozov, V.K. Maltseva

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

E-mail: efstepanova@yandex.ru

Received 20 Sep 2020

Accepted 11 Nov 2020

Для цитирования: Э.Ф. Степанова, И.П. Ремезова, А.М. Шевченко, А.В. Морозов, В.К. Мальцева. Флебопротекторы на базе флавоноидов: лекарственные формы, биофармацевтическая характеристика, технологические особенности. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):405-415. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-405-415

© Э.Ф. Степанова, И.П. Ремезова, А.М. Шевченко, А.В. Морозов, В.К. Мальцева, 2020

For citation: E.F. Stepanova, I.P. Remezova, A.M. Shevchenko, A.V. Morozov, V.K. Maltseva. Phleboprotectors based on flavonoids: dosage forms, biopharmaceutical characteristics, technological features. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):405-415. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-405-415

Micronized purified flavonoid fraction (MPFF) is the original phlebotropic drug. Its marketed form (Detralex®) consists of 90% diosmin and 10% of other flavonoids. Calculated as hesperidin, it is the most widely used drug today. Diosmin and hesperidin, which are parts of the majority of venoactive drugs, are sparingly water-soluble compounds, and this feature can effect on their clinical efficacy. One of the ways to increase the solubility of these compounds leading to an increase in bioavailability, is the micronization of the active ingredients.

The aim of the investigation is a comparative determination of the dynamics and dissolution efficiency of the drugs containing bioflavonoid fractions in the dissolution test, as well as the analysis of the micronization degree and its impact on technology and biopharmaceutical parameters.

Materials and methods. A biopharmaceutical release profile was determined using HPLC. Disintegration, characteristics of the shape and size of the tablets' particles were determined according to the methods of the State Pharmacopoeia of the XIV edition.

Results. The objects created with the use of diosmin and hesperidin, have been considered in detail. The role of technological solutions in relation to the corresponding dosage forms is notified. Detailed biopharmaceutical characteristics have been established with a choice of HPLC-based release control methodology. All the drugs in this group have a low water solubility leading to the maximum bioavailability for Detralex® which is about 1.26%; and no more than 0.2% for other analyzed models.

Conclusion. Detralex® dominates among the analyzed objects (tablets) in terms of the release rate. With regard to the overall quantitative indicators of release, the actual numbers are quite low, which is associated with the poor water solubility of the active substances.

Keywords: diosmin; hesperidin; Detralex® tablets; release profile; HPLC

Abbreviations: CVD – chronic venous diseases; GIT – Gastrointestinal tract; SRMR of the RF – State Register of Medicinal Remedies of the Russian Federation; MCC – microcrystalline cellulose

ВВЕДЕНИЕ

Среди болезней, имеющих выраженный социально значимый аспект, выделяется группа хронических заболеваний вен (ХЗВ). Клиническая картина ХЗВ имеет различные симптомы, в целом, ухудшающие качество жизни пациентов. Это, прежде всего, нарушение венозного оттока, чувство усталости, тяжести и напряжения в ногах, отечность и боль после длительного стояния и сидения, и, наконец, это трофические нарушения кожи вплоть до язвенных поражений [1–4].

Ассортимент лекарственных препаратов для лечения ХЗВ на фармацевтическом рынке, в том числе и флебопротекторов, достаточно широк. При этом доминируют лекарственные препараты, созданные на базе флавоноидов и флавоноидных комплексов, и в основном, диосмина и гесперидина [1, 5, 6]. Базисным фармакологическим действием диосмина является капилляропротективное. Кроме того, диосмин обладает противовоспалительным, антиоксидантным и антимуtagenным эффектами, а также улучшает реологические свойства крови и лимфатический дренаж, поэтому применяется для фармакотерапии ХЗВ [1, 7–9]. Одним из вариантов получения диосмина является расщепление другого флавоноида, схожего с ним по структуре и фармакологическим свойствам – гесперидина. Поэтому их сочетание в одном лекарственном средстве является, несомненно, эффективным, что было доказано за многие годы использования данной композиции в лекарственном препарате Детралекс® [5, 11].

Что касается физико-химических свойств действующих веществ, то сама структура диосмина и гесперидина способствует практической их нерастворимости в воде. Поэтому для повышения раство-

римости и, соответственно, усиления биодоступности прибегают к таким эффективным технологическим приемам как изменение размера частиц действующего вещества, в том числе к микронизации [12].

Поэтому на современном фармацевтическом рынке РФ Детралекс® занимает лидирующие позиции среди венотоников, благодаря доказанной эффективности, связанной с наличием в его комбинации микронизированной очищенной флавоноидной фракции, в результате чего данный лекарственный препарат при систематическом приеме снимает выраженность соответствующих клинических симптомов, и это позволяет использовать его как для лечения, так и для предотвращения прогрессирования ХЗВ [4].

Эффективность фармакодинамики Детралекса® по многим фармакокинетическим параметрам усиливается благодаря технологическим особенностям данной лекарственной формы [12]. Действующий комплекс Детралекса® представлен в виде микронизированной фракции флавоноидов, 90% которых принадлежит диосмину и 10% другим активным флавоноидам в пересчете на гесперидин (гесперидин, диосметин, линарин и изорхоифолин). Эти компоненты играют важную роль в активности лекарственного вещества [13]. Введение в организм человека веществ в мелкодисперсном состоянии, в том числе в виде микронизированных комплексов, способствует созданию большей поверхности твердой фазы, увеличивает скорость и степень (полноту) адсорбции в ЖКТ, что позволяет получить более высокий терапевтический эффект.

В фармацевтической практике имеются аналогичные технологические примеры, в частности, это касается такого лекарственного препарата как глибенкламид, микронизация субстанции которого зна-

чительно усилила его фармакодинамические эффекты как гипогликемического средства, применяемого при лечении сахарного диабета 2-го типа [14].

Скорость всасывания лекарственного средства в организме зависит от скорости высвобождения действующего вещества (экстрагирование из твердой лекарственной формы). В свою очередь, скорость высвобождения определяется, в том числе, степенью измельчения, что в последующем может стать основанием для определения различий в клинической эффективности препаратов с одним и тем же действующим веществом, о чем свидетельствуют положения фармакокинетики [4, 13].

ЦЕЛЬ. Сравнительное определение динамики и результативности растворения лекарственных препаратов, содержащих биофлавоноидные фракции, при проведении теста «Растворение», а также анализ степени микронизации и ее влияние на технологию и биофармацевтические показатели.

Для этого необходимо было использовать достаточное количество буферных растворов/временных точек исследования/число проб для каждой точки. В качестве объектов сравнения были использованы лекарственные препараты: Детралекс® (таблетки по 1,0 г)¹ и таблетированные объекты, обозначенные как А, В, С, D, X, Y, Z, описанные в разделе «Материалы и методы» и содержащие в качестве действующих веществ только диосмин или комбинацию диосмина и гесперидина согласно Государственного реестра лекарственных средств РФ (ГРЛС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биофармацевтический профиль высвобождения – показатель, характеризующий уровень высвобождения действующего вещества (в нашем случае диосмина, гесперидина) из лекарственной формы (таблеток) в определенный промежуток времени².

При этом были проанализированы следующие модели: Детралекс® (таблетки по 1,0 г) [22], а также таблетированные формы препаратов: А (ЛП-003561), В (ЛП-005365), С (ЛП-005215), D (ЛП-004167), X (ЛП-003371), Y (ЛП-002517), Z (П N016081/01) согласно официального сайта ГРЛС².

Контроль высвобождения действующих веществ проводили в следующих условиях: 0–1 час (раствор кислоты соляной pH=1,5), 1–4 часа (раствор фосфатного буфера pH=4,5), 4–24 часа (раствор фосфатного буфера pH=7,2). Объем среды 900 мл, скорость вращения 100 мин⁻¹, температура определения 37±0,5°C [5].

Исследования методом ВЭЖХ проводились с использованием системы UltiMate 3000 (фирма «Dionex», США) со спектрофотометрическим детек-

тором, охватывающим рабочий диапазон длин волн в области от 190 до 900 нм. Сбор и обработка данных проводилась с использованием системы сбора и обработки хроматографических данных Chromeleon, версия 7, «Dionex», США.

Центрифугирование проб перед ВЭЖХ анализом проводилось на центрифуге лабораторной с принадлежностями SIGMA 2-16P, производства «Сигма Лаборцентрифуген ГмбХ», Германия. Перед проведением анализа испытуемые растворы фильтровались через Nylon Membrane, 0,2 µm 25 mm Syringe Filters, Phenomenex, США. Все растворы проб перед помещением их в прибор, центрифугировались при 8000 мин⁻¹, в течение 3 мин.

Взвешивание образцов проводилось на весах лабораторных электронных ЛВ 210-А, ЗАО «Сартогосм», г. Санкт-Петербург, Россия.

Контроль уровня pH растворов осуществлялся с использованием pH-метра pH-150МИ, ООО «Измерительная техника», г. Москва, Россия.

Условия хроматографирования

Подвижная фаза: ацетонитрил : 0,05 М кислота фосфорная (23:77), хроматографическая колонка из нержавеющей стали Luna C18 (2) размером 250 x 4,6 мм с размером частиц 5 мкм, скорость потока 0,9 мл/мин, температура колонки 25°C, детектирование при 280 нм, объем вводимой пробы 20 мкл, время анализа 10 минут.²

Распадаемость таблеток определяли согласно методикам ГФ XIV изд. Т.2 ОФС.1.4.2.0015.15 [23].

Характеристика формы и размера частиц таблеток проводилась согласно ОФС.1.2.1.0009.15 «Оптическая микроскопия» при помощи модульного светового исследовательского микроскопа В-1000BF (Optima spectator 40×400), снабженного цифровой камерой с разрешением 16 Мп. Микроскопию матрикса таблеток изучаемых препаратов проводили после самопроизвольного распада таблеток в водном растворе при pH 6,8. При этом измеряли размеры частиц суспензии таблетки, состоящей из флавоноидной фракции и вспомогательных компонентов [5].

Измерение формы и размера частиц проводили на микрометре окулярном винтовом МОВ-1-16^x, являющемся приставкой к окулярному микроскопу Optima spectator 40×400.

Размер частиц определяли по формуле [16]:

$$t = \frac{II - I}{\beta},$$

где: t – размер частиц, мм; (II – I) – разность двух отсчетов по шкалам окулярного микроскопа, мм; β – линейное увеличение объектива 15×40=600.

¹ Таблетки Детралекс® показания к применению // Tyubik.Net. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=%u0434%u0435%u0442%u040%u0430%u043b%u0435%u043a%u0441%u0441&m=tn> (дата обращения: 01.01.2020).

² Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> (дата обращения: 15.03.2020)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения биофармацевтического профиля рассматриваемых таблеток представлены в таблице 1.

Полученные данные свидетельствуют о том, что за 24 часа из таблеток Детралекс® высвобождается 1,26% действующих веществ; из таблеток препарата А – 0,11% действующих веществ; из таблеток препарата В – 0,066% действующих веществ; из таблеток препарата С – 0,103% действующего вещества; из таблеток препарата D – 0,106% действующих веществ; из таблеток препарата X – 0,075% действующих веществ; из таблеток препарата Y – 0,033% действующих веществ; из таблеток препарата Z – 0,202% действующего вещества.

Полученные сравнительные данные изучения биофармацевтического профиля всех лекарственных препаратов представлены на рисунке 1.

Представленные данные свидетельствуют о том, что состав основных веществ препарата Детралекс®, а также особенности его технологии производства (микронизация), обеспечивают более высокую биодоступность диосмина и гесперидина (1,26%) по сравнению с анализируемыми препаратами (не более 0,2%). Анализ полученных данных позволяет сделать выводы о различиях в скорости высвобождения изученных препаратов, которые представлены на рисунке 2. Если условно принять скорость высвобождения действующих веществ Детралекса® как самую высокую за единицу, то действующие вещества препарата Z через 24 часа высвобождаются в 6 раз медленнее; препарата А – в 11 раз медленнее; препаратов С и D – в 12 раз медленнее; препарата X – в 17 раз медленнее; препарата В – в 19 раз медленнее; препарата Y – в 38 раз медленнее.

Таким образом, для большинства препаратов на

основе флавоноидов существует необходимость в дополнительных технологических подходах для повышения биодоступности диосмина и гесперидина при определении *in vitro* и *in vivo*. Так, например, в клиническом исследовании, проведенном Garner с соавт. [17], приведены доказательства преимущества микронизации в улучшении всасывания плохо растворимого диосмина. Абсорбция микронизированных форм диосмина оказалась значительно эффективнее, чем абсорбция немикронизированных ($p < 0,001$), что подтверждалось данными о накопленной радиации, обнаруженной в моче в период до 168 ч. (с преобладанием в течение первых 24 ч.). С учетом представительности данных по моче для показателя минимальной поглощенной фракции, полученные результаты со всей очевидностью демонстрируют, что уменьшение размера частиц позволяет обеспечить более полную абсорбцию диосмина [18]. Такой подход может способствовать повышению эффективности лечения пациентов с ХЗВ и геморроем, а также снижению побочных эффектов, вызванных высокой дозой неабсорбированных флавоноидов.

При проведении соответствующих биофармацевтических испытаний были соблюдены требования определения биоэквивалентности методом *in vitro* в рамках процедуры биоейвер [1, 19, 20], что позволило использовать настоящую процедуру для оценки биоэквивалентности таблеток Детралекс® и препаратов схожего состава и клинического назначения [16, 21, 22].

Для установления возможных причин различий изучаемых препаратов по степени высвобождения были проведены дополнительные технологические исследования с помощью визуализации частиц таблеток в растворе (оптическая микроскопия).

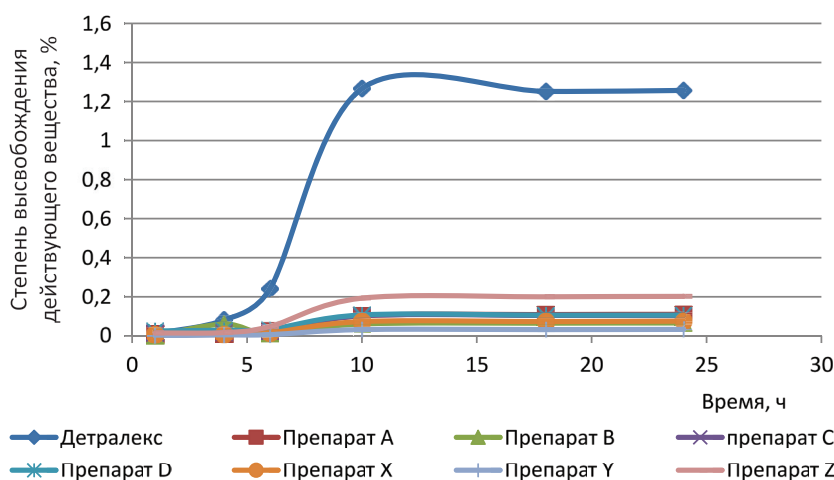
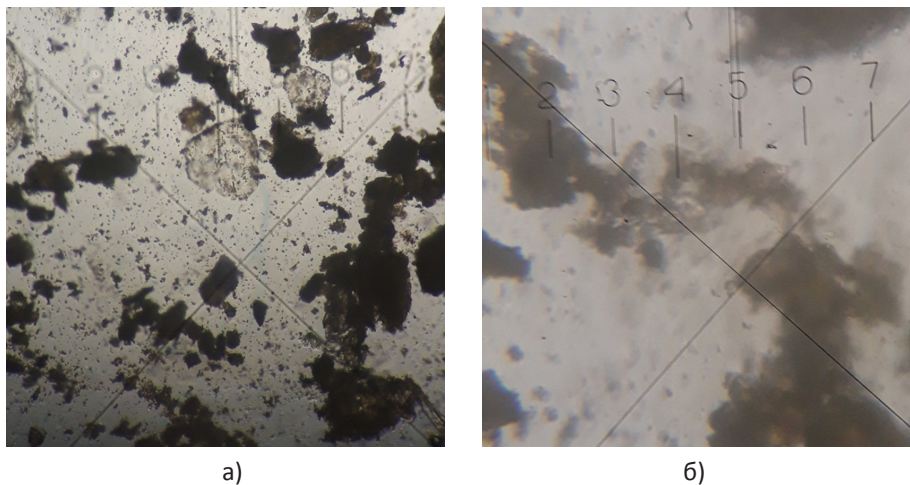


Рисунок 1 – Результаты изучения биофармацевтического профиля таблеток, содержащих диосмин и гесперидин

Таблица 1 – Изучение биофармацевтического профиля лекарственных препаратов Детралекс®, препаратов А, В, С, D, X, Y, Z

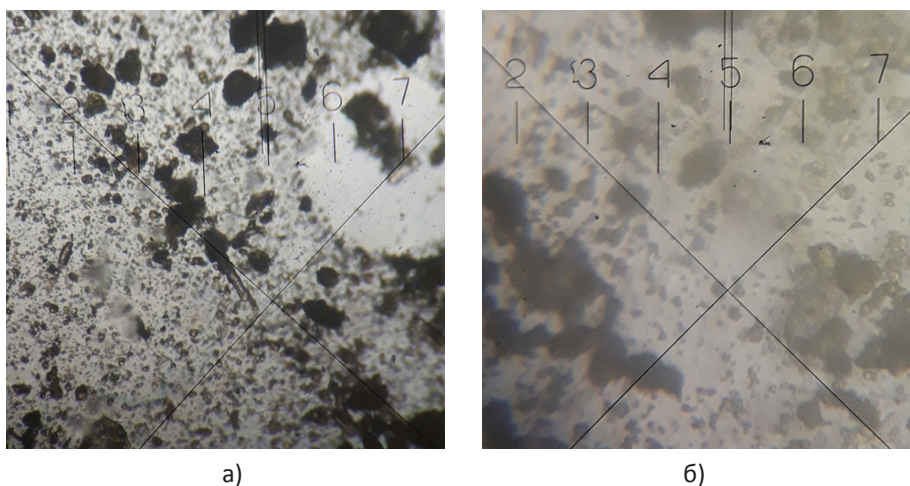
Время	1 ч.	4 ч.	6 ч.	10 ч.	18 ч.	24 ч.
1	2	3	4	5	6	7
Детралекс®						
Высвобождение вещества, %	0,01	0,08	0,242	1,262	1,236	1,264
	0,009	0,078	0,236	1,284	1,288	1,293
	0,009	0,076	0,244	1,285	1,267	1,214
	0,011	0,085	0,252	1,298	1,174	1,194
	0,01	0,092	0,238	1,226	1,284	1,302
	0,01	0,076	0,239	1,239	1,263	1,273
Среднее	0,01	0,081	0,242	1,266	1,252	1,257
Препарат А						
Высвобождение вещества, %	0,009	0,011	0,022	0,094	0,088	0,095
	0,0075	0,009	0,036	0,105	0,124	0,087
	0,0068	0,009	0,019	0,116	0,126	0,135
	0,0078	0,0085	0,024	0,084	0,115	0,114
	0,0081	0,012	0,035	0,094	0,096	0,124
	0,0065	0,011	0,021	0,123	0,105	0,108
Среднее	0,0076	0,01	0,026	0,103	0,109	0,110
Препарат В						
Высвобождение вещества, %	0,0005	0,008	0,012	0,068	0,072	0,074
	0,0008	0,006	0,009	0,074	0,087	0,078
	0,0010	0,008	0,009	0,053	0,056	0,053
	0,0005	0,004	0,014	0,049	0,054	0,058
	0,0004	0,006	0,016	0,058	0,059	0,069
	0,0005	0,006	0,012	0,065	0,062	0,066
Среднее	0,0006	0,060	0,012	0,061	0,065	0,066
Препарат С						
Высвобождение вещества, %	0,014	0,018	0,024	0,104	0,117	0,106
	0,017	0,014	0,018	0,114	0,101	0,118
	0,015	0,016	0,019	0,094	0,093	0,112
	0,014	0,014	0,026	0,092	0,098	0,092
	0,012	0,018	0,021	0,111	0,114	0,094
	0,014	0,019	0,018	0,097	0,102	0,097
Среднее	0,014	0,016	0,021	0,102	0,104	0,103
Препарат D						
Высвобождение вещества, %	0,024	0,028	0,029	0,098	0,124	0,106
	0,018	0,024	0,033	0,118	0,111	0,124
	0,031	0,036	0,036	0,114	0,102	0,116
	0,026	0,028	0,041	0,096	0,094	0,091
	0,026	0,026	0,028	0,111	0,094	0,103
	0,022	0,031	0,034	0,105	0,110	0,097
Среднее	0,025	0,029	0,034	0,107	0,106	0,106
Препарат X						
Высвобождение вещества, %	0,0005	0,009	0,012	0,067	0,077	0,077
	0,0008	0,006	0,016	0,078	0,068	0,078
	0,0006	0,008	0,009	0,079	0,075	0,075
	0,0008	0,008	0,018	0,086	0,076	0,069
	0,0004	0,006	0,018	0,061	0,071	0,081
	0,0005	0,008	0,014	0,065	0,073	0,068
Среднее	0,006	0,0075	0,015	0,073	0,073	0,075
Препарат Y						
Высвобождение вещества, %	0	0,0035	0,0062	0,028	0,035	0,034
	0	0,0038	0,0074	0,028	0,038	0,028
	0	0,0048	0,0058	0,029	0,033	0,036
	0	0,0052	0,0064	0,039	0,029	0,031
	0	0,0044	0,0058	0,036	0,026	0,038
	0	0,0048	0,0056	0,031	0,030	0,031
Среднее	0	0,0044	0,0062	0,032	0,032	0,033
Препарат Z						
Высвобождение вещества, %	0,014	0,014	0,054	0,188	0,214	0,198
	0,016	0,018	0,050	0,212	0,197	0,206
	0,008	0,015	0,048	0,186	0,203	0,209
	0,018	0,016	0,044	0,189	0,187	0,211
	0,016	0,021	0,048	0,198	0,197	0,193
	0,015	0,018	0,046	0,185	0,201	0,197
Среднее	0,015	0,017	0,048	0,193	0,200	0,202

1. Препарат В (таблетки, МОФФ, 500 мг)

**Рисунок 2 – Микрофотография таблеток препарата В**

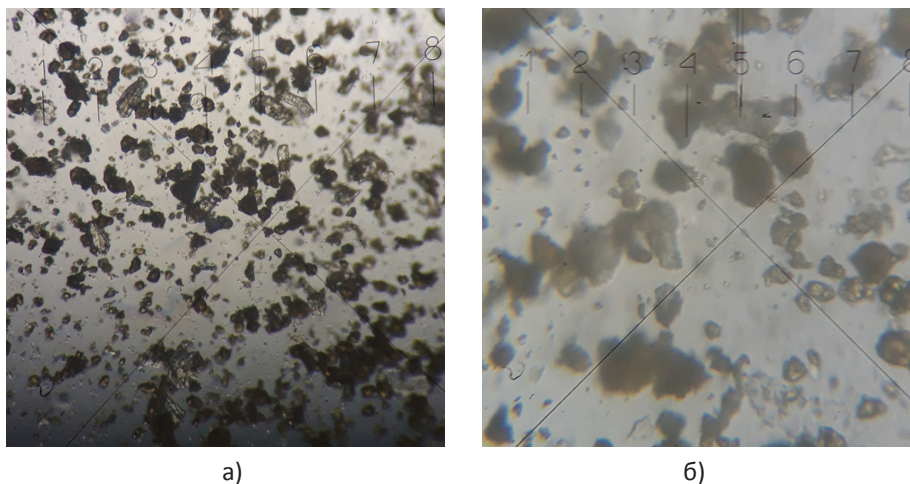
Примечание: а) увеличение 15×8; б) увеличение 15×40

2. Препарат С (таблетки, МОФФ, 1000 мг)

**Рисунок 3 – Микрофотография таблеток препарата С**

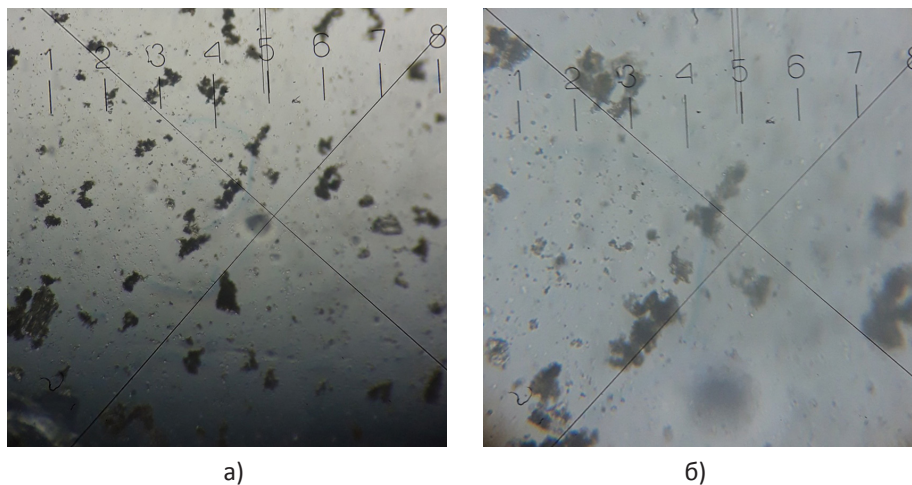
Примечание: а) увеличение 15×8; б) увеличение 15×40

3. Препарат У (таблетки, диосмин, 600 мг)

**Рисунок 4 – Микрофотография таблеток препарата У**

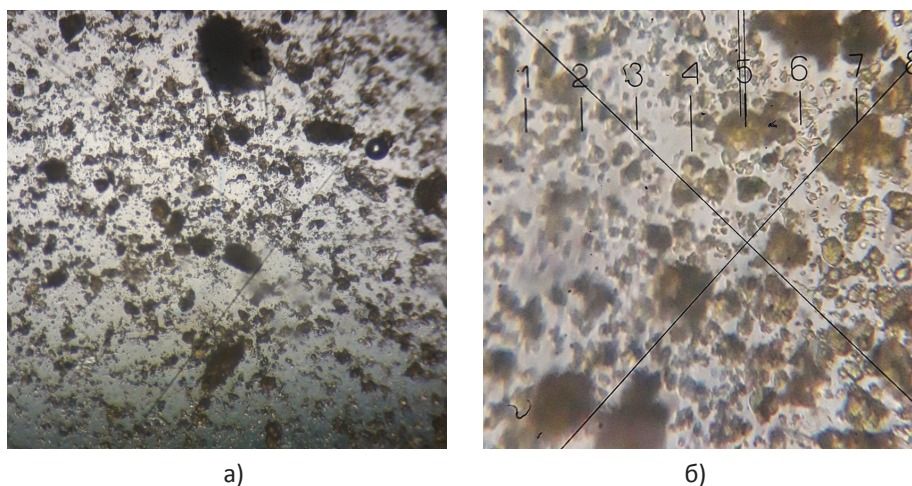
Примечание: а) увеличение 15×8; б) увеличение 15×40

4. Препарат D (таблетки, 450 мг диосмин+50 мг гесперидин)

**Рисунок 5 – Микрофотография таблеток препарата D**

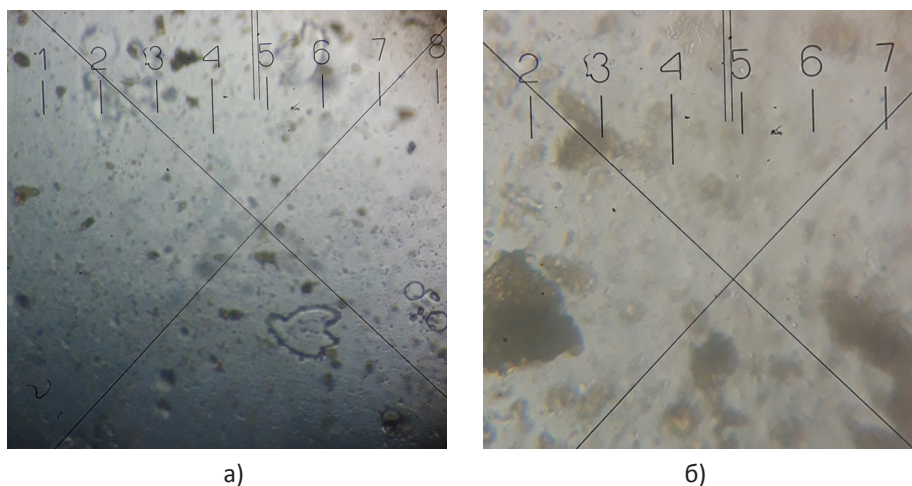
Примечание: а) увеличение 15×8; б) увеличение 15×40

5. Препарат Z (таблетки, диосмин, 600 мг)

**Рисунок 6 – Микрофотография таблеток препарата Z**

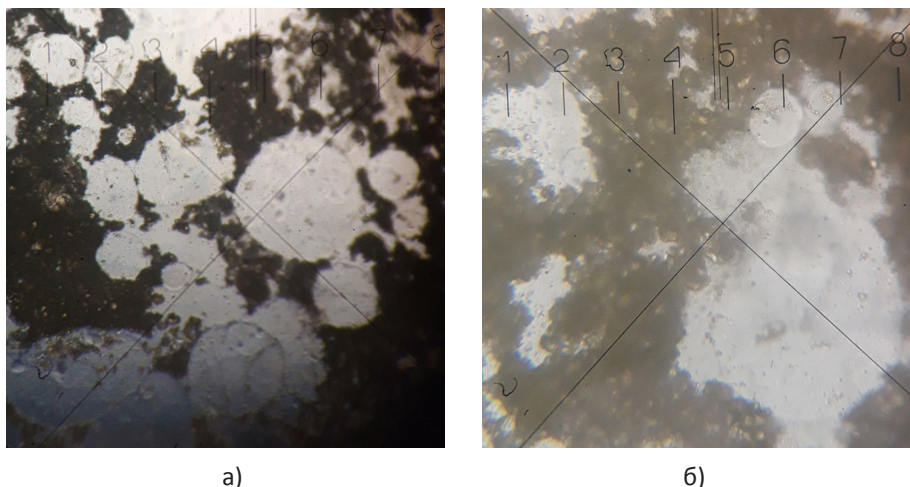
Примечание: а) увеличение 15×8; б) увеличение 15×40

6. Препарат X (таблетки, МОФФ, 500 мг)

**Рисунок 7 – Микрофотография таблеток препарата X**

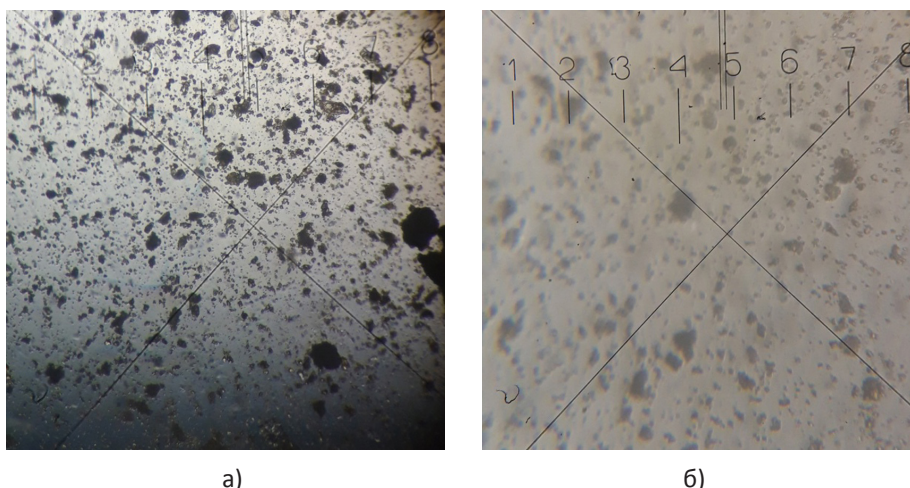
Примечание: а) увеличение 15×8; б) увеличение 15×40

7. Препарат А (таблетки, 1000 мг (диосмин 900 мг+100 мг гесперидин))

**Рисунок 8 – Микрофотография таблеток препарата А**

Примечание: а) увеличение 15×8; б) увеличение 15×40

8. Детралекс® (таблетки, 1000 мг)

**Рисунок 9 – Микрофотография таблетки Детралекс®**

Примечание: а) увеличение 15×8; б) увеличение 15×40

Таблица 2 – Сравнение полученных результатов оптической микроскопии

Препарат	Состав	Доза, мг	Размер частиц, мм	Микронизация
А	Диосмин, гесперидин	900/100	$50,1-12,0 \times 10^{-3}$	Нет
В	МОФФ	500	$83,4-0,8 \times 10^{-3}$ $56,2-0,42 \times 10^{-3}$	Есть
С	МОФФ	1000	$31,2-0,8 \times 10^{-3}$ $21,15-0,3 \times 10^{-3}$	Есть
У	Диосмин	600	$11,3-5,2 \times 10^{-3}$	Нет
Д	Диосмин, гесперидин	450/50	$12,1-1,8 \times 10^{-3}$	Нет
З	Диосмин	600	$18,2-1,2 \times 10^{-3}$	Нет
Х	МОФФ	500	$21,1-1,0 \times 10^{-3}$	Есть
Детралекс®	МОФФ	1000	$3,3-0,8 \times 10^{-3}$	Есть

**Определение характеристики формы
и размера частиц таблеток
сравниваемых моделей**

Как следует из рисунка 2, структура частиц таблетки после распада обусловлена в основном конгломератами микронизированной флавоноидной фракции со связывающими веществами желатином и карбоксиметилкрахмалом (дополнительные растворители гидрофобных соединений) и частично свободными микрокристаллами флавоноидов. Размер их находится в пределах от $83,4 \times 10^{-3}$ мм до $0,8 \times 10^{-3}$ мм по длине и от 56,2 до $0,42 \times 10^{-3}$ мм по ширине, что говорит о выраженной неоднородности микроскопической структуры препарата.

Как следует из рисунка 3, структура частиц таблетки С после распада обусловлена в основном свободными микрокристаллами флавоноидов, талька и целлюлозы микрокристаллической и, частично конгломератами связывающего вещества желатина с микронизированной флавоноидной фракцией. Все обнаруженные вещества, кроме флавоноидов, являются вспомогательными и играют роль дополнительных растворителей гидрофобных флавоноидов. Размеры частиц колеблются от $31,2 \times 10^{-3}$ мм до $0,8 \times 10^{-3}$ мм по длине и от 21,15 до $0,30 \times 10^{-3}$ мм по ширине, что говорит об изодиаметрическом характере кристаллов и большом разбросе в размерах частиц.

Как следует из рисунка 4, структура частиц таблетки У после распада обусловлена в основном свободными микрокристаллами флавоноидов и целлюлозы микрокристаллической. Размеры частиц однородны, относительно равного диаметра и находятся в пределах от $11,3 \times 10^{-3}$ мм до $5,2 \times 10^{-3}$ мм.

Как следует из рисунка 5, структура частиц таблетки D после распада обусловлена в основном конгломератами связывающих веществ гипромеллозы и карбоксиметилкрахмала натрия (вещества, улучшающие растворимость гидрофобных соединений) с немикронизированными частицами флавоноидов. Масса частиц включает небольшое количество свободных микрокристаллов флавоноидов, талька и целлюлозы микрокристаллической. Размеры частиц колеблются от $12,1 \times 10^{-3}$ мм до $1,8 \times 10^{-3}$ мм. Форма частиц, в основном, вытянутая с большим разбросом в размерах.

Как следует из рисунка 6, структура частиц таблетки Z обусловлена в основном свободными микрокристаллами флавоноидов, а также включениями вспомогательных компонентов: целлюлозы микрокристаллической, талька и аэросила, способствующих улучшению растворимости действующих флавоноидов. Размеры частиц неоднородны, но схожего диаметра и находятся в пределах от $18,2 \times 10^{-3}$ мм до $1,2 \times 10^{-3}$ мм.

Как следует из рисунка 7, структура частиц таблеток препарата Х обусловлена в основном конгломератами микронизированной флавоноидной фракции со связывающими веществами карбокси-

метилкрахмалом и повидоном К-30, а также включениями вспомогательного компонента – целлюлозы микрокристаллической, выполняющих функцию дополнительных растворителей свободных микрокристаллов флавоноидов, которые также видны на микрофотографии. Размеры частиц резко неоднородны, изодиаметричны (относительно равного диаметра) и находятся в пределах от $21,1 \times 10^{-3}$ мм до $1,0 \times 10^{-3}$ мм.

Как следует из рисунка 8, структура частиц таблеток препарата А обусловлена в основном конгломератами немикронизированных флавоноидов со связывающими веществами карбоксиметилкрахмалом натрия и желатином с небольшими включениями вспомогательных компонентов: целлюлозы микрокристаллической и талька, по-видимому, для улучшения растворимости действующих гидрофобных веществ. Масса частиц состоит из трудно распадающихся гранул с размером частиц от $50,1 \times 10^{-3}$ мм до $12,0 \times 10^{-3}$ мм, что подтверждает отсутствие применения технологии микронизации при производстве, и, как следствие, ухудшает всасывание и снижает терапевтическую эффективность данного препарата.

Как следует из рисунка 9, структура частиц таблетки Детралекс® обусловлена в основном свободными микрокристаллами флавоноидов и частично целлюлозы микрокристаллической. Размеры частиц однородны, изодиаметричны и находятся в пределах от $3,3 \times 10^{-3}$ мм до $0,8 \times 10^{-3}$ мм. Следует отметить, что микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) используется в качестве особого носителя, который способствует более полному диспергированию гидрофобных соединений. Эта добавка индифферентна к организму, однако в комплексе с карбоксиметилкрахмалом натрия образуется гелеобразная структура, позволяющая существенно увеличить дисперсную фазу препарата и расширить площадь всасывания. МКЦ акцептирует большое количество пристеночной воды в кишечнике, создавая оптимальные условия для растворения микрокристаллов препарата [12, 23–25].

Далее для удобства сравнения полученных данных оптической микроскопии приводили результаты в виде сводной таблицы (табл. 2). Среди четырех препаратов с микронизированной флавоноидной фракцией препарат С и Детралекс® имеют дозировку 1000 мг, а препараты В и Х – 500 мг. Среди всех четырех препаратов самым минимальным размером и однородностью частиц выделяется только Детралекс® ($3,3–0,8 \times 10^{-3}$), остальные три препарата имеют неоднородные частицы крупных размеров.

Таким образом, среди четырех препаратов с немикронизированной флавоноидной фракцией, два (А и D) имеют в своем составе 2 действующих вещества (диосмин и гесперидин) с практически схожими максимальными дозами (900/100 и 450/50 мг соответственно), а остальные два препарата (У и Z) содержат только диосмин в дозе 600 мг. При этом самый

минимальный размер обнаружен у двух препаратов (Y и D) с относительно однородными частицами: у препарата Y с диосмином ($11,3-5,2 \times 10^{-3}$) и неоднородными частицами вытянутой формы с большим разбросом по размеру частиц у препарата D с диосмином и гесперидином ($12,1-1,8 \times 10^{-3}$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показатели высвобождения действующих веществ всех исследуемых препаратов подтверждают их слабую растворимость в воде.

Результаты изучения биофармацевтического профиля и, соответственно разницы в скорости высвобождения, свидетельствуют о том, что состав основных веществ препарата Детралекс®, а также особенности его технологии производства (микронизация) обеспечивают в сравнительном аспекте более высокую биодоступность диосмина и гесперидина. Это, как минимум в 6 раз больше по сравнению с другими анализируемыми препаратами (не более 0,2% в целом), в частности с препаратом Z, и, как максимум в 38 раз по сравнению с препаратом Y через 24 ч наблюдения.

Результаты оптической микроскопии продемонстрировали выраженное преимущество препарата Детралекс®, заключающееся в наличии самого минимального и однородного размера обнаруженных частиц, что свидетельствует о высоком качестве ми-

кронизации данного препарата, его несомненное соответствие требованиям GMP и положительном влиянии на высвобождение.

Таким образом, по результатам проведенных исследований, полученные количественные показатели высвобождения подтверждают низкую растворимость в водных средах флавоноидных соединений всех проанализированных таблетированных препаратов. Однако по данным показателям значительно выделяется препарат Детралекс®, демонстрируя более чем в 6 раз лучшие показатели высвобождения через 24 часа. При этом уровень его оптимального высвобождения подтверждается и данными микроскопических исследований, которые, в первую очередь, обусловлены высоким качеством технологии микронизации действующих гидрофобных веществ.

Несмотря на наличие вспомогательных веществ в составе всех исследованных таблетированных препаратов, которые могут образовывать комплексы, способствующие растворимости, доминирующее преимущество в растворении, имеет технология микронизации, которая применяется при производстве препарата Детралекс®. Поэтому применение микронизации представляется, на текущий момент, оптимальной с точки зрения затратной эффективности и позволяет предполагать определенные преимущества перед другими объектами исследования в плане их биофармацевтических характеристик.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Степанова Э.Ф. – выбор оптимального варианта биофармацевтических исследований, составление введения, заключения, аннотации; Ремезова И.П. – выполнение биофармацевтических исследований, написание обзора; Шевченко А.М. – получение лекарственных форм, сравнительная оценка;

Морозов А.В. – выполнение биофармацевтических исследований;

Мальцева В.К. – выбор оптимального варианта биофармацевтических исследований, написание результатов и обсуждения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Богачев В.Ю., Голованова О.Е., Кузнецов А.Н., Шекоян А.О. Биофлавоноиды и их значение в ангиологии. Фокус на диосмин // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19. – №1. – С. 1–9.
2. Савельев В.С., Покровский А.В., Сапелкин С.В., Богачев В.Ю., Богданец Л.И., Золотухин И.А. Микронизированный диосмин (Детралекс®) при лечении трофических язв венозной этиологии – европейский опыт // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2006. – Т. 12. – №3. – С. 53–60.
3. Жукембаева А.М. Хроническая венозная недостаточность при варикозной болезни нижних конечностей: патогенез, лечение // Вестник Кыргызско-Российского славянского университета. – 2015. – Т. 15. – № 11. – С. 61–64.
4. Шайдаков Е.В., Царев О.И., Булатов В.Л., Григорян А.Г., Росуховский Д.А. Эффективность и переносимость препаратов Диофлан и Детралекс в лечении хронических заболеваний вен: открытое, сравнительное, международное многоцентровое рандомизированное проспективное исследование // Докладная медицина и фармакоэкономика. – 2015. – №6 (18). – С. 95–115.
5. Богачев В.Ю., Голованова О.В., Кузнецов А.Н., Шекоян А.О. О целесообразности перооперационной флебопротекции при эндоваскулярном лечении варикозной болезни вен нижних конечностей. Первые результаты исследования Decision // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2012. – Т. 18. – № 2. – С. 90–95.
6. Богачев В.Ю., Болдин Б.В., Туркин П.Ю. Детралекс – флебосклерозирующее лечение. Результаты национальной многоцентровой наблюдательной програм-

- мы Ven act prolonged – C1. // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24. – № 1. – С. 102–106.
7. Шнеур С.Я., Бахно Д.А., Джуманова Д. Анализ потребительских предпочтений венотонизирующих средств // Тверской медицинский журнал. – 2017. – № 2. – С. 27–28.
 8. Онищук А.Г., Левкович А.А. Лекарственные препараты, применяемые при варикозном расширении вен // Вестник научных конференций. – 2019. – № 6–2 (46). – С. 100–101.
 9. Воронков А.В., Гамзелева О.Ю. Обзор современных флеботропных препаратов на основе флавоноидов как перспективных эндотелиопротекторов при лечении хронических заболеваний вен // Стационарозамещающие технологии: Амбулаторная хирургия. – 2019. – №1–2. – С. 27–33.
 10. Ахметзянов Р.В., Бредихин Р.А. Клиническая эффективность препарата детралекс в лечении пациенток с варикозной болезнью вен таза // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24 – №2. – С. 1–6.
 11. Colerig-Smith P., Lok C., Ramelet A.-A. Venous leg ulcer: a meta-analysis of adjunctive therapy with micronized purified flavonoid fraction // European Journal of Vascular and Endovascular Surgery. – 2005. – Vol. 30. – P. 198–208.
 12. Савельева М.И., Сычев Д.А. Возможности фармакокинетического моделирования венотоников на примере биофлавоноидов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24. – №4. – С. 76–80.
 13. Cao R., Zhao Y., Zhou Z., Zhao X. Enhancement of the water solubility and antioxidant activity of hesperidin by chitooligosaccharide // J Sci Food Agric. – 2018. – Vol. 98. – No.6. – P. 2422–2427. DOI: 10.1002/jsfa.8734.
 14. Paysant J., Sansilvestri-Morel P., Bouskela E., Verbeuren T.J. Different flavonoids present in the micronized purified flavonoid fraction (Daflon 500 mg) contribute to its anti-hyperpermeability effect in the hamster cheek pouch microcirculation // Int. Angiol. – 2008. – Vol. 27. – No.1. – P. 81–85.
 15. Журавлева М.В., Сереброва С.Ю., Прокофьев А.Б., Пономаренко Т.М., Демченкова Е.Ю., Городецкая Г.И. Современные венотонизирующие препараты: возможности клинической фармакологии и фармакотерапии // Лечащий врач. – 2017. – № 7. – С. 25.
 16. Zupanets, I.A., Shebeko S.K., Zimin S.M. Comparative study of the original technology of micronization of the purified flavonoid fraction of “Detraleks” and the technology of micronization of drugs D and N of the Ukrainian manufacturers // Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. – 2018. – Vol. 11. – No.10. – P. 504–508.
 17. Королев А.В. Оценка фармацевтической эквивалентности лекарственных препаратов на этапе их регистрации // Хим.-фарм. журнал. – 2009. – Т. 43. – №3. – С. 49–52.
 18. Garner R.C., Garner J.V., Gregory S., Whattam M., Calam A., Leong D. Comparison of the absorption of micronized (Daflon 500 mg) and nonmicronized 14C-diosmin tablets after oral administration to healthy volunteers by accelerator mass spectrometry and liquid scintillation counting // J Pharm Sci. – 2002. – Vol. 91. – No.1. – P. 32–40. DOI: 10.1002/jps.1168.
 19. Арзамасцев А.П., Дорофеев В.Л. Эквивалентность воспроизведенных лекарственных средств: фармацевтические аспекты // Ведомости НЦ ЭСМП. – 2007. – №1. – С. 6–11.
 20. Белоусов Ю.Б. Проблема эквивалентности оригинальных и воспроизведенных ЛС с позиций клинического фармаколога // Ведомости НЦ ЭСМП. – 2007. – №1. – С. 32–36.
 21. Багирова В.Л., Киселева Г.С., Тенцова А.И. Методические указания по разработке теста «Растворение» на индивидуальные препараты // Фарматека. – 1997. – № 1. – С. 39–40.
 22. Смехова И.Е., Вайнштейн В.А., Ладутько Ю.М., Дружининская О.В., Турецкова Н.Н. Дезинтегранты и их влияние на растворение субстанций разных классов по биофармацевтической классификационной системе // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – № 4. – С. 62–72.
 23. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. XIV изд. Т. 2. Москва. – 2018. – С. 2164–2182. ОФС.1.4.1.0015.15. Растворение для твердых дозированных лекарственных форм. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 15.09.2018)
 24. Трофимов С.В., Степанова Э.Ф. Лекарственные формы глйбенкламида: современные технологии для решения актуальных проблем // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2014. – №2. – С. 64–67.
 25. Szeleszczuk Ł., Pisklak D.M., Zielińska-Pisklak M., Wawer I. Spectroscopic and structural studies of the diosmin monohydrate and anhydrous diosmin // Int J Pharm. – 2017. Vol. 30. – No.529 (1–2). – P. 193–199. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.06.078.

АВТОРЫ

Степанова Элеонора Федоровна – доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-4082-3330. E-mail: efstepanova@yandex.ru

Ремезова Ирина Петровна – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры токсикологической и аналитической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3456-8553. E-mail: i.p.remezova@pmedpharm.ru

Шевченко Александр Михайлович – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицин-

ской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-8373-5907. E-mail: nplfarmak-50@yandex.ua

Морозов Андрей Владимирович – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8553-4073. E-mail: andrewmorozov@mail.ru

Мальцева Виктория Константиновна – аспирантка 4-го года обучения кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5886-6219. E-mail: maltsev.tom@mail.ru

УДК 615.262.1, 615.324



ПРИМЕНЕНИЕ СЕКРЕТОМА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ АДЬЮВАНТНОГО АРТРИТА И КОНТАКТНО-АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА НА ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ

П.А. Голубинская¹, М.В. Сарычева¹, А.А. Должиков¹, В.П. Бондарев², М.С. Стефанова³,
В.О. Солдатов¹, С.В. Надеждин¹, М.В. Корокин¹, М.В. Покровский¹, Ю.Е. Бурда¹

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

² Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Областное патологоанатомическое бюро»
комитета здравоохранения Курской области
305007, Россия, г. Курск, ул. Сумская, 45а

³ Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения
«Городская больница №2 г. Белгорода»
308036, Россия, г. Белгород, ул. Губкина, 46

E-mail: polinapigeon@gmail.com

Получено 15.10.2020

Принята к печати 30.12.2020

Терапевтическое действие мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток доказано на различных моделях заболеваний. Одним из механизмов является паракринное воздействие клеток на окружающие ткани.

Цель. Изучение эффективности секрета мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток при лечении адьювантного артрита и контактно-аллергического дерматита у крыс линии Wistar.

Материалы и методы. На 26 самках крыс введением полного адьюванта Фрейнда моделировали адьювантный артрит, лечили введением 100 мкл секрета мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток или физиологического раствора. На 30 самках крыс моделировали контактно-аллергический дерматит путём нанесения на кожу 200 мкл масляного раствора динитрофторбензола на 1, 5 и 6-е сутки, затем лечили мазью с флуоцинолоном (положительный контроль), детским кремом (отрицательный контроль), детским кремом с секретом от нативных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток или от клеток, обработанных дексаметазоном.

Результаты. Секретом не оказал противовоспалительного эффекта при адьювантном артрите, судя по показателям продольных и поперечных размеров лап у крыс и гистологического исследования. Наиболее эффективным на модели контактно-аллергического дерматита оказался крем с секретом от мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, обработанных дексаметазоном, – клиническое улучшение наступило на 2 сутки. Секретом от нативных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток и флуоцинолон оказали терапевтический эффект на 3 сутки применения, отрицательный контроль – на 4 сутки. Коэффициент лимфоцитарной инфильтрации был достоверно ниже ($p < 0,05$) во всех случаях по сравнению с отрицательным контролем ($2,8 \pm 0,1$), однако самая низкая инфильтрация наблюдалась при использовании крема с секретами от нативных ($1,75 \pm 0,1$) и стимулированных дексаметазоном ($1,76 \pm 0,1$) мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток.

Заключение. Крем с секретом мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток на модели контактно-аллергического дерматита, который является классической местной реакцией гиперчувствительности замедленного типа, сильнее подавляет лимфоцитарную инфильтрацию, чем высокоактивный топический глюкокортикостероид – флуоцинолон. Однако требуется дальнейшее изучение терапевтического действия секрета на моделях системных воспалительных заболеваний после его предварительной очистки от крупномолекулярных белков.

Ключевые слова: стволовые клетки; воспаление; секретом; адьювантный артрит; аллергический дерматит

Список сокращений: АА – адьювантный артрит; ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа; ГКС – глюкокортикостероиды; ДНФБ – динитрофторбензол; ИЛ – интерлейкин; КАД – контактно-аллергический дерматит; кДа – килодальтоны; ММСК – мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки; мРНК – микро-рибонуклеиновая кислота; РНК – рибонуклеиновая кислота; CD – кластер дифференцировки; FoxP3 – белок Forkhead box P3; IFN γ – интерферон гамма; NF- κ B – ядерный фактор «каппа-би»; NK-клетки – натуральные киллеры; STAT5 – сигнальный преобразователь и активатор транскрипции 5; Th1, Th17 – Т-хелперы 1, Т-хелперы-17; TNF α – фактор некроза опухоли альфа.

Для цитирования: П.А. Голубинская, М.В. Сарычева, А.А. Должиков, В.П. Бондарев, М.С. Стефанова, В.О. Солдатов, С.В. Надеждин, М.В. Корокин, М.В. Покровский, Ю.Е. Бурда. Применение секрета мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в лечении адьювантного артрита и контактно-аллергического дерматита на животных моделях. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):416-425. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425

© П.А. Голубинская, М.В. Сарычева, А.А. Должиков, В.П. Бондарев, М.С. Стефанова, В.О. Солдатов, С.В. Надеждин, М.В. Корокин, М.В. Покровский, Ю.Е. Бурда, 2020

For citation: P.A. Golubinskaya, M.V. Sarycheva, A.A. Dolzhikov, V.P. Bondarev, M.S. Stefanova, V.O. Soldatov, S.V. Nadezhdin, M.V. Korokin, M.V. Pokrovsky, Yu.E. Burda. Application of multipotent mesenchymal stem cell secretome in the treatment of adjuvant arthritis and contact-allergic dermatitis in animal models. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):416-425. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425

APPLICATION OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STEM CELL SECRETOME IN THE TREATMENT OF ADJUVANT ARTHRITIS AND CONTACT-ALLERGIC DERMATITIS IN ANIMAL MODELS

P.A. Golubinskaya¹, M.V. Sarycheva¹, A.A. Dolzhikov¹, V.P. Bondarev², M.S. Stefanova³,
V.O. Soldatov¹, S.V. Nadezhdin¹, M.V. Korokin¹, M.V. Pokrovsky¹, Yu.E. Burda¹

¹Belgorod State National Research University
85, Pobeda St., Belgorod, Russia 308015

²Regional Pathoanatomical Bureau of the Health Committee of the Kursk Region
45a, St. Sumskaia, Kursk, Russia, 305007

³City Hospital No. 2
46, Gubkin St., Belgorod, Russia 308036

E-mail: polinapigeon@gmail.com

Received 15 Oct 2020

Accepted 30 Dec 2020

The therapeutic effect of multipotent mesenchymal stem cells has been proven on various disease models. One of the mechanisms is the paracrine effect of the cells on the surrounding tissues.

The aim. To investigate the secretome effectiveness of the multipotent mesenchymal stem cells in the treatment of adjuvant arthritis and contact-allergic dermatitis in Wistar rats.

Materials and methods. Adjuvant arthritis was simulated in 26 female rats by the administration of Freund's complete adjuvant and then treated with the administration of 100 µl of multipotent mesenchymal stem cell secretome or saline. Contact-allergic dermatitis was modeled on 30 female rats by applying 200 µl of an oil solution of dinitrofluorobenzene to the skin on days 1, 5 and 6. Then the rats were treated with fluocinolone ointment (a positive control), baby cream (a negative control), baby cream with a secretome of native multipotent mesenchymal stem cells or from the cells processed with dexamethasone.

Results. Judging by the indicators of the longitudinal and transverse dimensions of the paws in rats and a histological examination, the secretome did not have any anti-inflammatory effect on adjuvant arthritis. A cream with a secretome from multipotent mesenchymal stem cells processed with dexamethasone, was the most effective on the model of contact-allergic dermatitis: the clinical improvement occurred on the 2nd day. The secretome from native multipotent mesenchymal stem cells and fluocinolone had a therapeutic effect on the 3rd day of application, the negative control – on the 4th day. The lymphocytic infiltration coefficient was significantly lower ($p < 0.05$) in all the cases compared to the negative control (2.8 ± 0.1). However, the lowest infiltration was observed when the cream with secretome from native (1.75 ± 0.1) and dexamethasone-stimulated (1.76 ± 0.1) multipotent mesenchymal stem cells was being used.

Conclusion. The cream with the secretome of multipotent mesenchymal stem cells suppresses lymphocytic infiltration more strongly than the highly active topical glucocorticosteroid – fluocinolone – on the model of contact-allergic dermatitis, which is a classic local delayed-type hypersensitivity reaction. However, a further study of the therapeutic effect of the secretome on models of systemic inflammatory diseases is required after its preliminary purification from large-molecular proteins.

Keywords: stem cells; inflammation; secretion; adjuvant arthritis; allergic dermatitis

Abbreviations: AA – adjuvant arthritis; DTHS – delayed-type hypersensitivity; GCS – glucocorticosteroids; DNFB – dinitrofluorobenzene; IL – interleukin; KAD – contact-allergic dermatitis; kDa – kilodaltons; MMSC – multipotent mesenchymal stem cells; mRNA – micro-ribonucleic acid; RNA – ribonucleic acid; CD – cluster of differentiation; FoxP3 – FOXP3, Forkhead Box Protein P; IFNγ – interferon gamma; NF-κB – nuclear factor “kappa-bi”; NK cells – Natural killer cells; STAT5 – Signal transducer and activator of transcription 5; Th1 – T-helper 1; Th17 – T-helper 17; TNFα – Tumor necrosis factor α.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день изучение терапевтического действия секрета мультимпотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) является актуальным в области регенеративной медицины. Проведенные доклинические и клинические исследования доказали эффективность и безопасность ММСК в терапии atopического дерматита, остеоартрита и других воспалительных заболеваний [1–4]. Последнее десятилетие наблюдается рост исследований, связанных с изучением механизмов действия ММСК, связанных

с регенерацией тканей. Основными направлениями, в которых могут действовать ММСК, считаются: секреция биологически активных веществ, микровезикулы, экзосомы [5, 6]. Секретом ММСК содержит обширный спектр биологически активных веществ, обладает иммуномодулирующими свойствами и поэтому потенциально применим в терапии без использования самих клеток [7].

В отличие от секретомов ММСК, топические глюкокортикостероиды (ГКС), которые повсеместно применяются в терапии, имеют ряд недостатков. Во-пер-

вых, ГКС могут приводить к местным и системным побочным эффектам, развитие которых маловероятно при использовании секретомов ММСК [8]. Кроме того, противопоказаниями к применению ГКС являются ожоги и раны, что напротив, может быть показанием для использования секретомов ММСК.

Дексаметазон – мощный синтетический глюкокортикоид, который широко применяется в лечении воспалительных заболеваний, а также в клеточных технологиях для усиления дифференцировки ММСК в остео-, хондро- и адипогенном направлении *in vitro* [9]. Показано, что влияние дексаметазона на апоптоз, клеточный цикл, пролиферацию, дифференцировку ММСК зависит от времени воздействия и концентрации препарата [9]. Также дексаметазон влияет на профиль экспрессируемых ММСК РНК и мРНК [10], миграционную способность и форму клеток [11]. Усиленные дексаметазоном ММСК ингибируют экспрессию CD69 и продукцию IFN γ , а также фосфорилирование STAT5 в NK-клетках [12]. Возможно, получится использовать ГКС для подавления синтеза провоспалительных цитокинов опосредованно, с помощью обработанных дексаметазоном ММСК и их секретом, избегая повышенного риска развития осложнений, характерных для ГКС.

Установлено, что секретом ММСК снижает продукцию мононуклеарами крови провоспалительных цитокинов и цитокинов, вовлеченных в клеточно-опосредованное иммунное воспаление [13]. В литературе показано, что галектиновая сеть опосредует иммуномодулирующие эффекты ММСК [14, 15]. Показано стимулирующее влияние секретом ММСК жировой ткани, в составе которого обнаружено более 100 белков [16], на пролиферативную и миграционную способности различных типов клеток кожи [17]. Показана способность человеческих ММСК жировой ткани регулировать широкий спектр медиаторов воспаления вместе с подавлением Th1 и Th17 ответов при ревматоидном артрите [18]. Ранее нами было проведено пилотное исследование о влиянии секретом нативных и стимулированных дексаметазоном ММСК на течение экспериментальных заболеваний [19]. В этой связи, нами были выбраны соответствующие модели заболеваний – адьювантный артрит (АА) и контактно-аллергический дерматит (КАД), которые воспроизводят аутоиммунную реакцию, схожую с патогенезом ревматоидного артрита [20], и реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) соответственно.

ЦЕЛЬ. Изучение эффективности секретом ММСК на моделях воспалительных заболеваний: АА и КАД у крыс линии Wistar.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение секретом мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток

Секретом от ММСК из жировой ткани человека получали путём культивирования клеток на 4 пассаже в условиях газового инкубатора (37°C, 5% CO $_2$) в течение 48 часов в бессывороточной питательной

среде без фенолового красного DMEM/F12 (Панэко, Россия). Часть клеток обрабатывали 10 мкмоль/мл дексаметазона. Затем отмывали от препарата фосфатно-солевым буфером и также культивировали в течение 48 ч в бессывороточной питательной среде DMEM/F12 без фенолового красного (Панэко, Россия). Супернатант собирали, концентрировали с помощью установки для ультрафильтрации Vivaflow 200 (Sartorius, Германия) на мембранах с MWCO 3 кДа. В качестве белка для стандартизации был выбран галектин-1, поскольку доказано его присутствие в секретоме ММСК и известны его противовоспалительные свойства [20, 22]. Содержание галектина-1 в концентрированном секретоме определяли с помощью иммуноферментного анализа на наборах CloudClone Corp. (США). Затем доводили концентрацию галектина-1 до 6 пг/мл с помощью фосфатно-солевого буфера, поскольку галектин-1 был выбран в качестве идентифицируемого фактора с целью стандартизации препарата. В расчете на 1 г общего белка в секретоме ММСК обработанных дексаметазоном галектина-1 было в среднем в 1,5 раза больше, чем в секретоме нативных ММСК. Оптическую плотность для последующего вычисления концентрации белка измеряли с помощью Nano Photometer N60 (Implen, Германия). Полученный секретом стерилизовали с помощью фильтров с диаметром пор 0,22 мкм (Merk, Millipore, США) и до использования хранили при –20°C. Методика подготовки секретом подробно изложена в патенте RU 2747024 «Композиция с противовоспалительной и иммуносупрессивной активностью на основе секретом мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и способ ее получения».

Животные

Половозрелые крысы обоих полов линии Wistar (вес 200–260 г) были получены из питомника ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая» (Московская область, пос. Столбовая). Животные содержались в контролируемых условиях: индивидуальные вентилируемые клетки с температурой 21–22°C и влажностью воздуха 55–60%. Световой режим: 16 ч света и 8 ч темноты. Животных кормили полнорационным комбикормом. В качестве подстилки использовали древесные опилки. Для наркотизации животных применяли Золетил 100 (Virbac, Франция) в дозе 1 мг/100 г веса животного. Работа была выполнена с соблюдением всех биоэтических норм согласно «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов в иных научных целях» [Directive 2010/63/EU].

Дизайн исследования

Для моделирования АА 26 самкам крыс вводили 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда (Sigma, США) в плантарную поверхность задних лап [21].

Выбор самок животных для исследования обусловлен повышенной распространенностью моделируемого заболевания среди женщин [3]. Введение повторяли через неделю. Через 2 недели после первого введения наблюдался отёк задних лап, хромота. Затем в заднюю правую лапу опытным животным (10 крыс) подкожно вводили 100 мкл секрета ММСК. Другой опытной группе (10 крыс) вводили 100 мкл секрета от ММСК предварительно обработанных дексаметазоном. Группе контроля (6 крыс) в правую заднюю лапу вводили 100 мкл физиологического раствора. Задние левые лапы оставались без лечения. Отёк лап измеряли с помощью электронного штангенциркуля (Энкор 10740, Россия).

В качестве индуктора КАД использовали сначала 3% раствор динитрофторбензола (ДНФБ) в 1-е сутки, затем, на 5 и 6 сутки, – 1% раствор ДНФБ в оливковом масле, который наносили в объёме 200 мкл на депилированную кожу верхней половины спины 30 самок крыс линии Wistar [23]. На шестые сутки развивалось воспаление с гиперемией, отеком кожи, шелушением. Купирование воспаления проводили ежедневным однократным применением детского крема («Аванта», Россия) (отрицательный контроль), мази с топическим ГКС флуоцинолоном в концентрации 0,025% («Флуцинар», Jelfa, Польша) (положительный контроль), детского крема с добавлением секрета от обработанных дексаметазоном ММСК или секрета от необработанных ММСК. При этом у животных во всех 3 группах исследуемые препараты (секреты) или положительный контроль (флуоцинолон) наносили на область правой лопатки, а отрицательный контроль (детский крем) – на область левой лопатки, что позволило избежать необходимости создания отдельной контрольной группы и связанной с ней вариабельности индивидуального ответа. Детский крем был выбран в качестве основы, к которой добавлялся секрет ММСК, в силу его доступности и уже известных, клинически исследованных свойств крема.

Животных выводили из эксперимента путём цервикальной дислокации под наркозом. После визуальной оценки и фотопотоколирования подвергнутых экспериментальным воздействиям участков тела, вырезали кусочки кожи или задней лапы, которые фиксировали в 10% растворе формалина. Гистологические препараты с окраской гематоксилином и эозином были изготовлены стандартным способом. Исследование микропрепаратов проводили под микроскопом «Ломо», оснащённым видеокамерой «DV1000» с программой «McCrA-View 7.3.1.7» (ЛОМО-микросистемс, Россия). Для количественной оценки степени лимфоцитарной инфильтрации дермы производили полуколичественную оценку степени инфильтрации: слабая (1+) – до 5 лимфоцитов в площади сосочкового слоя; умеренная/средняя (2+) – 5–10 лимфоцитов; сильная/выраженная (3+) – больше 10 лимфоцитов. Данные статистически об-

рабатывали с помощью электронной таблицы MS Excel 2016, с вычислением среднего коэффициента инфильтрации. Дополнительно был проведен анализ частоты выраженной степени инфильтрации, которая сопровождается эпидермальными повреждениями, её зависимости от использованных для лечения препаратов.

Статистическая обработка результатов

Для статистического анализа использовали критерий Хи-квадрат Пирсона с поправкой Йейтса, критерий Фишера, U-критерий Манна-Уитни. Уровень значимости был принят $p < 0,05$. Вычисления производили с помощью программного обеспечения SPSSStatistics 17.0 (IBM, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

По показателям продольных и поперечных размеров лап у крыс с АА не было выявлено статистически значимых различий между группами. Гистологическое исследование показало, что использование секрета ММСК привело к развитию хронического артрита и периаартрита с гиперпластическим синовиом иммуновоспалительного характера без вовлечения костно-хрящевых структур (рис. 1, рис. 2). В контрольной группе при введении физиологического раствора отмечалось постепенное снижение воспалительных явлений в суставах лап, одинаковое с обеих сторон. Гистологически в синовиальной оболочке суставов были выявлены единичные полнокровные капилляры без признаков воспаления.

Макроскопическая оценка участков кожи с экспериментальным КАД в группе отрицательного контроля и их гистологическое исследование показали, что использованная модель заболевания адекватно воспроизводит изменения характерные для реакции гиперчувствительности замедленного типа: гиперемия и инфильтративно-воспалительные изменения кожи, преимущественно вокруг волосяных воронок наблюдались обильные чешуйчатые роговые массы, в некоторых случаях до образования крупных гиперкератотических бляшек. При гистологическом исследовании (рис. 3) выявлены воспалительные изменения за счет гиперкератоза, лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации с единичными эозинофилами, отека и сосудистой реакции.

При оценке степени лимфоцитарной инфильтрации с использованием градации по числу лимфоцитов в поле зрения установлено, что преобладали низкая (1+) и средняя (2+) степени, суммарно наблюдавшиеся в 67,2% оцененных участков дермы (таблица 1). Высокая степень лимфоцитарной инфильтрации преобладала в глубоких участках дермы. Лимфоцитарные и лимфоцитарно-макрофагальные инфильтраты часто располагались непосредственно вокруг венул, создавая картину лимфоцитарного веноулярного васкулита, характерного для КАД. Отдельные скопления мононуклеарных элементов имели вид гранул.

Таблица 1 – Индекс лимфоцитарной инфильтрации в разных группах лечения КАД

Группа	Индекс лимфоцитарной инфильтрации, среднее $\pm$ стандартное отклонение
Лечение детским кремом К(-)	2,8 $\pm$ 0,1
Лечение флуоцинолоном К(+)	2,18 $\pm$ 0,08*
Лечение детским кремом с секретомом ММСК	1,75 $\pm$ 0,1*#
Лечение детским кремом с секретомом от обработанных дексаметазоном ММСК	1,76 $\pm$ 0,1*#

Примечание: * – есть статистически значимые различия в сравнении с группой К(-), $p < 0,05$; # – есть статистически значимые различия в сравнении с группой К(+), $p < 0,05$

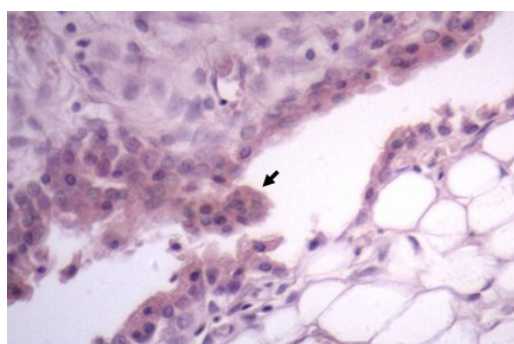


Рисунок 1 – Общий вид сустава с адьювантным артритом (стрелка)

Примечание: окрашено гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$

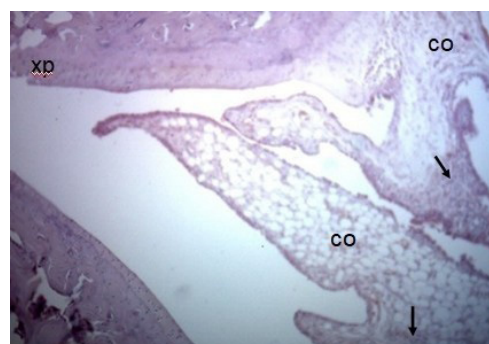


Рисунок 2 – Гиперплазия синовиоцитов с формированием псевдопапиллярных структур

Примечание: ХР – участок кости с суставным хрящом без видимых морфологических изменений; СО – складки синовиальной оболочки с диффузно-очаговой воспалительной инфильтрацией (стрелки)

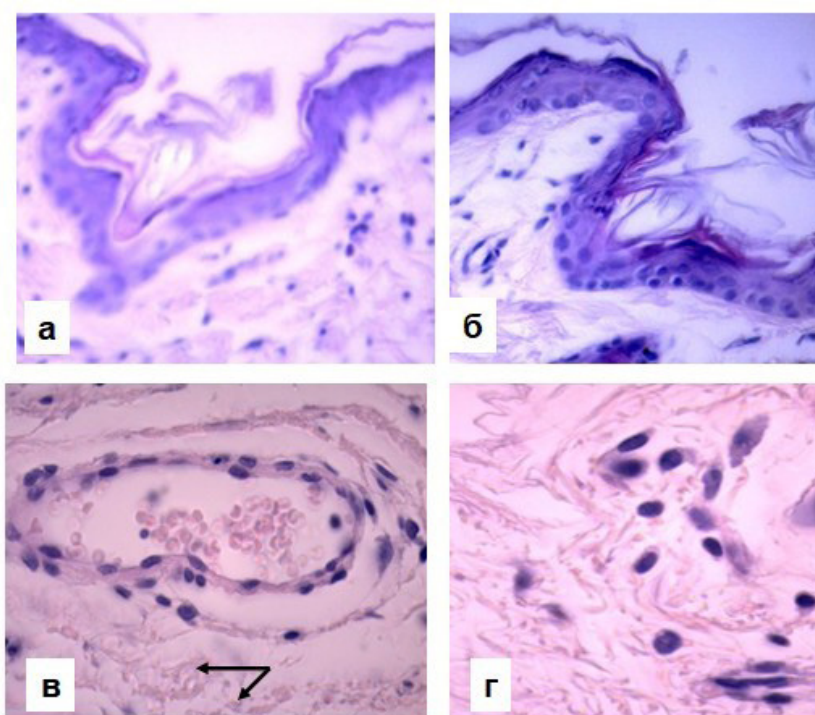


Рисунок 3 – Кожа с изменениями характерными для контактно-аллергического дерматита

Примечание: Окр. Гематоксилином и эозином, ул. 400; а, б – эпидермис с очагами гиперкератоза и слущивания рогового слоя, отек сосочкового слоя, низкая плотность лимфоцитарного инфильтрата; в – полнокровная венула на границе с гиподермой, периваскулярный отек; г – скопление незрелых фибробластов в сосочковом слое, воспалительные элементы отсутствуют

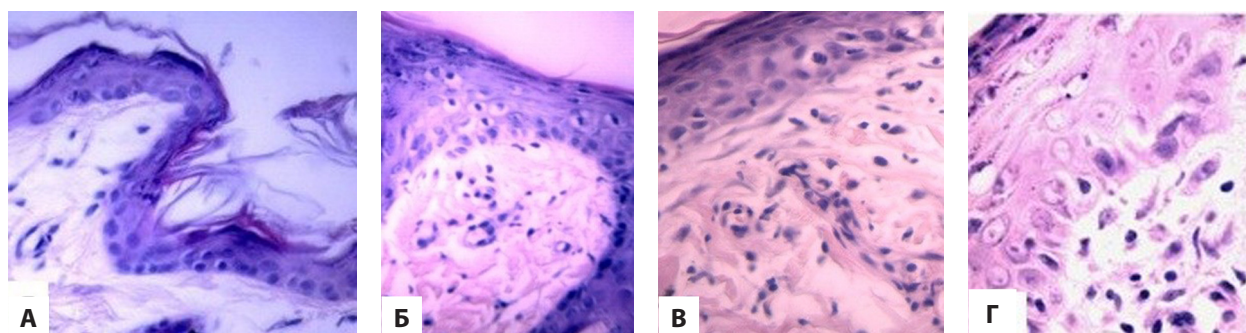


Рисунок 4 – Лимфоцитарный инфильтрат

Примечание: Окр. Гематоксилином и эозином, ув. 400. А – группа отрицательного контроля (детский крем); Б – группа положительного контроля (лечение флуоцинолоном); В – группа лечения детским кремом с добавлением секрета ММСК; Г – группа лечения детским кремом с добавлением секрета ММСК обработанных дексаметазоном

У животных с моделированным КАД и лечением мазью с 0,025% флуоцинолоном клиническое улучшение наступало на 3 сутки применения препарата. Наиболее существенным сохранившимся симптомом была диффузная эритема кожного покрова. Эпидермис при этом был без деструктивных изменений, имел изменения в виде сохранения очагов гиперкератоза, десквамации рогового слоя. Микроскопически этим изменениям соответствовали полнокровие дермальных микрососудов, отек сосочкового слоя, периваскулярный отек в глубже расположенных тканях. В эпидермисе – утолщение рогового слоя с участками его расслоения и десквамации как отдельными роговыми чешуйками, так и целыми пластами роговых масс. Оценка состава и выраженности клеточных инфильтратов в дерме выявила преобладание низкой и средней представленности лимфоцитарного компонента в целом дерме, с меньшей степенью в сосочковом слое в отличие от глубоких слоёв. Количественно (таблица 1) это отразилось в величинах индекса лимфоцитарной инфильтрации, который оказался достоверно ($p < 0,05$) меньше в сравнении с группой отрицательного контроля. Отдельно для сосочкового слоя индекс достоверно ($p = 0,004$) меньше, чем в группе отрицательного контроля. Дополнительно к этому при непараметрическом статистическом анализе влияния действия флуоцинолона на частоту высокой степени лимфоцитарной инфильтрации обнаружено, что в целом для дермы оно незначительное, а отдельно для сосочкового слоя достоверно ($p = 0,03$) среднее. Однако на качественном уровне и при количественной оценке лимфоцитарных инфильтратов проявляется неравнозначность эффекта в поверхностных участках дермы, где он более выражен, и в ее глубине. В сосочковом слое часто обнаруживались как скопления незрелых фибробластов, так и заметное количество фибробластов с морфологическими признаками функциональной активности.

Внешне состояние кожного покрова при использовании детского крема с секретомом от ММСК было сходным с наблюдавшимся при использовании флу-

оцинолона: диффузная эритема, мелкие чешуйчатые роговые наложения, очаги деструкции эпидермиса отсутствовали. Улучшение состояния кожного покрова наблюдалось также на 3 сутки после начала лечения, как и в группе флуоцинолона. При гистологическом исследовании также обнаружены сходные изменения в виде утолщения и десквамации рогового слоя эпидермиса, отека сосочкового слоя, полнокровия дермальных микрососудов. В сосочковом слое дермы были заметны скопления зрелых фибробластов с признаками функциональной активности. Высокая степень лимфоцитарной инфильтрации выявлена только в 10% исследованных участков кожи. Соответственно индекс инфильтрации оказался достоверно ($p = 0,05$) меньшим в сравнении с отрицательным контролем, и положительным контролем (лечение флуоцинолоном) для дермы в целом ($p < 0,05$), но статистически не отличался от показателя сосочкового слоя в этой группе (рис. 4).

По непараметрическим критериям степень влияния секрета на частоту высокой степени лимфоцитарной инфильтрации оказалась средней, но достоверной ($p = 0,016$). Таким образом, секретом ММСК оказывает сопоставимый с флуоцинолоном положительный эффект. Имеется определенное превосходство секрета, заключающееся в наличии противовоспалительного эффекта во всей толще дермы, о чем свидетельствуют приведенные статистические показатели.

В экспериментальной группе с применением крема с секретомом от предварительно обработанных дексаметазоном ММСК макро-, и микроскопическая картины изменений кожи оказались сходными с таковыми в предыдущей группе. Однако клиническое улучшение наблюдалось раньше – на 2 сутки после начала терапии данным кремом. Кожный покров эритематозный, с пылевидными и мелкочешуйчатыми роговыми наложениями, но без деструктивных очагов в эпидермисе. Гистологически выявлялись очаги утолщения эпидермиса, в основном за счет рогового слоя, который характеризовался расслоениями и слущиванием пластов роговых масс. Сосочко-

вый слой дермы с разной степенью отека. Клеточный инфильтрат качественно и количественно отличался в разных участках дермы и в зависимости от глубины. В сосочковом слое при преобладании низкой и средней степеней лимфоцитарной инфильтрации (суммарно 71% оценённых участков) встречались немногочисленные очаги с плотным лимфоцитарным инфильтратом, проникающим в ростковый слой эпидермиса с формированием картин периполеза. В глубоких слоях дермы и в прилежащей гиподерме инфильтрат полиморфнее за счет присутствия немногочисленных эозинофилов и частично дегранированных тучных клеток. Количественная оценка лимфоцитарной инфильтрации дала сходные с предыдущей группой результаты, в том числе в сопоставлении с группами отрицательного и положительного контролей. Индекс лимфоцитарной инфильтрации в сравнении с группой отрицательного контроля достоверно меньше ($p=0,001$), но данное отличие достоверно также только в сопоставлении с дермой в целом. Между собой группы с секретомом и детским кремом по этому показателю не отличались. По непараметрическим оценкам влияние данного препарата на частоту высокой лимфоцитарной инфильтрации оказалось слабым.

По основным морфологическим критериям имеются достоверные противовоспалительные эффекты крема с секретомом от обработанных дексаметазоном ММСК и необработанных ММСК, не уступающие препарату сравнения – флуоцинолону, даже превосходящие его распространенностью на всю толщу дермы. Таким образом, препараты действовали равноценно, но по непараметрическим статистическим критериям влияния на частоту высокой степени лимфоцитарной инфильтрации выявляется определенное преимущество крема с секретомом ММСК.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время в клинических исследованиях изучается терапевтическое действие ММСК и их экзосом при остеоартрите [24, 25]. Показана способность человеческих ММСК жировой ткани регулировать широкий спектр медиаторов воспаления вместе с подавлением Th1 и Th17 ответов при ревматоидном артрите [26]. Применение клеток или их экзосом, содержащих спектр различных биологически активных веществ, может выступать терапевтическим преимуществом наряду с обычными протоколами лечения с использованием иммунодепрессантов. В литературе так же есть данные об изучении действия стимулированных с помощью IFN γ и TNF α *in vitro* ММСК или их секретом на модель остеоартрита. В данном случае инъекция секретом ММСК, которые были выделены из костного мозга пожилых людей, как и инъекция самих клеток, приводила к раннему уменьшению боли и оказывала протекторное действие на развитие повреждения хряща, без эффекта на суб-

хондральную кость у мышей [27]. В другом источнике описан эксперимент с индуцированием у мышей остеоартрита, который затем лечили введением секретом ММСК [28]. Терапевтическое воздействие секретом ММСК в данном случае привело к значительному снижению синовиального инфильтрата и гиперплазии синовиальной интимы и хряща по сравнению с группой контроля (введение питательной среды). Наблюдаемый в нашем эксперименте эффект секретом ММСК может быть обусловлен присутствием крупномолекулярных ксеногенных белков в используемом секретоме человеческих ММСК, которые также способны вызвать иммунный ответ – коллагеновый артрит. Присутствующие в секретоме противовоспалительные и иммуносупрессивные факторы оказались не в состоянии предотвратить его развитие в данной модели. Описанные в литературе результаты не согласуются с нашими, поскольку авторы применяли секретом от аллогенных ММСК. Показанная нами эффективность крема с секретомом ММСК на модели КАД, являющейся демонстрацией классической местной реакции гиперчувствительности замедленного типа, не уступает топическому ГКС высокой активности – флуоцинолону, но даже превосходит его по параметру снижения лимфоцитарной инфильтрации ($p<0,05$). При этом, поскольку крупномолекулярные белки не способны проникать через эпидермис в глубокие слои кожи, то мы на модели КАД не наблюдали эффекта усиления воспаления, как на модели АА. Отличие в эффективности секретомов на двух моделях заболеваний может быть связано также с тем, что для использования на системных моделях требуется очистка секретом от крупномолекулярных соединений и/или использования аллогенных клеток для его получения.

Показано, что экстракт ММСК из пуповины человека подавляет Т-клеточный ответ и NF- κ B-зависимую активацию транскрипции в кератиноцитах, тем самым снижая воспаление при атопическом дерматите [29]. В качестве терапии кожных заболеваний также изучаются экзосомы ММСК жировой ткани [30, 31], которые снижают экспрессию провоспалительных цитокинов. Из обзоров доклинических исследований видно, что использование кондиционной среды от ММСК может быть дешевле, быстрее и может дать равноценный или более мощный эффект, чем препарат на основе внеклеточных везикул ММСК для лечения многих заболеваний. На сегодняшний день не было сообщений о том, что концентраты питательной среды от ММСК не безопасны по сравнению с внеклеточными везикулами [32]. Однако пока не известно, какие именно молекулы секретом отвечают за лечебный эффект. Показано, что при терапии различных органов и систем играют роль как белки и микроРНК, так и липиды, длинные не кодирующие РНК [32]. Сами клетки также оказались эффективны в терапии атопического дерматита как у

собак [33] и мышей [34], так и у людей [35]. При этом гистологическое исследование кожи мышей с экспериментальным атопическим дерматитом выявило, что эпидермальная гиперплазия и инфильтрация лимфоцитов, вызванные индукцией заболевания, были ослаблены внутривенным введением клеток дозозависимым образом. В данной статье показано, что клетки после системного введения покидают очаг воспаления в течение 2 часов и оказывают свой терапевтический эффект паракринно [34]. С учетом данных фактов, нами был выбран крем с секретомом клеток для местного лечения КАД.

Показано, что внеклеточные везикулы от ММСК подавляют воспаление на мышинной модели КАД путём ингибирования цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-хелперов 1 типа, а также снижения уровня TNF- α и IFN- γ . При этом везикулы индуцировали CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ регуляторные Т-клетки и повышали уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10 [36]. Другие авторы показали, что у мышей с КАД одновременное лечение ММСК и дексаметазоном не влияло на противовоспалительное действие клеток. Кроме того, совместное введение ММСК с дексаметазоном снижало локальную экспрессию IFN- γ и TNF- α в ткани уха мышей с КАД [37]. Возможно, перечисленные выше механизмы действия имели место и в нашем исследовании при использовании крема с секретомом ММСК.

Действие крема с секретомом ММСК оказало видимый эффект на коже на день раньше, чем топический ГКС. Снижение степени лимфоцитарной инфильтрации было достоверно выше при использовании крема с секретомом ($p < 0,05$), чем флуоци-

нолона. В отличие от секретомов ММСК, топические ГКС имеют ряд недостатков. Во-первых, ГКС могут приводить к местным и системным побочным эффектам, такие как атрофия эпидермиса, инфекционные осложнения, влияние на все виды обмена веществ при резорбции с больших поверхностей, что маловероятно при использовании секретомов ММСК в силу наличия регенеративных свойств и отсутствия значимого влияния на обменные процессы при применении ММСК во множестве исследований. Во-вторых, противопоказаниями к применению являются ожоги и раны, что напротив, может быть показанием для использования секретомов ММСК также вследствие их регенеративных свойств [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, противовоспалительная активность комплекса гуморальных факторов секретомы как нативных, так и индуцированных дексаметазоном *in vitro* ММСК при местном применении способствует значимому снижению воспаления кожи на модели контактно-аллергического дерматита, с почти суточным преимуществом у секретомы индуцированных ММСК. При этом индекс лимфоцитарной инфильтрации достоверно ниже при использовании секретомов, чем после применения топического ГКС. Это является основанием для дальнейшего изучения терапевтических эффектов различных фракций секретомы ММСК и раскрытия его механизма действия. Однако для изучения системного эффекта секретомы, необходимо проводить его очистку от крупных молекул или использовать для его получения аллогенные ММСК.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Авторы заявляют о финансировании со стороны ООО «Инновационный центр «Бирюч – новые технологии» и ООО «Центр клеточных технологий Бирюч».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

П.А. Голубинская – написание текста статьи, выполнение лабораторных работ, проведение экспериментов с животными, анализ данных; М.В. Сарычева – проведение лабораторных работ и экспериментов с животными, анализ данных; А.А. Должиков – изготовление гистологических препаратов, анализ данных; В.П. Бондарев – изготовление гистологических препаратов, анализ данных; М.С. Стефанова – анализ данных; В.О. Солдатов – проведение экспериментов с животными; С.В. Надеждин – выполнение лабораторных работ; М.В. Корокин – проверка критически важного интеллектуального содержания; М.В. Покровский – разработка концепции исследования; Ю.Е. Бурда – анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Hoffman A.M., Dow S.W. Concise review: stem cell trials using companion animal disease models // *Stem Cells*. – 2016. – Т. 34, №. 7. – P. 1709–1729. DOI: 10.1002/stem.2377.
- Kim H.S., Lee J.H., Roh K.H., Jun H.J., Kang K.S., Kim T.Y. Clinical trial of human umbilical cord blood-derived stem cells for the treatment of moderate-to-severe atopic dermatitis: phase I/IIa studies // *Stem cells*. – 2017. – Т. 35, №. 1. – P. 248–255. DOI: 10.1002/stem.2401.
- Freitag J., Bates D., Boyd R., Shah K., Barnard A., Huguenin L., Tenen A. Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of osteoarthritis: reparative pathways, safety and efficacy—a review // *BMC musculoskeletal disorders*. – 2016. – Т. 17, №. 1. – P. 230. DOI:10.1186/s12891-016-1085-9.

4. Golchin A., Farahany T.Z., Khojasteh A., Soleimanifar F., Ardeshirylajimi A. The clinical trials of mesenchymal stem cell therapy in skin diseases: an update and concise review // *Current stem cell research & therapy*. – 2019. – Т. 14, № 1. – P. 22–33. DOI:10.2174/1574888X13666180913123424.
5. Gwam C., Mohammed N., Ma X. Stem cell secretome, regeneration, and clinical translation: a narrative review // *Annals of Translational Medicine*. 2021. № 1 (9). С. 70. Jiang S. [и др.]. Research Progress on Stem Cell Therapies for Articular Cartilage Regeneration // *Stem Cells International*. 2021. (2021). С. 8882505. DOI: 10.21037/atm-20-5030.
6. Spees J.L., Lee R.H., Gregory C. A. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function // *Stem Cell Research & Therapy*. 2016. № 1 (7). DOI: 10.1186/s13287-016-0363-7.
7. Liu A., Zhang X., He H., Zhou L., Naito Y., Sugita S., Lee J. W. Therapeutic potential of mesenchymal stem/stromal cell-derived secretome and vesicles for lung injury and disease // *Expert Opinion on Biological Therapy*. – 2020. – Т. 20. – № 2. – С. 125-140. DOI:10.1080/14712598.2020.1689954.
8. Kucharzewski M., Rojczyk E., Wilemska-Kucharzewska K., Wilk R., Hudecki J., Los M. J. Novel trends in application of stem cells in skin wound healing // *European Journal of Pharmacology*. 2019. (843). С. 307–315. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.12.012.
9. Wang H., Pang B., Li Y., Zhu D., Pang T., Liu Y. Dexamethasone has variable effects on mesenchymal stromal cells // *Cytotherapy*. 2012. № 4 (14). С. 423–430. DOI: 10.3109/14653249.2011.652735.
10. Li T., Xu Y., Wang Y., Jiang Y. Differential expression profiles of long noncoding RNAs and mRNAs in human bone marrow mesenchymal stem cells after exposure to a high dosage of dexamethasone // *Stem Cell Research & Therapy*. 2021. № 1 (12). С. 9. DOI: 10.1186/s13287-020-02040-8.
11. Schneider N., da Costa Gonçalves F., Pinto F. O., da Costa Lopez P. L., Araujo A. B., Pfaffenseller, Passos E.P., Cirne-Lima E.O., Meurer L., Lazzaron M., Paz A. H. Dexamethasone and azathioprine promote cytoskeletal changes and affect mesenchymal stem cell migratory behavior // *PloS one*. 2015. № 3 (10). DOI: 10.1371/journal.pone.0120538.
12. Michelo C. M., Fasse E., Van Cranenbroek B., Linda K., van der Meer A., Abdelrazik H., Joosten I. Added effects of dexamethasone and mesenchymal stem cells on early Natural Killer cell activation // *Transplant Immunology*. 2016. (37). С. 1–9. DOI: 10.1016/j.trim.2016.04.008.
13. Nauta A. J., Kruisselbrink A. B., Lurvink E., Willemze R., Fibbe W. E. Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34+–derived and monocyte-derived dendritic cells // *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950). 2006. № 4 (177). С. 2080–2087. DOI: 10.4049/jimmunol.177.4.2080.
14. Del Fattore A., Luciano R., Pascucci L., Goffredo B. M., Giorda E., Scapaticci M., Fierabracci A., Muraca M. Immunoregulatory Effects of Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles on T Lymphocytes // *Cell Transplantation*. 2015. № 12 (24). С. 2615–2627. DOI: 10.3727/096368915X687543.
15. Gieseke F., Kruchen A., Tzaribachev N., Bentzien F., Dominici M., Müller I. Proinflammatory stimuli induce galectin-9 in human mesenchymal stromal cells to suppress T-cell proliferation // *European Journal of Immunology*. 2013. № 10 (43). С. 2741–2749. DOI: 10.1002/eji.201343335.
16. J. Salgado A., L. Reis R., Sousa, N., M. Gimble, J. Adipose Tissue Derived Stem Cells Secretome: Soluble Factors and Their Roles in Regenerative Medicine // *Current Stem Cell Research & Therapy*. 2010. № 2 (5). С. 103–110. DOI: 10.2174/157488810791268564.
17. Gwam C., Mohammed N., Ma X. Stem cell secretome, regeneration, and clinical translation: a narrative review // *Annals of Translational Medicine*. 2021. № 1 (9). С. 70. DOI: 10.21037/atm-20-5030.
18. Maumus M., Jorgensen C., Noël D. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine applied to rheumatic diseases: role of secretome and exosomes // *Biochimie*. 2013. № 12 (95). С. 2229–2234. DOI: 10.1016/j.biochi.2013.04.017.
19. Голубинская П. А., Сарычева М. В., Пузанов М. В., Бурда Ю. Е. Применение секретомы стволовых клеток в лечении адъювантного артрита, эндотоксического шока и кожного заболевания на животных моделях. // *Биология стволовых клеток. Гены и клетки*. – 2020. – Т. 15, №3, Приложение.
20. Орловская И.А., Цырендоржиев Д.Д., Щелкунов С.Н. Ревматоидный артрит: лабораторные модели заболевания // *Медицинская иммунология*. – 2015. – Т. 17, № 3. DOI:10.15789/1563-0625-2015-3-203-210.
21. Fajka-Boja R., Urbán V. S., Szebeni G. J., Czibula Á., Blaskó A., Kriston-Pál É., Makrai, Hornung Á., Szabó E., Uher F., G. Than N., Monostori É., Monostori É. Galectin-1 is a local but not systemic immunomodulatory factor in mesenchymal stromal cells // *Cytotherapy*. – 2016. – Т. 18, № 3. – P. 360–370. DOI: 10.1016/j.jcyt.2015.12.004.
22. Zhang Y., Ge X.H., Guo X.J., Guan S.B., Li X.M., Gu, W., Xu W.G. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the function of dendritic cells by secreting galectin-1 // *BioMed research international*. – 2017. – Т. 2017. DOI: n10.1155/2017/3248605.
23. Бурда Ю.Е., Сарычева М.В. Разработка модели контактно-аллергического дерматита у крыс линии Wistar. Фармакология живых систем: 6 лет пассивного развития: сб. материалов всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Белгород, 9–13 апр. 2018 г. / М-во образования и науки РФ, НИУ «БелГУ»; под ред. М.В. Покровского. – Белгород, 2018. – С. 35–36.
24. Freitag J., Bates D., Boyd R., Shah K., Barnard A., Huguénin L., Tenen A. Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of osteoarthritis: reparative pathways, safety and efficacy—a review // *BMC musculoskeletal disorders*. – 2016. – Т. 17, No.1. – P. 230. DOI:10.1186/s12891-016-1085-9.
25. Toh W.S., Lai R.C., Hui J.H.P., Lim S.K. MSC exosome as a cell-free MSC therapy for cartilage regeneration: implications for osteoarthritis treatment // *Seminars in cell & developmental biology*. – Academic Press, 2017. – Т. 67. – P. 56–64. DOI: 10.1016/j.semcd.2016.11.008.
26. Baharlou R., Rashidi N., Ahmadi-Vasmehjani A., Khoubyari M., Sheikh M., Erfanian S. Immunomodulatory effects of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on T cell subsets in patients with rheumatoid arthritis // *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*. – 2019. – Т. 18, No.1. – P. 114–119. DOI: 10.18502/ijaai.v18i1.637.
27. Khatab S., van Osch G., Kops N., Bastiaansen-Jenniskens Y., Bos K., Verhaar J.A.N., Bernsen M.R., Buul G.M. Mesenchymal stem cell secretome reduces pain and prevents

- cartilage damage in a murine osteoarthritis model // European cells & materials. – 2018. – Т. 36. – P. 218–230. DOI: 10.1016/j.joca.2018.02.049.
28. Kay A.G., Long G., Tyler G., Stefan A., Broadfoot S. J., Piccinini A. M., Middleton J., Kehoe O. Mesenchymal stem cell-conditioned medium reduces disease severity and immune responses in inflammatory arthritis // Scientific reports. – 2017. – Т. 7, No.1. – P. 1–11. DOI:10.1038/s41598-017-18144-w.
 29. Song J., Kang H.J., Ju H.M., Park A., Park H., Hong J.S., Kim C.J., Shim J.-Y., Yu J. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell extracts ameliorate atopic dermatitis in mice by reducing the T cell responses // Scientific reports. – 2019. – Т. 9, No.1. – P. 1–9. DOI:10.1038/s41598-019-42964-7.
 30. Xiong M., Zhang Q., Hu W., Zhao C., Lv W., Yi Y., Wu Y., Wu, M. Exosomes From Adipose-Derived Stem Cells: The Emerging Roles and Applications in Tissue Regeneration of Plastic and Cosmetic Surgery // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2020. – Т. 8. – P. 931. DOI:10.3389/fcell.2020.574223.
 31. Cho B.S., Kim J.O., Ha D.H., Yi Y.W. Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis // Stem cell research & therapy. – 2018. – Т. 9, No. 1. – P. 187. DOI:10.1186/s13287-018-0939-5.
 32. Bogatcheva N. V., Coleman M. E. Conditioned medium of mesenchymal stromal cells: a new class of therapeutics // Biochemistry (Moscow). – 2019. – Т. 84. – No. 11. – P. 1375–1389. DOI: 10.1134/S0006297919110129.
 33. Villatoro A.J., Hermida-Prieto M., Fernández V., Fariñas F., Alcoholado C., Rodríguez-García M. I., Becerra J. Allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in dogs with refractory atopic dermatitis: clinical efficacy and safety // Veterinary Record. – 2018. DOI: 10.1136/vr.104867.
 34. Shin T.H., Lee B.C., Choi S.W., Shin J.H., Kang I., Lee J.Y., Kim J.-J., Lee H.-K., Jung J.-E., Choi Y.-W., Lee S.-H., Yoon J.-S., Choi J.-S., Lee C.-S., Seo Y., Kim H.-S., Kang K.S. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis via regulation of B lymphocyte maturation // Oncotarget. – 2017. – Т. 8, No. 1. – P. 512. DOI: 10.18632/oncotarget.13473.
 35. Daltro S.R.T., Meira C.S., Santos I.P., Ribeiro dos Santos R., Soares M.B.P. Mesenchymal Stem Cells and Atopic Dermatitis: A Review // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2020. – Т. 8. – P. 326. DOI:10.3389/fcell.2020.00326.
 36. Guo L., Lai P., Wang Y., Huang T., Chen X., Luo C., Geng S., Huang X., Wu S., Ling W., Huang L., Du X., Weng J. Extracellular vesicles from mesenchymal stem cells prevent contact hypersensitivity through the suppression of Tc1 and Th1 cells and expansion of regulatory T cells // International immunopharmacology. – 2019. – Т. 74. – P. 105663. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.05.048.
 37. Wang D., Sun Y.Q., Gao W.X., Fan X.L., Shi J.B., Fu, Q.L. An in vitro and in vivo study of the effect of dexamethasone on immunoinhibitory function of induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells // Cell transplantation. – 2018. – Т. 27, No.9. – P. 1340–1351. DOI: 10.1177/0963689718780194.

АВТОРЫ

Голубинская Полина Александровна – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-1765-9042. E-mail: polinapigeon@gmail.com

Сарычева Марина Владиславовна – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-3618-5284. E-mail: dr.sarycheva@mail.ru

Должиков Александр Анатольевич – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0003-2798-513X. E-mail: dolzhikov@bsu.edu.ru

Бондарев Вячеслав Павлович – начальник бюро, врач-патологоанатом высшей категории, Областное патологоанатомическое бюро комитета здравоохранения Курской области. E-mail: svbond46@yandex.ru

Стефанова Мария Сергеевна – врач-терапевт, ОГБУЗ «Городская больница №2» г. Белгород. ORCID ID: 0000-0001-5549-1634. E-mail: stefanova-ms@yandex.ru

Солдатов Владислав Олегович – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии,

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0001-9706-0699. E-mail: zinkfingers@gmail.com

Надеждин Сергей Викторович – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии института фармации, химии и биологии, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-6249-2464. E-mail: nadezdin@bsu.edu.ru

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

Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-1493-3376. E-mail: pokrovskii@bsu.edu.ru

Бурда Юрий Евгеньевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-1183-4436. E-mail: burda@bsu.edu.ru

УДК 616.89-008.441.13-099-092.4:547.434.2



КОРРЕКЦИЯ ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ АЛКОГОЛЕМ У КРЫС НОВОЙ КОМПОЗИЦИЕЙ НА ОСНОВЕ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА

Д.В. Куркин¹, Е.И. Морковин^{1,2}, Н.А. Осадченко¹, Д.А. Бакулин¹, Е.Е. Абросимова¹,
М.А. Дубровина¹, Н.С. Ковалёв¹, Ю.В. Горбунова¹, И.Н. Тюренков¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации,

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

² Государственное бюджетное учреждение «Волгоградский медицинский научный центр»

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

E-mail: strannik986@mail.ru

Получено 11.10.2020

Принята к печати 14.12.2020

Цель. Экспериментальное обоснование применения новой комбинации биологически активных веществ с тонизирующим и антиоксидантным действием, содержащей в составе ацетилцистеин для снижения выраженности психоневрологических последствий интоксикации алкоголем.

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах-самцах линии Вистар. Постинтоксикационное состояние моделировали однократным введением этанола (3 г/кг, внутривенно). Через полчаса после пробуждения крыс разделяли на группы, которым вводили: физиологический раствор, ацетилцистеин (1 г/кг), таурин (20 мг/кг), кофеин (20 мг/кг), янтарную (100 мг/кг), липоевую кислоту (100 мг/кг), пиридоксин (400 мг/кг), или комбинацию ацетилцистеина со всеми данными веществами, взятыми в меньшей (в 2 раза) дозе (кроме таурина). До лечения и спустя 3 часа фиксировали степень неврологических нарушений по шкале «Combs и D'Alecy», в тесте «Открытое поле» и «Адгезивный тест». Далее животных подвергали эвтаназии для оценки уровня глутатиона, триглицеридов и малонового диальдегида в гомогенатах печени, определения активности ферментативных антиоксидантных систем и сывороточных аминотрансфераз.

Результаты. У животных, которым вводили алкоголь, отмечались выраженные признаки психоневрологических нарушений, проявляющихся в низкой двигательной активности и снижением мелкой моторики. Данное состояние не изменялось после перорального введения физиологического раствора. После введения ацетилцистеина, таурина, кофеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты, пиридоксина и, в большей степени, их комбинации, отмечали компенсацию психоневрологических нарушений, улучшение мелкой моторики. Уровни глутатиона, малонового диальдегида, триглицеридов и активность ферментов антиоксидантной защиты в печени этих животных соответствовали физиологической норме.

Заключение. Введение комбинации ацетилцистеина с таурином, кофеином, пиридоксином, липоевой и янтарной кислотами после острой алкогольной интоксикации, в большей степени способствует сохранению функций антиоксидантной системы гепатоцитов, снижает уровень дистрофических изменений в них и приводит к снижению тяжести психоневрологических нарушений у экспериментальных животных.

Ключевые слова: этанол; ацетилцистеин; таурин; кофеин; пиридоксин; липоевая кислота; янтарная кислота; комбинация; доклинические исследования

Список сокращений: АСТ – аспартатаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза; МДА – малоновый диальдегид; СОД – супероксиддисмутаза; TNF-α – tumor necrosis factor-alpha/фактор некроза опухоли-альфа; GPR91 – G protein-coupled receptor/рецептор, связанный с G-белком; GSH – glutathione/глутатион.

Для цитирования: Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Н.А. Осадченко, Д.А. Бакулин, Е.Е. Абросимова, М.А. Дубровина, Н.С. Ковалёв, Ю.В. Горбунова, И.Н. Тюренков. Коррекция психоневрологических последствий острой интоксикации алкоголем у крыс новой композицией на основе ацетилцистеина. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):426-435. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-426-435

© Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Н.А. Осадченко, Д.А. Бакулин, Е.Е. Абросимова, М.А. Дубровина, Н.С. Ковалёв, Ю.В. Горбунова, И.Н. Тюренков, 2020

For citation: D.V. Kurkin, E.I. Morkovin, N.A. Osadchenko, D.A. Bakulin, E.E. Abrosimova, M.A. Dubrovina, N.S. Kovalev, Yu.V. Gorbunova, I.N. Tyurenkov. Correction of psychoneurological signs of acute alcohol intoxication in rats with a new acetylcysteine-based composition. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):426-435. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-426-435

CORRECTION OF PSYCHONEUROLOGICAL SIGNS OF ACUTE ALCOHOL INTOXICATION IN RATS WITH A NEW ACETYLCYSTEINE-BASED COMPOSITION

D.V. Kurkin¹, E.I. Morkovin^{1,2}, N.A. Osadchenko¹, D.A. Bakulin¹, E.E. Abrosimova¹, M.A. Dubrovina¹, N.S. Kovalev¹, Yu.V. Gorbunova¹, I.N. Tyurenkov¹

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

² Volgograd Medical Research Center,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

E-mail: strannik986@mail.ru

Received 11 Oct 2020

Accepted 14 Dec 2020

The aim of the study is an experimental confirmation of the use of a new combination of biologically active substances with tonic and antioxidant effects. This combination contains acetylcysteine in its composition to reduce the severity of psychoneurological consequences of alcohol intoxication.

Materials and methods. The study was conducted on male Wistar rats. The post-intoxication state was simulated by a single injection of ethanol (3 g/kg, intraperitoneally). Half an hour after awakening, the rats were divided into groups, which were injected with saline, acetylcysteine (1 g/kg), taurine (20 mg/kg), caffeine (20 mg/kg), succinic acid (100 mg/kg), lipoic acid (100 mg/kg), pyridoxine (400 mg/kg), or a combination of acetylcysteine with all these substances taken in a twice lower dose (except taurine). Before the treatment and 3 hours after it, the degree of neurological disorders was fixed according to the Combs and D'Alecy scale, in the Open Field test and the Adhesion test. Then the animals were euthanized to assess the level of glutathione, triglycerides and malondialdehyde (MDA) in liver homogenates, to determine the activity of enzymatic antioxidant systems and serum aminotransferases.

Results. In the animals injected with alcohol, there were evident signs of neuropsychiatric disorders, manifested in a low motor activity and a decrease in fine motor skills. This state did not change after an oral administration of saline. After the administration of acetylcysteine, taurine, caffeine, succinic and lipoic acids, pyridoxine and, to a greater extent, their compositions, the compensation of neuropsychiatric disorders and improvement of fine motor skills were notified. In the liver of these animals, the levels of glutathione, MDA, triglycerides, and the activity of antioxidant defense enzymes corresponded to the physiological norm.

Conclusion. The introduction of a combination of acetylcysteine with taurine, caffeine, pyridoxine, lipoic and succinic acids after an acute alcohol intoxication, to a greater extent than each of the substances separately, contributes to the function retention of the antioxidant system of hepatocytes. Besides, it reduces the level of their dystrophic changes and leads to a decrease in the severity of psychoneurological disturbances in the experimental animals.

Keywords: ethanol; acetylcysteine; taurine; caffeine; pyridoxine; lipoic acid; succinic acid; composition; preclinical studies

Abbreviations: AST – aspartate aminotransferase; ALT – alanine transaminase; MDA – malonic dialdehyde; SOD – superoxide dismutase; TNF- α – tumor necrosis factor-alpha; GPR91 – G protein-coupled receptor; GSH – glutathione.

ВВЕДЕНИЕ

Употребление алкоголя является одним из ведущих факторов риска смерти и инвалидности. Социально-экономические последствия от употребления больших количеств напитков, содержащих этиловый спирт, негативно влияют на многие общественные институты (промышленность, торговля, образование, здравоохранение). Согласно мировой статистике за 2016 год, употребление алкоголя было седьмым по значимости фактором риска преждевременной смерти и инвалидности, на который приходилось 2,8 миллиона смертей [1]. Постинтоксикационное состояние является первичной медицинской проблемой для лиц, употребляющих алкоголь в небольших и умеренных количествах (до 100 г чистого алкоголя в день), и частой причиной профессионального и бытового травматизма в результате замедления моторики и снижения внимания [2].

Большинство часто применяемых лекарственных и не лекарственных средств существенно не снижают общую тяжесть постинтоксикационного состояния, некоторые купируют отдельные симптомы (рвота и головная боль), но не влияют на тремор или сонливость. Наиболее перспективными препаратами в отношении эффективного снижения последствий употребления алкоголя являются сорбенты (эффективны при предварительном или совместном приеме с алкоголем), подавляющие синтез простагландинов и ускоряющие метаболизм этанола [3].

Необходимо отметить существенный недостаток в подобных лекарственных средствах. Метаболизм алкоголя и, что более важно с точки зрения купирования постинтоксикационных последствий, ацетальдегида в основном зависит от статуса антиоксидантной системы гепатоцитов. Применение такого антиоксиданта,

как ацетилцистеин, с целью коррекции комплекса негативных последствий употребления больших доз алкоголя, оправдано, что подтверждается результатами доклинических исследований [4]. Разработка комбинированных форм известных лекарственных препаратов является общеизвестной и перспективной стратегией создания и внедрения в практику новых лекарственных средств, что позволяет не только повысить эффективность лечения, но и сделать терапию доступнее и/или удобнее для пациента.

ЦЕЛЬ. Экспериментальное обоснование применения комбинации, состоящей из ацетилцистеина, таурина, кофеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты и пиридоксина, в качестве предшественника глутатиона для снижения выраженности психоневрологических нарушений, возникающих на фоне острой алкогольной интоксикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Исследование проведено в соответствии с законодательством Российской Федерации и техническими стандартами Евразийского Экономического Союза по надлежащей лабораторной практике (ГОСТ Р 53434-2009, ГОСТ Р 51000.4-2011). Протокол одобрен Региональным независимым этическим комитетом при ФГБОУ ВО ВолгГМУ (ИРБ 00005839 IORG 0004900 (ONRP), протокол №132 от 20.05.2019).

Исследование выполнено с использованием крыс-самцов линии Wistar (300–350 г, ФГУП «ПЛЖ «Рапполово»). Животные содержались при сменяющемся свето-темновом цикле 12/12 ч, температуре 20±2°C и влажности 40–60%.

Дизайн исследования

За 48 часов до алкогольной интоксикации все крысы были обучены в тесте условная реакция пассивного избегания (УРПИ), с проверкой выработанного навыка в течение 24 часов.

Были сформированы 9 групп животных (n=10), дозы препаратов были выбраны по литературным данным [4–8]:

1. Интактная группа – физ. р-р (15 мл/кг в/б и 5 мл/кг п/о);
2. Этанол (3 г/кг) + физ. р-р (5 мл/кг; плацебо);
3. Этанол (3 г/кг) + ацетилцистеин (1 г/кг);
4. Этанол (3 г/кг) + таурин (20 мг/кг);
5. Этанол (3 г/кг) + кофеин (20 мг/кг);
6. Этанол (3 г/кг) + янтарная кислота (100 мг/кг);
7. Этанол (3 г/кг) + липоевая кислота (100 мг/кг);
8. Этанол (3 г/кг) + пиридоксин (400 мг/кг);
9. Этанол (3 г/кг) + композиция.

Состав композиции был следующим: ацетилцистеин (500 мг/кг) + таурин (20 мг/кг) + кофеин (10 мг/кг) + янтарная кислота (50 мг/кг) + липоевая кислота (50 мг/кг) + пиридоксин (200 мг/кг).

Животные из интактной группы получали физио-

логический раствор внутривенно и перорально (в/б и п/о). Крысы остальных групп получали водный 20% раствор этилового спирта в/б (3 г/кг). После пробуждения и оценки уровня неврологического дефицита однократно получали физиологический раствор, вещества или их композицию в обозначенных дозах. Объем вводимой жидкости составил 15 мл/кг при внутривенном и 5 мл/кг при пероральном введении. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Средняя длительность сна у крыс была сопоставимой (8 ±30 мин) [4]. После пробуждения у них определяли уровень психоневрологического дефицита использованием шкалы «Combs и D'Alecy» и тестов «Адгезивный тест» (время обнаружения и извлечения от пластыря 5×5 мм на ладонной поверхности передних лап за 180 секунд) и «Открытое поле» (фиксировалась «двигательная активность» – число пересеченных за 3 минуты квадратов и «исследовательская активность» – сумма числа обследованных отверстий и числа вставаний на задние лапы) [9]. После чего животным вводили физиологический раствор, одно из указанных выше веществ или их комбинацию в 2 раза уменьшенной дозе (за исключением таурина, который в составе комбинации вводился в аналогичной дозе для сохранения его потенциального кардиопротективного эффекта, отмеченного в ряде исследований) [10]. Двукратное уменьшение доз в составе комбинаций проводилось для выявления эффекта потенцирования вследствие взаимного дополнения действий веществ, входящих в состав комбинации.

Спустя 3 часа поведенческие тесты повторяли. Эвтаназию (обескровливание) проводили под наркозом золетил в дозе 20 мг/кг (Zoletil®100, Valdepharm, France) + ксилазин в дозе 8 мг/кг (Xyla, Interchemie, Netherlands). После эвтаназии осуществляли забор образцов тканей печени для последующего биохимического анализа. Концентрацию восстановленного глутатиона измеряли в реакции восстановления 5,5-дифенил-2-нитробензойной кислоты). Анализ проводили в триплексах. Активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в плазме определяли при помощи соответствующих реагентов (производства ЗАО «Диакон-ДС», Россия). Содержание триглицеридов в гомогенатах ткани печени определяли после экстракции гептаном и изопропанолом с последующим фотометрического фракционирования алкоголем натрия (после инкубации с 2,4-пентандионом при длине волны 410 нм). Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в гомогенатах определяли при помощи реакции с тиобарбитуровой кислотой; концентрацию восстановленного глутатиона – в реакции восстановления 5,5-дифенил-2-нитробензойной кислоты). Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли фотометрическим методом, основанным на оценке степени ингибирования реакции окисления эпинефрина.

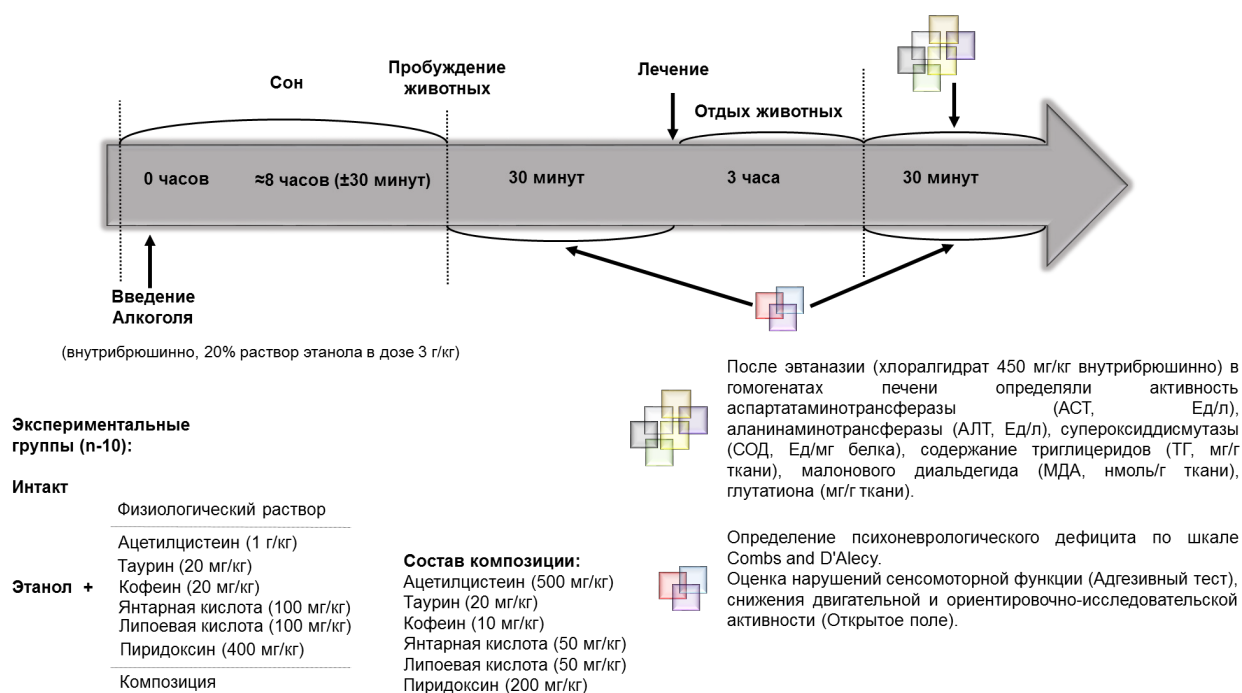


Рисунок 1 – Дизайн исследования

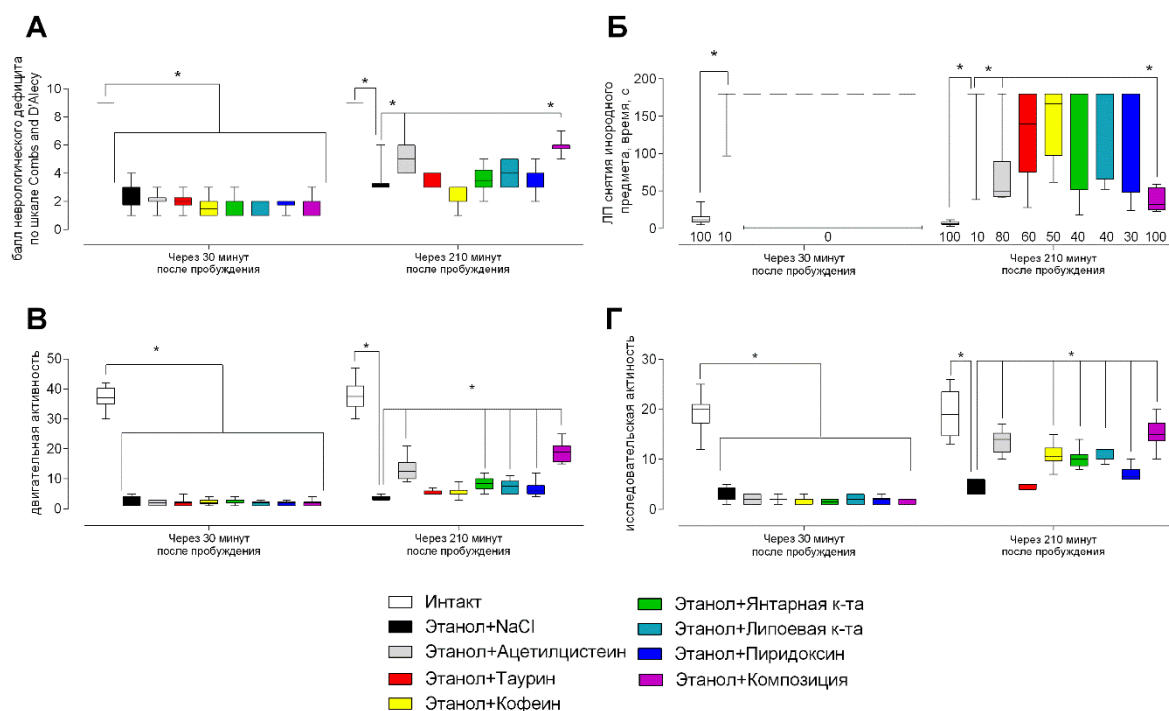


Рисунок 2 – Уровень неврологического дефицита по шкале «Combs и D'Alecy» (А) и время снятия инородного предмета с волярной поверхности передних лап (Б), показатели исследовательской (В) и двигательной (Г) активности в тесте «Открытое поле» у крыс после острой алкогольной интоксикации

Примечание: * – $p < 0,05$ однофакторный дисперсионный анализ с пост-тестом Ньюмена-Кейлса; сравниваемые выборки обозначены линиями; исследовательская активность – сумма числа актов стоек и количества обследованных отверстий-норок; двигательная активность – количество пересеченных секторов установки (цифрами представлено количество животных, обнаруживших и избежавших от инородного предмета закрепленного на ладонной поверхности передних лап в %)

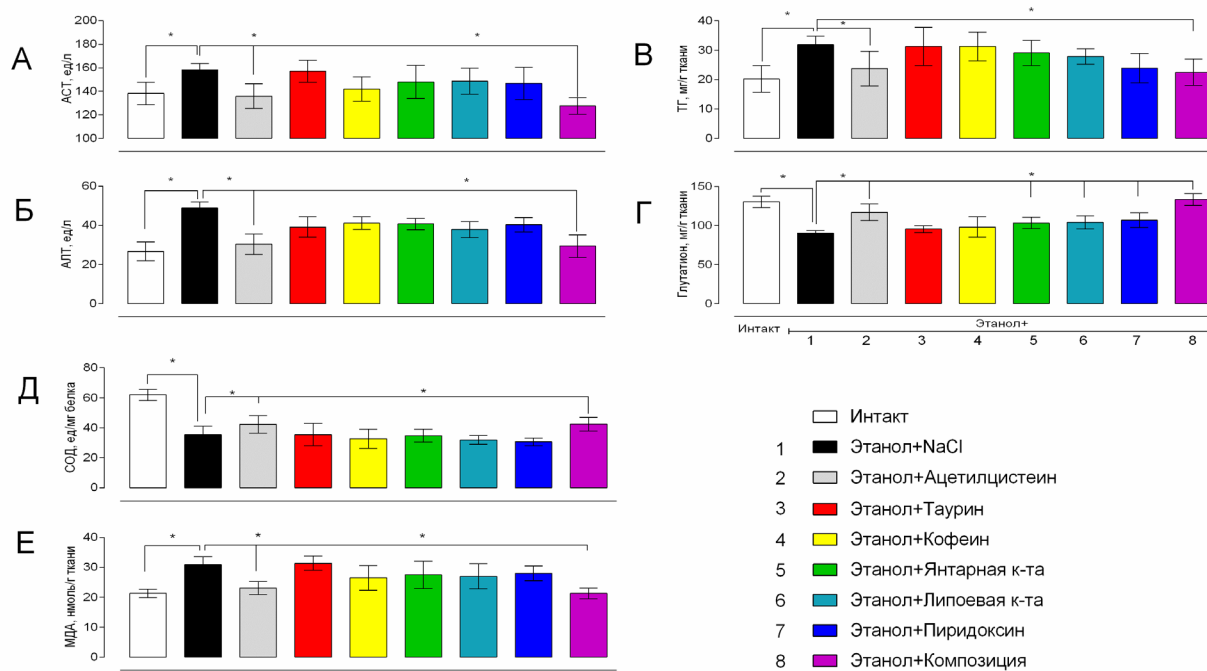


Рисунок 3 – Активность супероксиддисмутазы, аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы, содержание триглицеридов, малонового диальдегида, глутатиона в гомогенатах печени крыс, после острой алкогольной интоксикации

Примечание: А – аспаратаминотрансфераза (Ед/л); Б – аланинаминотрансфераза (Ед/л); В – супероксиддисмутаз (Ед/мг белка); Г – содержание триглицеридов (мг/г ткани); Д – малоновый диальдегид (нмоль/г ткани); Е – глутатион (мг/г ткани). Данные представлены в виде усредненных индивидуальных значений ($n = 3$ в каждой из точек), среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего арифметического; * – $p < 0,05$ (однофакторный дисперсионный анализ с пост-тестом Ньюмена-Кеулса); сравниваемые выборки обозначены горизонтальными линиями

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и аналитической статистики. Распределение количественных показателей оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Межгрупповые различия оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с пост-тестом Ньюмена-Кеулса. Полученные данные представляли в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего арифметического. Для оценки различий категориальных данных использовали критерий χ^2 -квадрат.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Введение этилового спирта (3 г/кг, в/б) приводило к развитию седативного эффекта. Животные засыпали в течение 2–3 минут на $8 \pm 0,5$ часов. Животных, которые засыпали через больший промежуток времени или спали дольше обозначенного времени из эксперимента исключали.

После пробуждения, животные не демонстрировали активных действий. Все наблюдаемые поведенческие акты были на минимальном уровне: животные в основном не двигались, пребывая на одном месте (если передвигались, то очень медленно); на раздражительные стимулы (прикосновение к вибрирам, бо-

ковой толчок) практически не реагировали. По сравнению с интактной группой в тесте «Открытое поле», после пробуждения крысы проявляли низкую двигательную и исследовательскую активность.

Спустя 3 часа после лечения в контрольной группе (этанол + 0,9% раствор натрия хлорида) в тесте «Открытое поле» показатели были значительно ниже, чем в интактной группе. В группах, которые получили ацетилцистеин, янтарную кислоту, липоевую кислоту, пиридоксин или композицию перечисленных веществ, двигательная и исследовательская активность оказались значительно выше (рис. 2В), что свидетельствует об ускорении восстановления после алкогольной интоксикации.

После пробуждения крысы проявляли признаки выраженного неврологического дефицита (по шкале «Combs and D'Alecy»), их степень незначительно уменьшилась спустя 180 минут в контрольной группе (этанол + 0,9% раствор натрия хлорида) и значительно снизилась после введения ацетилцистеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты, пиридоксина или их композиции (рис. 2А).

При проведении «Адгезивного теста», после пробуждения животные не реагировали на инородный предмет, закрепленный на волярной поверхности их

лап, т.е. их сенсорно-моторная функция была значительно снижена, что не устранялось пероральным введением плацебо и отдыхом в течение 3 часов. Пероральное введение ацетилцистеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты, пиридоксина или их композиции (более выражено) привело к значительному улучшению сенсорно-моторной функции животных (рис. 2Б). Так 80% и 100% животных, которым перорально ввели ацетилцистеин или исследуемые композиции, при тестировании в адгезивном тесте, удалили инородный предмет с лапонной поверхности передних лап ($p < 0,05$, χ^2 -квadrat).

После биохимического анализа гомогенатов печени интактной группы и крыс, которым вводили сначала этанол, а потом одно из указанных выше веществ или их композицию было установлено, что введение ацетилцистеина и более выражено его композицию с таурином, кофеином, янтарной кислотой, липоевой кислотой, пиридоксином нарушения печеночного метаболизма были выражены в минимальной степени. У животных контрольной группы (этанол + 0,9% раствор натрия хлорида), активности АСТ и АЛТ в гомогенатах печени достигали $158,3 \pm 5,4$ Ед/л и $48,8 \pm 3$ Ед/л соответственно (против $138,2 \pm 9,6$ Ед/л и $26,7 \pm 4,8$ Ед/л соответственно у интактных животных; $p < 0,05$), содержание триглицеридов было выше ($31,7 \pm 2,9$ мг/г ткани против $20,2 \pm 4,5$ мг/г ткани; $p < 0,05$), а глутатиона ниже ($90,5 \pm 3,4$ мг/г ткани против $130,5 \pm 7,2$ мг/г ткани; $p < 0,05$). Также у животных группы плацебо в большей степени проявлялись нарушения в функционировании антиоксидантной системы гепатоцитов, о чем свидетельствует низкая активность СОД ($35,4 \pm 5,6$ Ед/мг против $62 \pm 3,8$ Ед/мг у интактных, $p < 0,05$) и высокое содержание МДА ($30,9 \pm 2,6$ против $21,3 \pm 1,4$ у интактных, $p < 0,05$).

В гомогенатах печени животных, которым после алкоголя натрия перорально ввели ацетилцистеин или его композицию с указанными выше веществами активность АСТ и АЛТ составили $135,9 \pm 106$ Ед/л, $30,3 \pm 5,2$ Ед/л и $127,5 \pm 7,0$ Ед/л, $29,4 \pm 5,8$ Ед/л соответственно ($p < 0,05$ относительно животных группы плацебо), содержание триглицеридов $23,8 \pm 5,9$ мг/г ткани и $22,5 \pm 4,5$ мг/г ткани ($p < 0,05$ относительно животных группы плацебо), глутатиона $117 \pm 10,6$ мг/г ткани и $133,3 \pm 7,6$ мг/г ткани соответственно ($p < 0,05$). Функционирование антиоксидантной системы гепатоцитов этих животных было близко к нормальному. Активность СОД в печени животных этих групп составила $42,3 \pm 5,9$ Ед/мг и $42,4 \pm 4,6$ Ед/мг соответственно ($p < 0,05$), а содержание МДА составляло $23,1 \pm 2,2$ и $21,3 \pm 1,8$ соответственно ($p < 0,05$). Обозначенные биохимические показатели у животных других групп занимали промежуточные значения. Показатели интактной, группы, плацебо, ацетилцистеина и композиции не достигали статистической значимости (за исключением положительного влияния пиридоксина, янтарной и липоевой кислот на уровень глутатиона, очевидно, недостаточного для влияния на другие показатели).

Однократное введение ацетилцистеина и в большей степени его композиции с таурином, кофеином, янтарной кислотой, липоевой кислотой и пиридоксином восстанавливало или повышало содержание глутатиона в печени, препятствовало развитию окислительного стресса и дистрофических изменений, что способствовало уменьшению тяжести алкогольной интоксикации и соответственно всех его психоневрологических проявлений.

ОБСУЖДЕНИЕ

Повышенная стрессогенная нагрузка в совокупности с увеличивающимся разнообразием и доступностью алкогольных напитков способствуют увеличению их потребления. Как упоминалось выше, основной медицинской проблемой употребления алкоголя являются постинтоксикационные психоневрологические и соматические симптомы (постинтоксикационное состояние), а не последствия хронического действия этанола на организм такие как кардиомиопатии, цирроз или психические заболевания. Именно патогенетический симптомокомплекс, трактуемый как «похмельный синдром», обуславливает значительные экономические и медицинские последствия для современного социума. Доступных (инфузионная терапия, несмотря на эффективность и безопасность доступна минимальному числу людей) и эффективных фармацевтических средств для купирования подобного состояния в настоящее время существует ограниченное количество и требует существенного расширения. Ключевым фактором патогенетического действия этанола является нарушение метаболизма его основного деривата ацетальдегида, что происходит в результате истощения субстратов, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях, протекающих в гепатоцитах и, в значительной степени, зависящих от функционирования их антиоксидантной системы. Основным антиоксидантом гепатоцитов является глутатион, который не только защищает клетку от свободных радикалов, но и определяет окислительно-восстановительные характеристики внутриклеточной среды, а поступление ацетилцистеина приводит к восполнению запасов глутатиона. В наших предыдущих работах мы установили, что как предварительное, так и лечебное введение ацетилцистеина предупреждает или способствует восстановлению подопытных животных после острого отравления алкоголем. В этих исследованиях ацетилцистеин вводили в дозе 1 г/кг, что ограничивает его клиническое применение. Мы попытались уменьшить эффективную дозу ацетилцистеина, потенцировав его действие другими веществами, которые могут повлиять на метаболизм алкоголя или добавить дополнительные положительные эффекты (психостимулирующий).

Кофеин стимулирует концентрацию внимания, входит в состав (иногда в сочетании с родственными

ему веществами) энергетических напитков, которые часто употребляются с алкоголем. Исследования на животных показали способность метилксантинов, в том числе и кофеина, модулировать психофармакологические эффекты некоторых психоактивных веществ, таких как амфетамин [11], никотин [12], кокаин [13] и этанол [6].

Существует достаточно распространённое мнение о том, что кофеин может противодействовать опьяняющим эффектам алкоголя. Кофеин косвенно модулирует активность многих нейромедиаторов и нейромодуляторов, в том числе дофамина, ацетилхолина или глутамата в различных областях мозга. Основное действие кофеина связано с антагонистической активностью в отношении аденозиновых рецепторов (A_1 и A_{2A}) в центральной нервной системе [6, 14]. Этанол увеличивает внеклеточные уровни аденозина за счет повышения его синтеза (этому способствует ацетат, образующийся в процессе метаболизма этанола), секреции, и снижения поглощения, в результате дисфункции переносчика нуклеозидов [15]. Таким образом, кофеин может оказывать ободряющее действие в условиях посталкогольной интоксикации.

В экспериментальных исследованиях этанол и кофеин стимулировали двигательную активность с колоколообразной зависимостью наблюдаемого эффекта от дозы, низкие дозы её стимулируют, а высокие – снижают [16]. Кофеин может влиять на двигательную активность двухфазным образом [17]. В низких дозах острое введение кофеина может усилить стимулирующее действие этанола. Однако, когда дозы кофеина или этанола выше, отмечается выраженное подавляющее действие обоих веществ. Низкие дозы кофеина уменьшают дискоординационные эффекты этанола, а высокие их усиливают.

Аденозин опосредует опьяняющие эффекты этанола, такие как атаксия и седация [15]. Агонисты аденозина пролонгируют продолжительность сна, вызванного высокими дозами этанола, в то время как его антагонисты её сокращают.

Совместное введение этанола и кофеина оказывает нейропротекторное действие на различных моделях поражения головного мозга [18, 19]. Однократное введение кофеинола (комбинация 10 мг/кг кофеина плюс 0,65 г/кг алкоголя, перорально) через 15 минут после черепно-мозговой травмы улучшало показатели животных в водном лабиринте Морриса. Эти данные имеют значение, поскольку известно, что риск развития сердечно-сосудистых осложнений увеличивается на фоне приёма больших доз алкоголя и в состоянии постинтоксикационного состояния. Кофеин предотвращает потерю памяти, вызванную высокими дозами этанола. Учитывая потенциально благоприятные эффекты кофеина, его включили в состав исследуемой композиции.

Предварительное введение таурина замедляет вызванное этанолом повышение ацетальдегида у

крыс и людей, не оказывая при этом влияния на уровень этанола в крови. В клиническом исследовании таурин использовали в дозе 20 мг/кг (за 1 час до и через 1 час после этанола), что привело к снижению уровня ацетальдегида в крови на треть [20].

Таурин оказывает гепатопротекторное действие при алкогольных интоксикациях – снижает окислительный стресс, TNF- α , стеатоз. Таурин оказывал позитивное действие на адипоциты поврежденные этанолом, противовоспалительное и поддерживающее нормальную секрецию адипонектина [21]. Добавки таурина (1% в питьевой воде) предотвращают индукцию гипертонии у крыс, длительно получавших этанол (15% в питьевой воде) [22].

Таурин снижает концентрацию ацетальдегида в крови после перорального введения этанола [23]. Таурин на некоторых моделях оказывает антиатеросклеротический и антигипертензивный эффекты; ограниченные клинические данные свидетельствуют о том, что он также проявляет антигипертензивную активность [23], что важно, учитывая повреждающее действие высоких доз этанола в отношении сердечно-сосудистой системы. Также он оказывает стабилизирующее действие на тромбоциты, что, ожидается, снижает риск инфаркта миокарда или инсульта; оказывает положительный инотропный эффект при застойной сердечной недостаточности [10]. В центральной нервной системе, таурин препятствует развитию эксайтотоксичности, а длительный прием таурина снижает возрастное снижение памяти у мышей [24]. Таким образом, таурин был выбран третьим компонентом комбинации.

Липоевая кислота поддерживает оптимальную активность альдегиддегидрогеназы 2 (АЛДГ-2), которая оказывает протективный эффект при окислительном стрессе, негативно влияющим на эффективность печеночной АЛДГ-2 и соответственно метаболизм алкоголя и ацетальдегида. Несколько исследований на крысах показали, что введение липоевой кислоты защищает слизистую желудка, печень и развивающийся мозг от побочных эффектов алкоголя [8]. АЛДГ-2 обеспечивает метаболизм ацетальдегида и физиологически действует как антиоксидант, также участвует в метаболизме и, следовательно, детоксифицирует определенные токсичные альдегиды такие как 4-гидроксиноненаль (4-HNE), которые являются продуктами разложения окисленных липидов мембран, что важно для защиты митохондрий от окислительного стресса [25, 26]. Курсовое, профилактическое, пероральное введение липоевой кислоты в дозе 100 мг/кг эффективно препятствует повреждению слизистой оболочки желудка в результате негативного воздействия этанола, вследствие его антиоксидантного действия [8].

Липоевая кислота и таурин обладают защитным действием на моделях ишемии-реперфузии [8, 27]. Липоевая кислота повышает активность АЛДГ-2 в сердце, что оказывает протективное действие при

постишемической реперфузии [27] и может быть перспективным средством для профилактики алкогольной кардиомиопатии [26].

Янтарная кислота представляет собой дикарбоновую кислоту, которая выполняет несколько биологических ролей в качестве промежуточного продукта метаболизма, который участвует в производстве АТФ, и в качестве сигнальной молекулы, отражающей состояние клеточного метаболизма [28]. Сукцинат вырабатывается в митохондриях через цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) и функционирует в цитоплазме, а также во внеклеточном пространстве, изменяя паттерны экспрессии генов, модулируя эпигенетический метаболизм или гормоноподобную передачу сигналов [28], связывая клеточный метаболизм, особенно в области образования АТФ.

Передача сигналов сукцината часто происходит в ответ на состояние гипоксии. В печени сукцинат служит паракринным сигналом, выделяемым бескислородными гепатоцитами, и воздействует на звездчатые клетки через GPR91 [29]. Это приводит к активации звездчатых клеток и фиброгенезу. Сукцинат играет значительную роль в гомеостазе печени [29] и метаболизме алкоголя. Таким образом, липоевая и янтарная кислоты были включены в состав композиции, как вещества, аналогично ацетилцистеину, обладающие выраженным антиоксидантным действием и некоторыми уникальными эффектами.

У пиридоксина и некоторых его производных (пиридоксин и метадоксин) были отмечены гепатопротективные и нейропротективные свойства в условиях интоксикации. Внутримышечное введение пиридоксина крысам (187 мг/кг) значительно снижало летальность от этанола и увеличивало LD₅₀ этанола с 4,46 до 5,19 г/кг ($p < 0,005$) [30]. Метадоксин (пиридоксинпириролидона карбоксилат) обладает гепатопротекторным действием у крыс в дозах 200 и 400 мг/кг при интоксикации алкоголем, тетрахлорметаном и парацетамолом, снижая окислительный стресс и предотвращая истощение сниженного уровня GSH [31]. Пиритинол (пиридоксин) представляет собой комбинацию двух молекул витамина B6 (пиридоксина) с дисульфидной связью. Его фармакокинетический профиль имитирует профиль исходного соединения, легко проникает через гематоэнцефалический барьер и регулирует сигнальные пути различных нейротрансмиттеров, включая ацетилхолин, γ -аминомасляную кислоту, NMDA, также действует как антиоксидант и противовоспалительный агент, сни-

жает вязкость плазмы. Для пириноксина (пиритинола) была отмечена способность снижать выраженность симптомов постинтоксикационного состояния у людей в возрасте 21–40 лет при приеме вместе с алкоголем [32]. В экспериментальных исследованиях пиридоксин исследовался в широком диапазоне доз, при этом высокие дозы могут быть опасны при длительном применении, но, учитывая острый характер воспроизводимой патологии, доза 400 мг/кг была выбрана при монотерапии и 200 мг/кг в композиции.

Таким образом, комбинированное введение описанных выше веществ, в дозах в 2 раза меньших, чем при их изолированном применении, эффективно ускоряло восстановление психоневрологических функций, нарушенных острым введением алкоголя. Необходимо отметить, что изолированное внутривенное введение каждого из веществ, за исключением ацетилцистеина, не способствовало значимому снижению симптомов психоневрологического дефицита после острой интоксикации этанолом. Это очевидно связано с их недостаточной дозой, но при комбинировании этих веществ мы наблюдали значительную потенциацию протективного эффекта. Основным действующим веществом композиции, по нашему мнению, является ацетилцистеин, антиоксидантные эффекты которого потенцируются пиридоксином, липоевой и янтарной кислотами, таурином, а введение кофеина оказывает психоактивирующее и психостимулирующее действие. Разработанная комбинация может применяться не только для предупреждения и/или коррекции постинтоксикационных психоневрологических нарушений, но и при состояниях, сопровождающихся нарушениями антиоксидантной системы организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях острой алкогольной интоксикации введение комбинации ацетилцистеина с таурином, кофеином, пиридоксином, липоевой и янтарной кислотами более выражено (чем изолированные вещества) способствует улучшению функционального состояния антиоксидантной системы, способствует снижению выраженности деструктивных изменений в печени, а также снижению выраженности неврологических нарушений у лабораторных животных. Полученные результаты указывают на перспективность применения исследуемой композиции с целью устранения выраженности постинтоксикационного состояния (похмельного синдрома).

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данная работа была выполнена при грантовой поддержке Президента Российской Федерации по Соглашению о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с п. 4 ст. 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации (внутренний номер МК-3454.2019.7) № 075-15-2019-176 от 23.05.2019 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.В. Куркин – идея и планирование исследования, написание статьи; Е.И. Морковин – участие в разработке дизайна исследования, корректировка статьи и ее перевод; Н.А. Осадченко – проведение биохимических исследований; Д.А. Бакулин – моделирование патологии, оценка неврологического дефицита, подготовка финального варианта статьи; Е.Е. Абросимова – перевод статьи, проведение поведенческих тестов; М.А. Дубровина – проведение поведенческих тестов; Н.С. Ковалёв – введение соединений, проведение поведенческих тестов; Ю.В. Горбунова – проведение поведенческих тестов; И.Н. Тюренков – общее управление проектом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. GBD 2016 Alcohol Collaborators. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 // *Lancet*. – 2018. – Vol. 392. – No.10152. – P. 1015–1035. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31310-2
2. Alford C., Broom C., Carver H., Johnson S.J., Lands S., Reece R., Verster J.C. The Impact of Alcohol Hangover on Simulated Driving Performance During a 'Commute to Work'-Zero and Residual Alcohol Effects Compared // *J Clin Med*. – 2020. – Vol. 9. – No.5. – P. 1435. DOI: 10.3390/jcm9051435
3. Verster J.C., Penning R. Treatment and prevention of alcohol hangover // *Curr Drug Abuse Rev*. – 2010. – Vol. 3. – No.2. – P. 103–109. DOI: 10.2174/1874473711003020103
4. Куркин Д.В., Морковин Е.И., Осадченко Н.А., Кнышова Л.П., Бакулин Д.А., Абросимова Е.Е., Горбунова Ю.В., Тюренков И.Н. Коррекция психоневрологических проявлений алкогольного похмелья у крыс ацетилцистеином // *Фармация и фармакология*. – 2019. – Т. 7. – №5. – С. 291–299. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-5-291-299
5. Vohra B.P., Hui X. Improvement of impaired memory in mice by taurine // *Neural Plast*. – 2000. – Vol. 7. – No.4. – P. 245–259. DOI: 10.1155/NP.2000.245
6. SanMiguel N., López-Cruz L., Müller C.E., Salamone J.D., Correa M. Caffeine modulates voluntary alcohol intake in mice depending on the access conditions: Involvement of adenosine receptors and the role of individual differences // *Pharmacol Biochem Behav*. – 2019. – Vol. 186. – P. 172789. DOI: 10.1016/j.pbb.2019.172789
7. Пат. 015508 Российской Федерации, МПК А61К 31/00, А61К 31/185, А61К 31/198, А61К 31/194, А61К 31/7052, А61П 1/16. Фармацевтическая композиция, стимулирующая биосинтез s-аденозилметионина, и пероральное лекарственное средство / Коваленко А.Л., Петров А.Ю.; заявитель и патентообладатель Экофарм патент менеджмент АГ (СН). – № 201100309; заявл. 2011.03.03; опубл. 2011.08.31. – 11 с.
8. Sehirli O., Tatlıdede E., Yüksel M., Erzik C., Cetinel S., Yeğen B.C., Sener G. Antioxidant effect of alpha-lipoic acid against ethanol-induced gastric mucosal erosion in rats // *Pharmacology*. – 2008. – Vol. 81. – No.2. – P. 173–180. DOI: 10.1159/000111145
9. Морковин Е.И., Куркин Д.В., Тюренков И.Н. Оценка психоневрологического дефицита у грызунов: основные методы // *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*. – 2018. – Т. 68. – №1. – С. 3–15. DOI: 10.7868/s004446771801001x
10. Beyranvand M.R., Khalafi M.K., Roshan V.D., Choobineh S., Parsa S.A., Piranfar M.A. Effect of taurine supplementation on exercise capacity of patients with heart failure // *J Cardiol*. – 2011. – Vol. 57. – No.3. – P. 333–337. DOI: 10.1016/j.jcc.2011.01.007
11. Simola N., Tronci E., Pinna A., Morelli M. Subchronic-intermittent caffeine amplifies the motor effects of amphetamine in rats // *Amino Acids*. – 2006. – Vol. 31. – No.4. – P. 359–363. DOI: 10.1007/s00726-006-0373-3
12. Gasior M., Jaszyna M., Munzar P., Witkin J.M., Goldberg S.R. Caffeine potentiates the discriminative-stimulus effects of nicotine in rats // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2002. – Vol. 162. – No.4. – P.385-395. DOI:10.1007/s00213-002-1113-3
13. Green T.A., Schenk S. Dopaminergic mechanism for caffeine-produced cocaine seeking in rats // *Neuropsychopharmacology*. – 2002. – Vol.26. – No.4. – P. 422–30. DOI: 10.1016/S0893-133X(01)00343-8
14. McLellan T.M., Caldwell J.A., Lieberman H.R. A review of caffeine's effects on cognitive, physical and occupational performance // *Neurosci Biobehav Rev*. – 2016. – No.71. – P. 294–312. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.09.001
15. Ruby C.L., Adams C.A., Knight E.J., Nam H.W., Choi D.S. An essential role for adenosine signaling in alcohol abuse // *Curr Drug Abuse Rev*. – 2010. – Vol. 3. – No.3. – P. 163–174. DOI: 10.2174/1874473711003030163
16. Correa M., Arizzi M.N., Betz A., Mingote S., Salamone J.D. Open field locomotor effects in rats after intraventricular injections of ethanol and the ethanol metabolites acetaldehyde and acetate // *Brain Res Bull*. – 2003. – Vol. 62. – No.3. – P. 197–202. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2003.09.013
17. Zhang Q., Yu Y.P., Ye Y.L., Zhang J.T., Zhang W.P., Wei E.Q. Spatiotemporal properties of locomotor activity after administration of central nervous stimulants and sedatives in mice // *Pharmacol Biochem Behav*. – 2011. – Vol. 97. – No.3. – P. 577–585. DOI: 10.1016/j.pbb.2010.09.011
18. Dash P.K., Moore A.N., Moody M.R., Treadwell R., Felix J.L., Clifton G.L. Post-trauma administration of caffeine plus ethanol reduces contusion volume and improves working memory in rats // *J Neurotrauma*. – 2004. – Vol. 21. – No.11. – P. 1573–1583. DOI: 10.1089/neu.2004.21.1573
19. Piriyaawat P., Labiche L.A., Burgin W.S., Aronowski J.A., Grotta J.C. Pilot dose-escalation study of caffeine plus ethanol (caffeinol) in acute ischemic stroke // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34. – No.5. – P. 1242–1245. DOI: 10.1161/01.STR.0000067706.23777.04
20. McCarty M.F. Nutraceutical strategies for ameliorating the toxic effects of alcohol // *Med Hypotheses*. – 2013. – Vol. 80. – No.4. – P. 456–462. DOI: 10.1016/j.mehy.2012.12.040
21. Chen X., Sebastian B.M., Tang H., McMullen M.M., Axhemi A., Jacobsen D.W., Nagy L.E. Taurine supplementation prevents ethanol-induced decrease in serum adiponectin and reduces hepatic steatosis in rats // *Hepatology*. – 2009. – Vol. 49. – No.5. – P. 1554–1562. DOI: 10.1002/hep.2281100
22. Harada H., Kitazaki K., Tsujino T., Watari Y., Iwata S., Nonaka H., Hayashi T., Takeshita T., Morimoto K., Yokoyama M. Oral taurine supplementation prevents the development

- of ethanol-induced hypertension in rats // *Hypertens Res.* – 2000. – Vol. 23. – No.3. – P. 277–284. DOI: 10.1291/hyres.23.277
23. Yamori Y., Taguchi T., Hamada A., Kunimasa K., Mori H., Mori M. Taurine in health and diseases: consistent evidence from experimental and epidemiological studies // *J Biomed Sci.* – 2010. – Vol. 17 (Suppl. 1). – S. 6. DOI: 10.1186/1423-0127-17-S1-S6
 24. El Idrissi A., Boukarrou L., Splavnyk K., Zavyalova E., Meehan E.F., L'Amoreaux W. Functional implication of taurine in aging // *Adv Exp Med Biol.* – 2009. – Vol. 643. – P. 199–206. DOI: 10.1007/978-0-387-75681-3_20
 25. Chen C.H., Budas G.R., Churchill E.N., Disatnik M.H., Hurley T.D., Mochly-Rosen D. Activation of aldehyde dehydrogenase-2 reduces ischemic damage to the heart // *Science.* – 2008. – Vol. 321. – No.5895. – P. 1493–1495. DOI: 10.1126/science.1158554
 26. Budas G.R., Disatnik M.H., Chen C.H., Mochly-Rosen D. Activation of aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) confers cardioprotection in protein kinase C epsilon (PKC ϵ) knockout mice // *J Mol Cell Cardiol.* – 2010. – Vol. 48. – No.4. – P. 757–764. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.10.030
 27. He L., Liu B., Dai Z., Zhang H.F., Zhang Y.S., Luo X.J., Ma Q.L., Peng J. Alpha lipoic acid protects heart against myocardial ischemia-reperfusion injury through a mechanism involving aldehyde dehydrogenase 2 activation // *Eur J Pharmacol.* – 2012. – Vol. 678. – No.1–3. – P. 32–38. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.12.042
 28. Tretter L., Patocs A., Chinopoulos C. Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis // *Biochim Biophys Acta.* – 2016. – Vol. 1857. – No.8. – P. 1086–1101. DOI: 10.1016/j.bbabo.2016.03.012
 29. de Castro Fonseca M., Aguiar C.J., da Rocha Franco J.A., Gingold R.N., Leite M.F. GPR91: expanding the frontiers of Krebs cycle intermediates // *Cell Commun Signal.* – 2016. – No.14. – P. 3. DOI: 10.1186/s12964-016-0126-1
 30. Gonzalez L.E., Parada M.A., Hernandez L. Pyridoxine acts in the brain to reduce ethanol toxicity in rats // *Alcohol.* – 1992. – Vol. 9. – No.6. – P. 519–522. DOI: 10.1016/0741-8329(92)90090-w
 31. Mazraati P., Minaiyan M. Hepatoprotective Effect of Metadoxine on Acetaminophen-induced Liver Toxicity in Mice // *Adv Biomed Res.* – 2018. – Vol. 7. – P. 67. DOI: 10.4103/abr.abr_142_17
 32. Khan M.A., Jensen K., Krogh H.J. Alcohol-induced hangover. A double-blind comparison of pyritinol and placebo in preventing hangover symptoms // *Q J Stud Alcohol.* – 1973. – Vol. 34. – No.4. – P. 1195–1201.

АВТОРЫ

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС; заведующий межкафедральным центром отработки практических навыков и НИР фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: strannik986@mail.ru

Морковин Евгений Игоревич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией нейropsychофармакологии НЦИЛС ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», старший научный сотрудник лаборатории геномных и протеомных исследований ГБУ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет». ORCID ID: 0000-0002-7119-3546. E-mail: e.i.morkovin@gmail.com

Осадченко Назар Андреевич – аспирант кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7398-2186. E-mail: n.a.osadchenko@gmail.com

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4694-3066. E-mail: mbfdoc@gmail.com

Абросимова Елизавета Евгеньевна – аспирант

кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6472-6906. E-mail: abrosimiva.volgmed@gmail.com

Дубровина Марина Александровна – аспирант кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1903-8589. E-mail: dubrovina.volgmed@gmail.ru

Ковалев Николай Сергеевич – аспирант кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3498-3810. E-mail: kovalev.volgmed@gmail.com

Горбунова Юлия Васильевна – кандидат фармацевтических наук, делопроизводитель кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: yvgorbunova@yandex.ru

Тюренов Иван Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий лабораторией фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС; заведующий кафедрой фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7574-3923. E-mail: fibfuv@mail.ru

УДК 615.371



ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОВЕДЕНИЯ АНТИПНЕВМОКОККОВОЙ ВАКЦИНАЦИИ В ГРУППАХ РИСКА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ СРЕДИ ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Е.А. Орлова, И.П. Дорфман, М.А. Орлов, М.А. Абдуллаев

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

E-mail: eorlova56@mail.ru

Получено 30.08.2020

Принята к печати 15.12.2020

Цель. Обосновать экономическую эффективность и выбор стратегии вакцинопрофилактики в контингентах повышенного риска развития респираторной пневмококковой инфекции среди взрослого населения Астраханской области.

Материалы и методы. За период с 2015 по 2018 гг. проанализированы данные о числе зарегистрированных заболеваний у пациентов, проживающих в районе обслуживания медицинских организаций (форма № 12, Приказы Росстата № 591 от 27.11.2015; № 679 от 22.11.2019). Изучена основная документация по диспансеризации, представленная медицинскими учреждениями (форма № 030/у «Контрольная карта диспансерного наблюдения», списки лиц, подлежащих диспансерному наблюдению в отчетном году, Приказы МЗ РФ № 1344 от 21.12.2012; № 173н от 29.03.2019). Проанализированы отчетно-статистические материалы территориального фонда обязательного медицинского страхования Астраханской области (ТФОМС АО) по оплате медицинской помощи 12970 пациентам, перенесшим пневмонию в 2015–2018 гг. Для финансового обеспечения вакцинопрофилактики учитывались результаты конкурсных торгов по закупкам пневмококковых вакцин, организованных региональным министерством здравоохранения. Расчеты выполнялись в соответствии с методическими указаниями «Экономическая эффективность вакцинопрофилактики». МУ 3.3.1878-04 от 04.03.2004.

Результаты. При проспективном расчете затрат на реализацию вакцинопрофилактики установлено, что окупаемость вакцинации с применением ПКВ 13 («Превенар 13») и ППВ 23 («Пневмовакс 23») в условиях 95% охвата прививками регистрируется через 2 года. Экономическая выгода вакцинопрофилактики за счет снижения возможного числа пневмоний (ПН) по окончании 2028 года будет составлять 968,2 млн руб.

Заключение. Установлена экономическая целесообразность проведения вакцинопрофилактики взрослого контингента с повышенным риском развития пневмококковой инфекции. Наибольшей эффективностью для ограничения распространения пневмококковой инфекции характеризуется стратегия последовательного применения ПКВ13 и ППВ23. Результаты исследования подлежат широкому внедрению в перспективные планы вакцинопрофилактики и практику здравоохранения Астраханской области.

Ключевые слова: вакцинопрофилактика; вакцинация; пневмококковая инфекция; внебольничная пневмония; ПКВ 13; ППВ 23; группы риска; фармакоэкономический анализ; Астраханская область

Список сокращений: ПН – пневмония; ПКВ13 – пневмококковая конъюгированная вакцина «Превенар 13»; ППВ23 – пневмококковая поливалентная вакцина «Пневмовакс 23»; ВП – внебольничная пневмония; ПИ – пневмококковая инфекция; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; СД – сахарный диабет; ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

Для цитирования: Е.А. Орлова, И.П. Дорфман, М.А. Орлов, М.А. Абдуллаев. Фармакоэкономическое обоснование проведения антипневмококковой вакцинации в группах риска для профилактики внебольничных пневмоний среди взрослого населения Астраханской области. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):436-445. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-436-445

© Е.А. Орлова, И.П. Дорфман, М.А. Орлов, М.А. Абдуллаев, 2020

For citation: E.A. Orlova, I.P. Dorfman, M.A. Orlov, M.A. Abdullaev. Pharmacoeconomic evaluation of anti-pneumococcal vaccination in risk groups for the prevention of community-acquired pneumonia among adults in the Astrakhan region. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):436-445. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-436-445

PHARMACOECONOMIC EVALUATION OF ANTI-PNEUMOCOCCAL VACCINATION IN RISK GROUPS FOR THE PREVENTION OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA AMONG ADULTS IN THE ASTRAKHAN REGION

E.A. Orlova, I.P. Dorfman, M.A. Orlov, M.A. Abdullaev

Astrakhan State Medical University
121, Bakinskaya Str., Astrakhan, Russia, 414000

E-mail: eorlova56@mail.ru

Received 30 Aug 2020

Accepted 15 Dec 2020

The aim. To evaluate the economic efficiency and the choice of the vaccination strategy in the respiratory pneumococcal infection risk groups among the adult population of the Astrakhan region.

Materials and methods. The data for the period of 2015–2018 were analyzed on the number of registered diseases in the patients living in the service area of the medical organizations (Form No.12, Federal State Statistics Service Orders No. 591, dated 27 November, 2015; No. 679, dated 22 November, 2019). The following working directives were studied: the base medical examination documentation submitted by medical institutions (Form No. 030/y "Dispensary Monitoring Checklist"; lists of the persons subjected to medical observation in the reporting year; Orders of the Ministry of Health of the Russian Federation: No. 1344, dated 12 December, 2012; No. 173n, dated 29 March, 2019). Statistical materials of the territorial fund for compulsory medical insurance of the Astrakhan region on the payment of medical care to 12,970 patients who had pneumonia in 2015–2018, were analyzed. The financial support of vaccination based on the results of tenders for the procurement of pneumococcal vaccines organized by the regional Ministry of Health, was considered. The calculations were carried out in accordance with the guidelines of "Cost-effectiveness of vaccine prophylaxis" (Methodological guidelines 3.3.1878-04, dated 04.03.2004).

Results. The prospective calculation of the vaccination cost showed that the benefits of vaccination with pneumococcal conjugate vaccine Prevenar13 (PCV13) and pneumococcal polyvalent vaccine Pneumovax 23 (PPV23) with a 95% vaccination coverage, are recorded after 2 years. The economic benefit of vaccination by reducing the possible number of pneumonias at the end of 2028 will be 968.2 million rubles.

Conclusion. The economic feasibility of vaccine prophylaxis of the adult contingent with an increased risk of developing pneumococcal infection has been established. The sequential strategy of PCV13 and PPV23 application provides the most effective localization of pneumococcal infection. The research results should be widely introduced into the long-term plans for vaccination and healthcare practice in the Astrakhan region.

Keywords: vaccine prophylaxis; vaccination, pneumococcal infection; community-acquired pneumonia; PCV13; PPV23; risk groups; pharmacoeconomic analysis; Astrakhan region

Abbreviations: PN – pneumonia; PCV13 – pneumococcal conjugate vaccine "Prevenar 13"; PPV23 – pneumococcal polyvalent vaccine "Pneumovax 23"; CAP – community-acquired pneumonia; PI – pneumococcal infection; COPD – chronic obstructive pulmonary disease; CHD – coronary heart disease; CHF – chronic heart failure; DM – diabetes mellitus; HIV – human immunodeficiency virus.

ВВЕДЕНИЕ

Внебольничная пневмония (ВП) занимает ведущее положение в структуре заболеваемости и смертности от инфекционных болезней в мире. По затратам на лечение ВП приводит к значительным экономическим потерям, которые несет государство. В России ежегодно отмечается 3,9 случая этого заболевания на 1000 человек в год среди лиц старше 18 лет [1, 2]. Однако эти показатели не отражают истинную заболеваемость ВП в России, которая по разным источникам достигает 14–15% и составляет более 1,5 млн человек [3]. Наиболее уязвимыми категориями по развитию пневмококковой инфекции (ПИ) являются дети раннего возраста и взрослые с хроническими заболеваниями легких, сердечно-сосудистой системы, печени, почек, сахарным диабе-

том (СД) и иммунодефицитными состояниями [4, 5]. Как показывают исследования, риск развития ПИ существенно повышен у пациентов с фоновыми заболеваниями в возрасте от 50 до 64 лет. По сравнению с соматически здоровыми лицами, риск развития ПИ выше в 13,3 раза у онкогематологических больных; в 9,8 раз – при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ); в 6,5 раз – при ВИЧ-инфекции; в 5,8 раз – при иммуносупрессивных состояниях и хронических заболеваниях печени. Риск развития ПИ также увеличен при курении – в 4,4 раза; сердечно-сосудистых заболеваниях – в 4,2 раза; хронических заболеваниях почек и сахарном диабете соответственно в 4,2 и 3 раза [6, 7].

В России на 500 тыс. случаев, зарегистрированных за один год заболеваний, пневмококковую этиологию

имеют 76% взрослых и 90% детей в возрасте до 5 лет [8]. Сложившаяся ситуация уже диктует необходимость проведения специфической вакцинации в группах риска. При ХОБЛ вакцинация уменьшает число обострений, стабилизирует показатели функциональных тестов и способствует замедлению прогрессирования дыхательной недостаточности [9, 10]. Актуальность вакцинации увеличивается при коморбидной патологии. Например, ХОБЛ в 1/3 случаев коморбидна с ишемической болезнью сердца (ИБС). Общая смертность пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) при развитии пневмонии повышается в 1,8–4,6 раза, а риск летального исхода увеличивается на 49,5%. Установлено, что перенесенная пневмония у данной категории больных способствует прогрессированию недостаточности кровообращения на 17,7%, повышению риска развития острого коронарного синдрома – на 14,1% и любого нарушения ритма – на 5,3% [11–13]. Негативным вкладом из-за прогрессирующей ХОБЛ является значительное увеличение экономических потерь за счет прямых и косвенных затрат до 61,6 млрд руб. [14]. ПИ способствует сенсibilизации и утяжелению хронического неспецифического воспаления в бронхах, усиливает их гиперреактивность у пациентов с бронхиальной астмой [15, 16]. При наличии заболеваний почек ПИ встречается чаще, чем в среднем в популяции, протекает более тяжело и с возможными летальными исходами. У пациентов с хронической почечной недостаточностью, особенно у получающих программный гемодиализ, часто развиваются пневмонии и сепсис. Следует отметить, что риск смерти от пневмонии в данной ситуации повышается в 14–16 раз [17, 18].

Доказана необходимость вакцинации против ПИ при сахарном диабете и метаболическом синдроме. Известно, что эти категории больных имеют дефекты иммунологической защиты против всех видов микробной инфекции, включая инфекции пневмококковой этиологии. Риск развития инвазивных форм ПИ у них по сравнению со здоровыми лицами выше в 6 раз [19]. Кроме того, *Streptococcus pneumoniae* является одним из наиболее частых возбудителей рецидивирующей пневмонии у больных сахарным диабетом, которая достаточно часто развивается при микроаспирации содержимого ротоглотки или желудка в связи с парезом пищевода [20]. К сожалению, в исследованиях отмечается, что иммунизация против ПИ у вышеуказанной категории пациентов и поныне не соответствует достаточному объему [21, 22].

В общем круге проблем по предупреждению ПИ приоритетное развитие получила специфическая вакцинация, препятствующая распространению устойчивых к антибиотикам штаммов и снижающая развитие наиболее тяжелых клинических форм пневмоний. Вакцинопрофилактика является не только эффективным, но и затратным мероприятием. Особенно это касается стран с ограниченными материальными ресурсами, не способными обеспечить

достаточный охват населения вакцинацией. Однако ущерб от заболеваний пневмококковой этиологии, которые могут быть предотвращены широкой иммунизацией населения, остается выше ожидаемых перспектив. Данное положение конкретно определяет высокую экономическую эффективность вакцинопрофилактики. В этой связи решение проблемы заключается в разработке перспективных региональных программ вакцинопрофилактики в группах риска по развитию ПИ, имеющих убедительное фармакоэкономическое обоснование.

ЦЕЛЬ. Обосновать экономическую эффективность и выбор стратегии вакцинопрофилактики в контингентах повышенного риска развития респираторной пневмококковой инфекции среди взрослого населения Астраханской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на территории Астраханской области (по данным Росстата население – 1 005 967 человек). Численность населения г. Астрахани составляет 504 501 человек. Общий контингент с риском развития ПИ представлен взрослыми пациентами от 18 лет и старше с хроническими формами сердечно-сосудистых (ИБС, кардиомиопатии) и бронхолегочных (ХОБЛ, хронический бронхит, бронхиальная астма) заболеваний, больными сахарным диабетом и ожирением, реконвалесцентами после острого среднего отита, а также перенесшими менингит. Группы меньшей численности составили пациенты с хроническими заболеваниями печени, почек и гемобластомами (табл. 1). В общей сложности количество лиц в группах риска за период 2015–2018 гг. составило в среднем 99 228 человек. При наличии хронических заболеваний, требующих наблюдения и лечения, все они были отнесены к 3 группе диспансерного учета.

Для отбора пациентов в группы риска, верификации их клинического диагноза и планирования вакцинопрофилактики применялись нормативно-правовые документы. За период 2015–2018 гг. проанализированы данные о числе зарегистрированных заболеваний у пациентов, проживающих в районе обслуживания медицинских организаций (форма № 12)^{1,2}. Изучена основная документация по диспансеризации, представленная медицинскими

¹ Приказ Росстата от 27.11.2015 № 591 (ред. от 31.12.2020) «Об утверждении статистического инструментария для организации Министерством здравоохранения Российской Федерации федерального статистического наблюдения в сфере здравоохранения» Доступно на: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_190056/.

² Приказ Росстата от 22.11.2019 № 679 «Об утверждении формы федерального статистического наблюдения с указаниями по ее заполнению для организации Министерством здравоохранения Российской Федерации федерального статистического наблюдения в сфере охраны здоровья». Доступно на: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_338995/.

ми учреждениями г. Астрахани и области (форма № 030/у «Контрольная карта диспансерного наблюдения», списки лиц, подлежащих диспансерному наблюдению в отчетном году)^{3,4}. Проанализированы отчетно-статистические материалы ТФОМС АО по оплате медицинской помощи 12970 пациентам, перенесшим пневмонию в 2015–2018 гг.

Выполнение профилактических мероприятий в медицинских организациях оценивалось в соответствии с национальным календарем профилактических прививок⁵.

При расчете затрат на вакцинацию учитывались результаты конкурсных торгов по закупкам пневмококковых вакцин, проведенных региональным министерством здравоохранения в 2015–2018 гг. Стоимость ППВ23 («Пневмовакс 23») в 2015 году составила 2500 руб. и снизилась до 1800 руб. в 2016 году. Стоимость ПКВ13 («Превенар 13») в 2017–2018 гг. оставалась без изменений и соответствовала 1700 руб.

В интерпретации полученных результатов исследования применялся фармакоэкономический анализ осуществленных (ретроспективно) и планируемых (проспективно) профилактических мероприятий. Действующей основой целевого алгоритма вычислений являлись методические указания «Экономическая эффективность вакцинопрофилактики»⁶. Для определения компонентов экономических оценок вакцинопрофилактики последовательно применялись формулы 1–18. Для получения результатов изменения исходных региональных показателей в алгоритме вычислений использовалась программная база MS Excel.

Последовательный расчет затрат, связанных с реализацией выбранной стратегии вакцинопрофилактики и предотвращенным ущербом, проводился поэтапно. Основными этапами данного расчетного алгоритма явились:

– Ретроспективный анализ заболеваемости и охвата вакцинацией взрослых пациентов в группах риска развития ПИ в Астраханском регионе за 2015–2018 гг.;

– Ретроспективный анализ заболеваемости пневмонией у взрослых пациентов 18 и более лет и рас-

чет фактических финансовых затрат, связанных с лечением, в динамике за 4 года;

– Проспективный расчет затрат на лечение пневмонии в зависимости от экономической целесообразности применения вакцинопрофилактики в альтернативных вариантах «без вакцинации» и «с вакцинацией»;

– Сопоставление «затрат» и «выгоды» по заключительным результатам дивариантного анализа вакцинопрофилактики и определение ее эффективности в перспективе 10 лет.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования проводился анализ заболеваемости в группах риска по развитию ПИ среди взрослого населения Астраханской области за период 2015–2018 гг. Выявлена ежегодная тенденция к росту показателей общего количества пациентов. Особое внимание вызывают заболевания сердечно-сосудистой системы. Увеличение их показателей через 4 года составило 17117 зарегистрированных случаев, что по отношению к исходному 2015 году достигло 46,5%. Второе место заняли пациенты с СД и ожирением, составившие в 2018 году 30,8% от общего числа пациентов в группах риска. Также выявлены тенденции к росту хронических заболеваний легких, ЛОР-органов и печени. В сопоставлении с 2015 годом их показатели по окончании 4 лет увеличились соответственно на 18,3%, 6,9% и 17,8%. Отсюда следует, что ежегодное повышение заболеваемости в вышеуказанных группах риска является определяющим условием для оптимизации профилактических мероприятий и обязательного применения современных технологий по иммунопрофилактике.

Чтобы создать предпосылки для планирования эффективной вакцинопрофилактики, нами рассчитывался ежегодный средний темп роста (Tr_{cp}) количества пациентов в группах риска по формуле [23]:

$$Tr_{cp} = (N_{конеч.} - N_{нач.})^{\frac{1}{S}} - 1,$$

где: $N_{конеч.}$ – количество человек в группах риска в последующий год наблюдения; $N_{нач.}$ – количество человек в группах риска в предыдущий год наблюдения; S – количество лет наблюдения.

Проведенные вычисления показали, что средний темп количественного роста в группах риска развития ПИ за период 2015–2018 гг. составил 5981 (6,3%) человек. Полученный результат, исходящий от анализа исходных показателей за 4 года, убедительно указывает на необходимость безотлагательного решения вопросов вакцинопрофилактики.

В рамках второго этапа исследования ретроспективно проанализирована заболеваемость пневмонией (ПН) среди взрослого населения Астраханской области и рассчитаны затраты на её лечение, реализованные в 2015–2018 гг. За указанный период

³ Приказ Минздрава России от 21.12.2012 № 1344н «Об утверждении Порядка проведения диспансерного наблюдения». Доступно на: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_142423/.

⁴ Приказ Минздрава России от 29.03.2019 № 173н «Об утверждении порядка проведения диспансерного наблюдения за взрослыми». Доступно на: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_323527/.

⁵ Приказ Минздрава России от 21.03.2014 № 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показателям» с изменениями приложений № 1 и № 2 от 2016 г. и федеральными клиническими рекомендациями «Вакцинопрофилактика пневмококковых инфекций у взрослых». Доступно на: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_162756/.

⁶ Экономическая эффективность вакцинопрофилактики. Методические указания МУ 3.31878-04. М. 2004.

общее количество пациентов, перенесших ПН, составило 12970 человек. Затраты на полученное ими лечение рассчитывались по формуле [24]:

$$\text{Cost}_{\text{пн}} = \text{Cost1}_{\text{пн}} \times N,$$

где: $\text{Cost}_{\text{пн}}$ – затраты на лечение ПН; $\text{Cost1}_{\text{пн}}$ – стоимость лечения одного случая; N – количество случаев.

Согласно таблице 2, средняя стоимость лечения 1 случая пневмонии составила 20156,23 руб., поэтому общие финансовые затраты достигли значительной суммы в 265 234 598,53 руб.

Таким образом, сохранение тенденций к увеличению показателей заболеваемости ПН в течение 4 лет и росту финансовых затрат на лечение характеризуют сложившуюся в регионе ситуацию, в которой явно обозначилась необходимость оптимизации мероприятий по профилактике и терапии этого заболевания. Как свидетельствует клиническая практика, одним из путей повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий и влияния на заболеваемость ПН является иммунопрофилактика с применением современных пневмококковых вакцин.

Исходя от этой позиции нами проанализированы возможности ежегодного охвата вакцинацией взрослого контингента из групп риска по ПИ и среднегодового прироста заболеваемости ПН среди жителей региона на протяжении 4 лет (табл. 3). Началом вакцинопрофилактики против ПИ среди взрослого населения в Астраханском регионе с применением ППВ23 считается 2015 год. В течение этого года, в связи с риском развития ПИ, получили таковую вакцинацию 2185 человек. Данный показатель в 2016 году был минимален и составил 176 человек. В 2017 году тактика проведения вакцинопрофилактики изменилась из-за применения двух вакцин. В общей сложности обеими вакцинами было привито 2289 человек, из них 635 получили ППВ23 и 1654 – ПКВ13. В 2018 году вакцинированная группа, составившая 2197 человек, была привита только ПКВ13.

Полученные результаты о состоянии вакцинации в группах риска указывают на необходимость планирования (перспективно) мероприятий по вакцинопрофилактике с наибольшей эффективностью. С одной стороны, мероприятия по вакцинопрофилактике ПИ стали воплощаться в реальную практику регионального здравоохранения и, с другой, охват вакцинацией в группах риска остается на низком уровне. Учитывая среднегодовой прирост заболеваемости, следует считать, что число вновь зарегистрированных случаев ПН среди взрослого населения старше 18 лет только увеличивается. Считается, что ПН является заболеванием человека со сниженной иммунологической реактивностью организма, поэтому роль вакцинопрофилактики в ситуации Астраханского региона становится еще более актуальной.

На следующем этапе исследования нами проводились расчеты предполагаемого количества человек в группах риска в перспективе на 10 лет. За основу расчета был принят средний темп роста числа пациентов ($\text{Tr}_{\text{ср}}$) в группах риска ПИ с 2015 по 2018 гг. Данный подход позволил перспективно рассчитать аналогичные показатели, представляющие количество лиц в группах риска в период 2019–2028 гг. (табл. 4).

В сопоставлении также следовало оценить роль альтернативных стратегий профилактики «без вакцинации» и «с вакцинацией» в предупреждении вероятных случаев ПН. Учитывая низкий уровень вакцинопрофилактики в 2015–2018 гг. (средний показатель 1,7%), мы посчитали этот временной эпизод периодом без проведения вакцинопрофилактики. Исходя из условий стратегии невмешательства («без вакцинации»), для расчета ежегодного показателя заболеваемости ПН (включались вновь зарегистрированные случаи в течение года) применялась формула [9]:

$$K_{\text{ср}} = \frac{k_{\text{ср}}}{n_{\text{ср}}} \times 100000,$$

где: $K_{\text{ср}}$ – средний показатель заболеваемости; $k_{\text{ср}}$ – среднее число заболеваний за период; $n_{\text{ср}}$ – средняя численность привитых, выраженные в абсолютных величинах.

Отсюда следует, что за период 2015–2018 гг. $K_{\text{ср}}$ заболеваемости ПН по Астраханской области составил 3268 человек. Полученный показатель также был актуален для расчета вероятного числа случаев ПН, которые имели бы место без вакцинопрофилактики после 2018 года на протяжении 10 лет (табл. 4). Исходя из вышесказанного, расчет проводился по формуле [10]:

$$m_i = K_{\text{ср}} \times n_i / 100000,$$

где: m_i – вероятное число заболеваний в году при отсутствии вакцинопрофилактики; $K_{\text{ср}}$ – средний показатель заболеваемости; n_i – численность контингента за 1 год, выраженные в абсолютных величинах.

Таким образом, полученные данные могут свидетельствовать о наличии взаимосвязанных тенденций к росту количества лиц в группах риска и вероятных случаев ПН, в общей причине которых кроется минимальная по охвату и эффективности вакцинация. Безусловно, что стратегии с отсутствием вакцинации лучше оставаться как версии несостоявшихся событий, однако прогнозирование повышения заболеваемости ПН в течение будущих 10 лет является тревожным сигналом уже в настоящее время. Усугублением экономического аспекта региональной проблемы ПН всегда становится повышение финансовых затрат на оказание медицинской помощи пациентам. Данные перспективного расчета затрат на лечение случаев ПН с горизонтом исследования 10 лет, предусматривающих стратегию невмешательства – «без вакцинации», представлены на рисунке 1.

Таблица 1 – Нозологическая характеристика и численность пациентов в группах риска развития пневмококковой инфекции

Группы риска (чел), годы	2015	2016	2017	2018
Сердечно-сосудистые заболевания	36839	43898	49782	53956
Хронические заболевания легких	10680	11899	12008	13076
Сахарный диабет и ожирение	30357	32394	32117	33874
Острый средний отит, менингит	6610	7417	7554	7064
Заболевания печени, включая цирроз печени	2247	2452	2467	2648
Заболевания почек, хроническая почечная недостаточность	238	266	285	273
Гемобластозы	678	698	8428	809
Общее количество пациентов в группах риска:	86118	97433	103318	110042

Таблица 2 – Количество зарегистрированных случаев пневмонии и затраты на лечение

Период, годы	2015	2016	2017	2018	Итоговый результат
Случаи пневмонии	2766	3234	3193	3777	12970
Стоимость 1 случая, руб.	15 420,93	22 638,17	19 525,00	23 040,81	20 156,23
Суммарные затраты на лечение, руб.	42 654 292,38	73 211 841,78	62 343 325	87 025 139,37	265 234 598,53

Таблица 3 – Результаты вакцинации в группах риска и среднегодовой прирост заболеваемости пневмонией у взрослых в Астраханской области

Период, годы	2015	2016	2017	2018
Общее количество привитых, чел.	2185	176	2297	2197
Охват вакцинацией, %	2,5	0,2	2,2	2
Прирост заболеваемости пневмонией, %	Исходно: 2766 случаев ПН	16,9	15,4	36,5

Таблица 4 – Динамика количественных показателей в группах риска и заболеваемости пневмонией в Астраханской области в проспективном расчете на 10 лет

Годы	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028
Группы риска, чел.	116997	124392	132253	140612	149499	158948	168994	179675	191031	203105
Вероятные случаи пневмонии	3823	4065	4322	4595	4885	5194	5522	5871	6242	6637

Таблица 5 – Количество предотвращенных случаев пневмонии и стоимость предотвращенного ущерба в перспективе на 10 лет

Период, годы	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028
Вероятные случаи пневмонии без вакцинопрофилактики (m)	3823	4065	4322	4595	4885	5194	5522	5871	6242	6637
Вероятные случаи пневмонии на фоне вакцинопрофилактики (в т.ч. у вакцинированных и не вакцинированных) (L)	118	95	47	86	91	98	77	71	75	93
Предотвращенные случаи пневмонии (a)	3705	3970	4275	4509	4794	5096	5445	5800	6167	6544
Стоимость предотвращенного ущерба, млн руб.	74,6	80,0	86,2	90,9	96,6	102,7	109,7	116,9	124,3	131,9

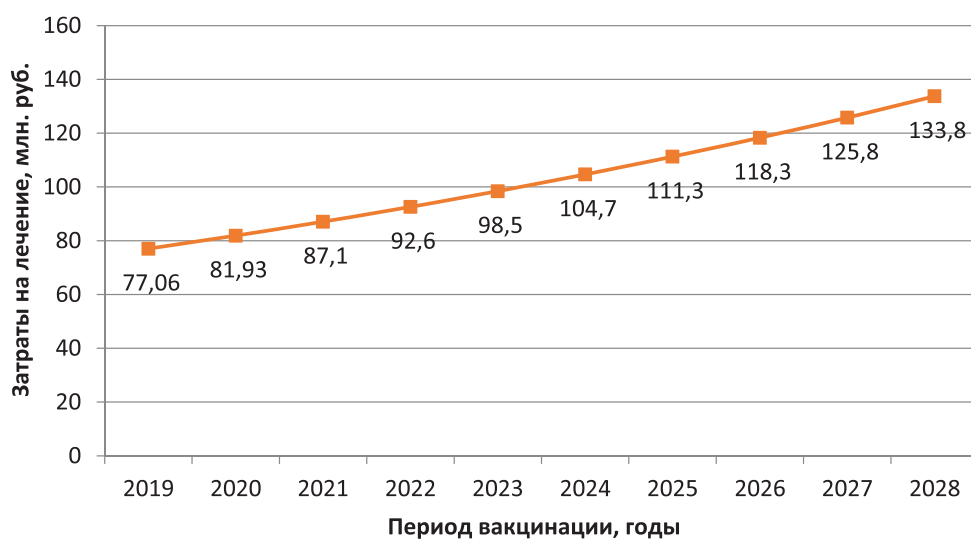


Рисунок 1 – Перспективный расчет затрат на лечение страховых случаев пневмонии в Астраханской области при применении вариантной стратегии «без вакцинации»

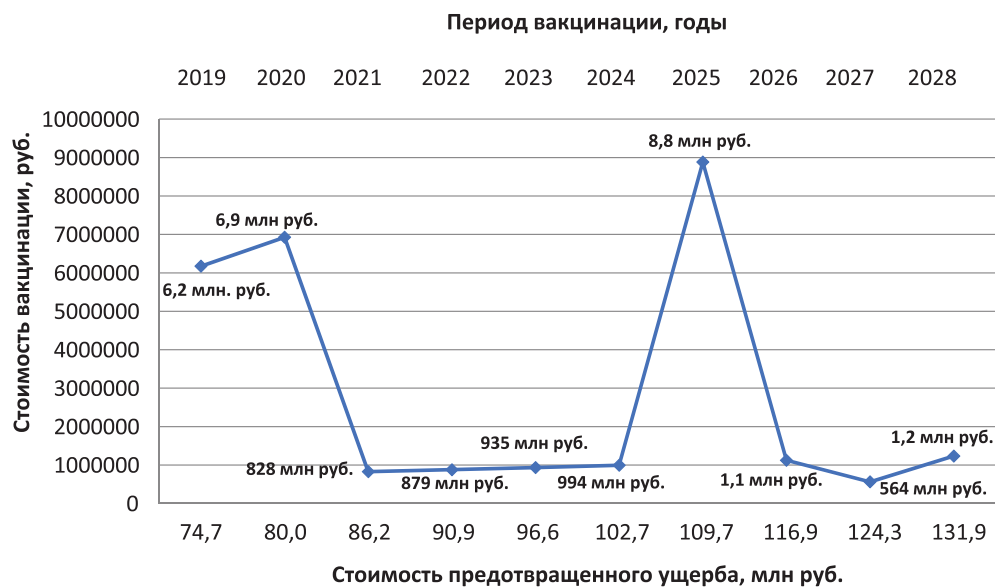


Рисунок 2 – Соотношение затрат планируемой вакцинации и предотвращенного ущерба за период 2019–2028 гг.

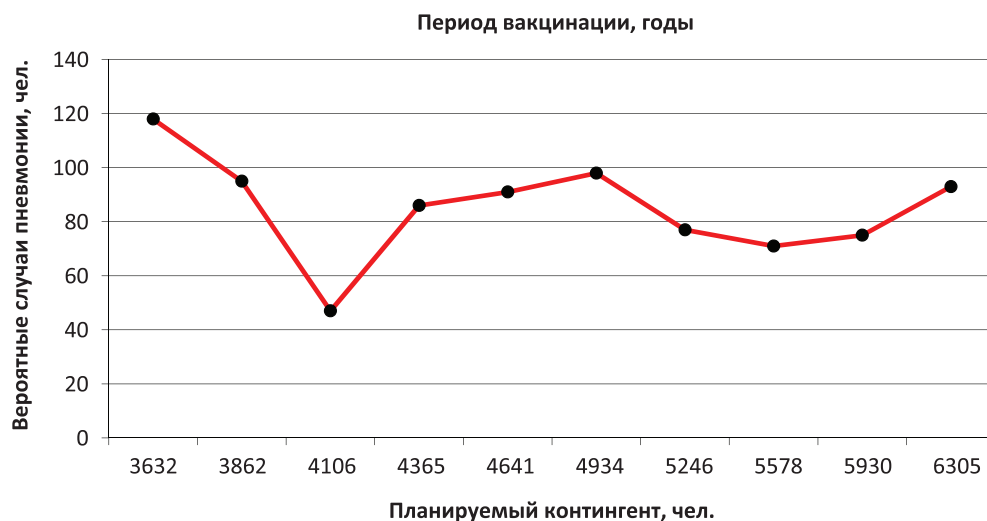


Рисунок 3 – Расчетные показатели вероятных случаев ПН среди прививаемого контингента

Необходимо подчеркнуть, что затраты на лечение ПН среди застрахованных лиц в Астраханской области будут существенно увеличиваться на протяжении всех 10 лет исследования. По результатам проспективного расчета финансовых затрат, на фоне альтернативной стратегии «без вакцинации» оказанная медицинская помощь этой категории пациентов может оцениваться в сумму, составляющую 1,31 млрд руб.

Для прогнозирования отсроченных во времени результатов профилактических мероприятий в варианте «с вакцинацией» на 10 лет вперед рассчитывались затраты на вакцинацию и предотвращенный с ее помощью ущерб. Расчет стоимости вакцинопрофилактики в данном альтернативном варианте проводился по формуле [24]:

$$\text{Cost}_{\text{вн}} = \text{Cost}_{\text{лп}} \times N,$$

где: $\text{Cost}_{\text{вн}}$ – стоимость вакцинопрофилактики; $\text{Cost}_{\text{лп}}$ – стоимость лекарственного препарата; N – количество привитых.

Затраты на вакцинацию рассчитывались в соответствии с действующей в стране схемой проведения прививок. Согласно национальному календарю, пациентам вводится однократно в течение всей жизни ПКВ 13. Лица, ежегодно пополняющие список групп риска, также будут нуждаться в вакцинации ПКВ 13. По окончании 1 года проводится первичная вакцинация ППВ 23 и через 5 лет – ревакцинация этой же вакциной.

Планируемая в перспективе на 10 лет вакцинопрофилактика представляется нам высокоэкономичным и доступным профилактическим мероприятием, способным оказать существенное влияние на снижение количества случаев ПН. Определяющим условием повышения эффективности вакцинопрофилактики ПИ явилось применение двух взаимозаменяемых полисахаридных вакцин ППВ 23 и ПКВ 13. По расчетным данным в 2019 году следовало ожидать результаты только первичной вакцинации ПКВ13, проведенной у 3632 человек. В 2020 году эти же лица прививаются ППВ 23, а вновь поступившие 230 человек впервые получают ПКВ 13. Отсюда следует, что потенцированные эффекты двух вакцин начинают осуществляться именно в этом году, когда биологическое действие ППВ 23 развивается на фоне привитой в 2019 году вакцины ПКВ13. Общей закономерностью вакцинопрофилактики за весь ее 10-летний временной период будут являться регулярно повторяющиеся мероприятия, в которых за первоочередным применением ПКВ 13 у лиц, ежегодно пополняющих группы риска, следует первичное применение ППВ 23 в другом календарном году. С учетом проведенных расчетов, число лиц, ежегодно поступающих в группу риска по предполагаемой ПН, будет находиться в пределах от 230 до 375 человек. Необходимо отметить, что планируемая численность прививаемого контингента увеличится в 2028 году почти в 2 раза, в сравнении с исходным показателем 2019 года, и составит 6305 человек. Важным акцентом планируемой вакцинопрофилактики будет являться ревакцинация ППВ 23 в 2025 году, охватывающая 4641 человека. В этой связи, начиная с 2026 года, прививки вакцинами ПКВ 13 и ППВ 23 будут продолжены в установленном порядке у вновь поступивших

лиц. Необходимо отметить, что происходящее изменение схемы вакцинации также предполагает снижение финансовых затрат на приобретение препаратов в течение 5 лет, т.е. до следующей ревакцинации ППВ 23. Проспективный расчет показал, что для проведения вакцинации против ПИ, ориентированной требованиями национального календаря профилактических прививок, потребуется сумма, составляющая в течение 10 лет 28,5 млн руб. (рис. 2).

Важным компонентом экономической оценки вакцинопрофилактики являлся расчет предотвращенного ущерба. Число предотвращенных в течение года случаев ПН при 95% охвате пневмококковой вакцинацией рассчитывалось по заключительной формуле [18]:

$$a_i = m_i - L_i,$$

где: a_i – число предотвращенных случаев заболевания в течение года; m_i – вероятное число заболеваний, которые имели бы место за каждый год без вакцинопрофилактики; L_i – заболевшие ПН (в т.ч. вакцинированные и невакцинированные).

Из таблицы 5 следует, что вероятные случаи ПН на фоне вакцинопрофилактики приобрели одностороннюю тенденцию к снижению по окончании 2020 года. Однако вероятность случаев развития ПН в 2028 году останется повышенной у лиц, вновь поступивших в группу риска и получивших только первичную вакцинацию ПКВ13. К этой категории отнесены 375 человек, у которых плановая первичная вакцинация ППВ23 должна проводиться в 2029 году, выходящим за временные рамки настоящего исследования. Вместе с тем, в 2028 году успеют получить прививки ППВ23 еще 352 человека, пополнявшие группу риска в 2027 году.

Таким образом, оценка преимуществ стратегии профилактики «с вакцинацией» исходит от предотвращенных затрат, представленных как экономический ущерб, связанный с распространением случаев ПН, которые были предупреждены в результате вакцинопрофилактики с использованием ПКВ 13 и ППВ 23. Для уточнения данного финансового аспекта определялись предотвращенные затраты, рассчитанные как произведение средней стоимости одного случая заболевания на число предотвращенных случаев. Полученная в результате расчета общая сумма предотвращенного экономического ущерба составила 1,14 млрд руб.

Как показано на рисунке 3, количество вероятных случаев ПН у вакцинированных и невакцинированных лиц в условиях стратегии «с вакцинацией» в целом позитивно снизилось, а вместе с ними уменьшились затраты на лечение.

На заключительном этапе исследования была рассчитана разница между затратами на вакцинацию в избранной нами группе риска ПИ и ущербом, предотвращенным при ее реализации в течение 10 лет. Планируемый охват вакцинацией составил 95%. Сравнение «затрат» на вакцинацию и «выгод» в стоимостных единицах явилось основным подходом к оценке экономических параметров вакцинопрофилактики. При моделировании процесса планируемой вакцинопрофилактики важным аспектом являлся учет всех вакцинированных лиц, в том числе и лиц, количественно пополняющих группу риска с поправкой на ежегодный показатель среднего темпа роста (Tr_{cp}).

Как указывалось выше, финансовые затраты на вакцинацию до 8,8 млн руб. максимально увеличились в 2025 году из-за ревакцинации ППВ 23. В то же время, предотвращенный ущерб составил в денежном эквиваленте 109,7 млн руб. и продолжал увеличиваться, достигая в 2028 году 131,9 млн руб. Ранним показателем эффективности профилактической работы следует считать факт самоокупаемости проводимой вакцинации через 2 года, когда затраты на ее проведение впервые снизились до 828 тыс. руб. (рис. 2).

Интегральный показатель экономической выгоды рассчитывался как разница между предотвращенным ущербом (1,14 млрд руб.) и суммой затрат на вакцинопрофилактику (28,5 млн руб.) и стоимостью лечения случаев ПН у вакцинированных и невакцинированных (17,1 млн руб.). На основании полученного результата чистая экономическая выгода по окончании 2028 года может составлять 968,2 млн руб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании рассматриваются возможности повышения эффективности вакцинации против ПИ среди взрослого населения Астраханского региона и подходы к фармакоэкономическому анализу вакцинопрофилактики. Для объективизации, сложившейся к настоящему времени ситуации проанализирована динамика заболеваемости в группах риска развития ПИ за период 2015–2018 гг. Установлено отсутствие позитивных тенденций при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. За 4 прошедших года их суммарное увеличение достигло 46,5%. Следующими по значимости показателей являлись СД и ожирение, составившие по окончании 2018 года 30,8% в общей структуре патологии. Особое внимание вызывает возрастание хронической бронхолегочной патологии. Спустя 4 года искомый показатель повысился на 22,4%. В течение вышеуказанного периода незначительно увеличилось количество пациентов с гемобластозами, хроническими заболеваниями печени и почек. В общей сложности количество лиц в группах риска развития ПИ составило в среднем показателе 99228 человек, что в масштабах Астраханской области является достаточно значимым показателем.

ВП является широко распространенным заболеванием взрослых и развивается на фоне сниженной

иммунологической реактивности организма. Особенно неблагоприятным является прогноз ВП у пациентов с ХОБЛ. У взрослых пациентов риск развития летальных исходов от ВП намного выше при коморбидной патологии: ИБС, сахарном диабете и ХСН. Все эти факторы приобретают особую актуальность в группах риска, в которых создается «ситуация угрозы» развития ВП на фоне каждого из вышеуказанных заболеваний. Изучение динамики заболеваемости пневмониями населения Астраханской области за 2015 – 2018 гг. выявило по окончании этого временного периода возрастание случаев ПН на 36,5%. Абсолютный показатель общего количества пациентов, перенесших ПН, составил 12970 человек. Ретроспективный расчет стоимости лечения всех зарегистрированных случаев в течение 4 лет показал достаточно внушительную сумму, составившую 265,23 млн руб. Увеличение показателей заболеваемости ПН и финансовых затрат на ее лечение потребовали пересмотра подходов к профилактике и терапии этого заболевания. Крайне малую эффективность профилактических мероприятий в 2015–2018 гг. показал охват вакцинацией в группах риска, не превышающим 2,5%. В исследовании данный период считался «без вакцинации». Чтобы получить ответ на вопрос о величине возможного ущерба при отсутствии вакцинации, нами проводился проспективный расчет затрат на лечение ПН в подобных условиях в течение ближайших 10 лет (2019–2028 гг.). По заключительным результатам расчета финансовых затрат, лечение ПН на фоне альтернативной стратегии «без вакцинации» может оцениваться в сумму 1,31 млрд руб.

Для обоснования экономической целесообразности применения стратегии профилактики «с вакцинацией» рассчитывались предотвращенные затраты (как эквивалент предотвращенного экономического ущерба). В итоге последовательных вычислений общая сумма предотвращенного ущерба на фоне вакцинопрофилактики с продолжительностью 10 лет может составить 1,14 млрд руб. При этом предполагаемая сумма затрат на вакцинопрофилактику равняется 28,5 млн руб., а стоимости лечения случаев ПН среди вакцинированных и невакцинированных лиц – 17,1 млн руб. Таким образом, в бюджет здравоохранения возвращаются 968,2 млн руб.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Орлова Е.А. – сбор материала, написание текста, редактирование;

Дорфман И.П. – сбор материала и редактирование; Орлов М.А. – написание текста и редактирование;

Абдуллаев М.А. – написание текста и редактирование.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Авдеев С.Н., Тюрин И.Е., Руднов В.А., Рачина С.А., Фесенко О.В. Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2015. – Т. 17. – № 2. – С. 84–126.
2. Овчинников Ю.В., Зайцев А.А., Синопальников А.И., Крюков Е.В., Харитонов М.Ю., Чернов С.А., Макаревич А.М. Внебольничная пневмония у военнослужащих: тактика ведения и антимикробная терапия // Военно-медицинский журнал. – 2016. – Т. 337. – № 3. – С. 4–14.
3. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2013. – Т. 3. – № 2. – С. 91–123.
4. Papadatou I, Spoulou V. Pneumococcal vaccination in high-

- risk individuals: are we doing it right? Clin Vaccine Immunol. – 2016. – Vol. 23. – P. 388–395. DOI: 10.1128/CI.00721-15.
5. Брико Н.И., Цапкова Н.Н., Батыршина Л.Р., Коршунов В.А., Фельдблюм И.В., Бикмиева А.В., Субботина К.А., Филиппов О.В. Проблемы вакцинопрофилактики взрослого населения // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 4–15. DOI: 10.24411/2073-3046-2018-10001.
 6. Костинов М.П., Чучалин А.Г., Коровкина Е.С. Инновационная вакцина против пневмококковой инфекции в профилактике обострений хронических заболеваний у взрослых // Здравоохранение Российской Федерации. – 2015. – Т. 59. – № 5. – С. 49–53.
 7. Парамонова Ю.А., Постникова Л.Б., Костинов М.П., Тарасова А.А., Погребецкая В.А. Современные подходы к вакцинопрофилактике пневмококковых инфекций у взрослых пациентов с сахарным диабетом (обзор литературы) // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 83–90. DOI: 10.24411/2073-3046-2018-10012.
 8. Орлова Е.А., Дорфман И.П., Орлов М.А., Умерова А.Р., Ваксер Ю.А. Опыт вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции у взрослого населения в Астраханском регионе // Современная организация лекарственного обеспечения. – 2019. – №1. – С. 11–18. DOI: 10.30809/solo.1.2019.2.
 9. Антонов В.Н. Влияние вакцинопрофилактики на ранние и отдаленные результаты у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 4. – С. 46–46.
 10. Костинов М.П., Жестков А.В., Протасов А.Д., Костинова Т.А., Пахомов Д.В., Чебыкина А.В., Магаршак О.О. Сравнительный анализ динамики показателей качества жизни у больных хронической обструктивной болезнью легких на фоне вакцинации против пневмококковой инфекции с использованием 13-валентной конъюгированной и 23-валентной полисахаридной вакцин // Пульмонология. – 2015. – Т. 25. – № 2. – С. 163–166. DOI: 10.18093/0869-0189-2015-25-2-163-166.
 11. Арутюнов А.Г., Рылова А.К., Арутюнов Г.П. Пневмония у госпитализированных пациентов с декомпенсацией кровообращения (Регистр Павловской больницы) // Журнал Сердечная Недостаточность. – 2014. – Т. 15. – № 3. – С. 146–159.
 12. Чучалин А.Г., Арутюнов Г.П., Синопальников А.И., Авдеев С.Н., Зырянов С.К., Арутюнов А.Г., Козлов Р.С., Белевский А.С., Рачина С.А., Драгунов Д.О., Симбирцева А.С., Гендлин Г.Е., Козиолова Н.А., Тарловская Е.И., Корсунская М.И., Рылова А.К., Чесникова А.И., Орлова Я.А., Проценко Д.Н. Согласованная позиция экспертов по лечению пневмонии у пациентов с декомпенсацией кровообращения // Журнал Сердечная Недостаточность. – 2016. – Т. 17. – № 3. – С. 212–228.
 13. Игнатова Г.Л., Антонов В.Н. Эффективность вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции у пациентов с ХОБЛ с различными индексами коморбидности // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – Т. 16. – № 5. – С. 22–27. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-5-22-27.
 14. Игнатова Г.Л., Антонов В.Н. Создание региональных программ вакцинопрофилактики пациентов с хронической обструктивной болезнью легких на основе комплексного анализа эффективности вакцинации // Consilium Medicum. – 2016. – Т. 18. – № 11. – С. 88–91.
 15. Андреева Н.П., Протасов А.Д., Костинова Т.А., Леженина С.В. Влияние вакцинации против пневмококковой инфекции и гриппа на клиническое течение бронхиальной астмы // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2019. – Т. 18. – № 4. – С. 93–100.
 16. Протасов А.Д., Жестков А.В., Костинов М.П., Корымасов Е.А., Штейнер М.Л., Тезиков Ю.В., Липатов И.С., Решетникова В.П., Лаврентьева Н.Е. Отдаленные результаты клинической эффективности разных схем вакцинации против пневмококковой инфекции и возможный механизм действия вакцинации у больных бронхиальной астмой // Пульмонология. – 2018. – Т. 28. – № 2. – С. 193–199. DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-2-193-199.
 17. Баранов А.А., Брико Н.И., Намазова-Баранова Л.С. Современная клинко-эпидемиологическая характеристика пневмококковых инфекций // Лечащий врач. – 2012. – №4. – С. 79.
 18. Mitra S, Stein GE, Bhupalam S, Havlichek DH. Immunogenicity of 13-valent conjugate pneumococcal vaccine in patients 50 years and older with end-stage renal disease and on dialysis. Clin Vaccine Immunol. – 2016. – Vol. 23. – P. 884–887. DOI: 10.1128/CI.00153-16.
 19. Игнатова Г.Л., Блинова Е.В., Антонов В.Н., Гребнёва И.В. Анализ влияния вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких в сочетании с сахарным диабетом // Терапевтический архив. – 2019. – Т. 91. – № 11. – С. 54–59. DOI: 10.26442/00403660.2019.11.000424.
 20. Березняков И.Г., Махаринская Е.С., Дорошенко О.В. Особенности течения внебольничной пневмонии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // Кліні та експеримент мед дослідж. – 2013. – № 2. – С. 112–120.
 21. Матвеев А.В., Талаев В.Ю., Цыганова М.И., Мохонова Е.В., Никитина З.И., Коптелова В.Н. Аутоиммунные процессы и вакцинация против социально значимых инфекций // Журнал МедиАль. – 2014. – № 2. – С. 72–87.
 22. Тарасова А.А., Костинов М.П., Парамонова Ю.А. Подходы к вакцинопрофилактике респираторных инфекций у пациентов с сахарным диабетом в современной эпидемиологической ситуации // Сахарный диабет. – 2019. – Т. 22. – № 5. – С. 473–480. DOI: 10.14341/DM9820.
 23. Хоха Р.Н., Парамонова Н.С., Малышко Н.А. Мониторинг возрастной динамики многолетнего показателя общей заболеваемости бронхиальной астмой среди детского населения // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2015. – Т. 50. – № 2. – С. 76–80.
 24. Куликов А.Ю., Акимов Ю.И. Методология фармакоэкономического анализа вакцинопрофилактики // Фармакоэкономика. – 2013. – Т. 6. – № 1. – С. 4–10.

АВТОРЫ

Орлова Екатерина Анатольевна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой фармакологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7169-3586. E-mail: eorlova56@mail.ru

Дорфман Инна Петровна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1561-0592. E-mail: inna1977@inbox.ru

Орлов Михаил Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской реабилитации, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8995-6572. E-mail: orlovdoc56@gmail.com

Абдуллаев Мусаледин Абусаламович – аспирант кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7374-2660. E-mail: abdullaev-musalitdin@mail.ru

УДК 547.814.5:544.18



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ (НО·) АКТИВНОСТИ РОДСТВЕННЫХ СТРУКТУР, СОДЕРЖАЩИХ ЦИННАМОИЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ. III. ХАЛКОНЫ, ФЛАВАНОНЫ И ФЛАВОНЫ С ФЛОРОГЛЮЦИНОВЫМ ТИПОМ КОЛЬЦА «А»

Э.Т. Оганесян, С.С. Шатохин

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

E-mail: edwardov@mail.ru

Получено 03.07.2020

Принята к печати 30.12.2020

Изучено 42 производных халкона, флаванона и флавоны, имеющих флороглюциновый тип кольца «А» и содержащих одинаковые электронодонорные заместители в кольце «В». Флавоноиды с флороглюциновым типом кольца «А» наиболее распространены в природе, что обусловлено особенностями биогенетического формирования при участии малониловых и ацетильных фрагментов.

Цель. Выявление влияния гидроксигруппы в положении 6' у халконов и в положении 5 у флаванонов и флавонов на связевые числа (N_{μ}); индексы свободной валентности (F_{μ}); Малликовские заряды ($a.e$); электронную плотность; индексы ненасыщенности (IUA) атомов углерода C-1→C-6→C-7→C-8.

Материалы и методы. Перечисленные выше квантово-химические параметры анализируемых соединений рассчитаны полуэмпирическим методом PM7 (программа WinMopac 2016) на рабочей станции с процессором Intel Xeon E5-1620 3,5 ГГц, 20 Гб оперативной памяти.

Результаты. Квантово-химические характеристики рассматриваемых производных, имеющих флороглюциновый тип кольца «А», свидетельствуют о том, что ОН-группа в положении 6' у халконов, (у соответствующих флаванонов и флавонов в положении 5) влияет по-разному: у халконов имеет место незначительное повышение отрицательного заряда ($a.e$) и электронной плотности, связевые числа принимают разные значения, что зависит от положения и числа заместителей в кольце «В». У флаванонов N_{μ} практически остается на одном уровне 3,822–3,829. У флавонов значения связевых чисел N_{μ} у C-8 находятся в интервале 3,700–3,706, а Малликовские заряды находятся в пределах от –0,4120 до –0,4356. У замещенных по положению C-3 (6-флаванон и 7-флаванон) заряд равен –0,4436 и –0,4479 соответственно. У халконов заряд на C-7 имеет отрицательное значение у соединений 4х, 5х, 10х и 13х от –0,0204 до –0,0470. Остальные производные халкона, а также соответствующие флаваноны и флавоны, характеризуются положительным значением $a.e$ на C-7. Исходя из связевых чисел (N_{μ}), найдены индексы свободной валентности (F_{μ}) для атомов углерода циннамоильного фрагмента C-1→C-6→C-7→C-8. При сопоставлении полученных данных установлено, что у халконов на атомах C-1→C-8 значения индексов свободной валентности находятся в пределах 0,900–0,980 у соединений 12х, 13х, где $F_{\mu} > 1$. У флаванонов на атомах C-1, C-3 и C-5 (соединения 12анон и 13анон) индексы свободной валентности находятся в интервале 0,984–1,024, а у остальных атомов величина F_{μ} примерно такая же, как у халконов. На атомах C-8 всех производных, а также C-1, C-3 и C-5 (соединения 12он, 13он) $F_{\mu} \geq 1,0$. Можно предположить, что при значениях $F_{\mu} = 0,850–0,955$ для всех анализируемых соединений возможны реакции присоединения по двойной связи, а если $F_{\mu} \geq 1$, то присоединение будет проходить по свободнорадикальному механизму. Полученные данные свидетельствуют о том, что ОН-группа в положении 6' у халкона и 5 у флаванонов – не оказывает существенного влияния на Малликовский заряд ($a.e$) и электронную плотность на атомах C-8.

Заключение. На основании полученных данных установлено, что ОН-группа в положении 6' кольца «А» халконов (в положении 5 у флавонов и флаванонов) разнонаправлено влияет на величину связевых чисел: при переходе от халкона к флаванону N_{μ} возрастает, а затем у флавоны резко уменьшается. Для атомов C-8 всех производных флавоны $F_{\mu} \geq 1$. Это вновь доказывает высказанный ранее нами вывод, что на начальном этапе электрофильный гидроксильный радикал присоединяется по положению C-8 циннамоильного фрагмента.

Ключевые слова: 2,4',6'-тригидроксиалконы; 5,7-дигидроксифлаваноны; 5,7-дигидроксифлавоны; связевые числа; индексы свободной валентности

Для цитирования: Э.Т. Оганесян, С.С. Шатохин. Использование квантово-химических параметров для прогнозирования антирадикальной (НО·) активности родственных структур, содержащих циннамоильный фрагмент. III. Халконы, флаваноны и флавоны с флороглюциновым типом кольца «А». *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):446-455. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-446-455

© Э.Т. Оганесян, С.С. Шатохин, 2020

For citation: E.T. Oganessian, S.S. Shatokhin. Use of quantum-chemical parameters for forecasting antiradical (HO·) activity of related structures containing a cinnamic mold fragment. III. Chalcones, flavanones and flavones with phloroglucinic type of ring "A". *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):446-455. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-446-455

USE OF QUANTUM-CHEMICAL PARAMETERS FOR FORECASTING ANTIRADICAL (HO·) ACTIVITY OF RELATED STRUCTURES CONTAINING A CINNAMIC MOLD FRAGMENT.

III. CHALCONES, FLAVANONES AND FLAVONES WITH PHLOROGLUCINIC TYPE OF RING "A"

E.T. Oganesyan, S.S. Shatokhin

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

E-mail: edwardov@mail.ru

Received 3 July 2020

Accepted 30 Dec 2020

42 derivatives of chalcone, flavanone and flavone having a phloroglucinic type of ring "A" and containing the same electron-donating substituents on ring "B", have been studied. Flavonoids with the phloroglucinic type of ring "A" are the most common in nature, which is due to the peculiarities of biogenetic formation with the participation of malonyl and acetyl fragments.

The aim. To determine the effect of the hydroxy group in position 6' of chalcones and in position 5 of flavanones and flavones on bond numbers (N_μ), free valence indices (F_μ), Mulliken charges (a.e), electron density, unsaturation indices (IUA) of the carbon atoms C-1 → C-6 → C-7 → C-8.

Materials and methods. The calculations of the listed above parameters with the use of the semi-empirical method PM7 (WinMopac 2016 program) have been carried out on a workstation with an Intel Xeon E5-1620 3.5 GHz processor, 20 GB of RAM.

Results. The quantum-chemical characteristics of the considered derivatives having a phloroglucinic type of the "A" ring, indicate that the OH group in position 6' of chalcones (in the corresponding flavanones and flavones in position 5) has different effects: a slight increase occurs in chalcones negative charge (a.e.) and electron density, the bond numbers take different values, which depends on the position and number of substituents on the ring "B". In flavanones, N_μ practically remains at the same level of 3.822–3.829. For flavones, the binding numbers N_μ for C-8 are in the range of 3.700–3.706, and the Mulliken charges are in the range from –0.4120 to –0.4356. For position-substituted C-3 (6anone and 7anone), the charges are –0.4436 and –0.4479, respectively. The charge on C-7 of chalcones is negative for compounds 4x, 5x, 10x and 13x from –0.0204 to –0.0470. The remaining derivatives of the chalcone, as well as the corresponding flavanones and flavones, are characterized by a positive value of a.e. on C-7. Based on the bond numbers (N_μ), free valency indices (F_μ) have been found for the carbon atoms of the cinnamoyl fragment C-1 → C-6 → C-7 → C-8. When comparing the obtained data, it was found out that for chalcones on C-1 → C-8 atoms, the values of the free valence indices are in the range of 0.900–0.980 for compounds 12x, 13x, where $F_\mu > 1$. For flavanones on C-1, C-3, and C-5 atoms (compounds 12anone and 13anone), the free valence indices are in the range of 0.984–1.024, and for the remaining atoms the value of F_μ is approximately the same as that of chalcones. On the C-8 atoms of all the derivatives, as well as on C-1, C-3 and C-5 (compounds 12one, 13one), $F_\mu \geq 1.0$. It can be assumed that at values of $F_\mu = 0.850$ – 0.955 for all the analyzed compounds, coupling reactions on the double bond are possible, and if $F_\mu \geq 1$, the coupling will take place according to the free radical mechanism. The data obtained indicate that the OH group in position 6' for the chalcone and 5 for the flavanones, does not significantly effect the Mulliken charge (a.e) and the electron density on C-8 atoms.

Conclusion. It has been established that the OH group in position 6' of the "A" ring of chalcones (in position 5 of the "A" ring in flavones and flavanones) has a conflicting effect on the bond numbers: when passing from chalcone to flavanone, N_μ increases, and then, in flavone, sharply decreases. For C-8 of all flavone derivatives, $F_\mu \geq 1$. The following conclusion has been confirmed: at the initial stage of the reaction the electrophilic hydroxyl radical is attached at the C-8 position of the cinnamoyl fragment

Keywords: 2',4',6'-threehydroxychalcones, 5,7-dihydroxyflavanones, 5,7-dihydroxyflavones, bond numbers, free valence indices

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что в природе наиболее распространенными являются флавоноиды с флороглюциновым типом кольца «А» [1–4].

В продолжение наших предыдущих сообщений [5, 6] в настоящей работе представлена интерпретация квантово-химических характеристик произво-

дных халкона, флаванона и флавона, характеризующихся флороглюциновым типом кольца (всего 42 соединения) и имеющих электронодонорные заместители в кольцо «В».

ЦЕЛЬ. Выявление влияния на квантово-химические параметры гидроксигруппы в положении 6' у производных халкона, которые при гетероцикли-

зации переходят в соответствующие флаваноны и флавоны, а также вычисление индексов свободной валентности (F_{μ}) атомов углерода главной цепи сопряжения для объяснения реакционной способности изучаемых соединений по отношению к гидроксильному радикалу ОН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Расчет квантово-химических параметров соединений, представленных в работе, осуществлен на рабочей станции с процессором Intel Xeon E5-1620; 3,5 ГГц, 20 Гб оперативной памяти.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем сообщении излагаются данные по анализу квантово-химических характеристик структур, представленных в таблице 1.

Связевые числа (N_{μ}), индексы свободной валентности (F_{μ})

Реакционную способность органических молекул удобно объяснять с учетом индексов свободной валентности соответствующих участков.

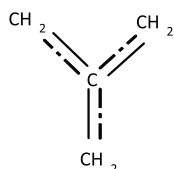
Между данным параметром и связевым числом существует взаимосвязь [7]:

$$F_{\mu} = N_{\mu} - N_{\mu}^{\max}$$

Здесь уместно более подробно изложить физический смысл связевого числа, ибо оно фактически является суммой порядков всех связей, примыкающих к данному атому [7].

Величина N_{μ} отражает степень насыщенности конкретного атома: чем больше N_{μ} , тем более насыщен конкретный атом и, наоборот, чем меньше значение N_{μ} , тем более выражена тенденция данного атома к формированию новых связей.

Теоретический максимум суммы порядков связей должен быть равен 4,732, что принято считать постоянной величиной. Она соответствует сумме порядков связей атома углерода, связанного тремя σ -связями и тремя π -связями с соседними атомами в бирадикале триметилметана [8, 9].



Следует отметить, что по величине F_{μ} можно судить о возможности протекания реакции присоединения с участием соединений, содержащих π -связи: чем выше F_{μ} , тем более выражена активность к присоединению нейтральных частиц. При значениях $F_{\mu} > 1$ в этих реакциях будет преобладать радикальный механизм.

В таблицах 2–4 приведены числовые значения индексов свободной валентности атомов углерода главной цепи сопряжения анализируемых групп соединений.

Производные 2,4,6'-тригидроксиалкона

В отсутствие заместителей в кольце «В» (соединение 1 хал) наименьшим связевым числом 3,779 ($F_{\mu}=0,953$) характеризуется атом С-8, следовательно, присоединение гидроксильного радикала максимально вероятно именно по этому положению.

Несколько больше связевые числа у С-1 и С-5 (3,813) со значением индекса свободной валентности 0,919 у обоих атомов. У остальных атомов С-2, С-4, С-6 и С-7 величины N_{μ} находятся в пределах 3,850, при значении F_{μ} от 0,881 до 0,884.

Введение гидроксигруппы в положение С-1 кольца «В» (соединение 2 хал) способствует снижению связевого числа этого атома до 3,745 ($F_{\mu}=0,987$ при $a.e.=+0,3426$) по сравнению с тем же положением у незамещенного кольца В, где $N_{\mu}=3,813$ ($F_{\mu}=0,919$ при $a.e.=-0,1183$). В этом же соединении наименьшее связевое число у С-8 ($N_{\mu}=3,732$, $F_{\mu}=1,000$, $a.e.=-0,3721$), а у атома С-6 $N_{\mu}=3,765$ ($F_{\mu}=0,967$, $a.e.=-0,2414$).

Относительно низкими значениями связевых чисел и индексов свободной валентности характеризуются положения С-2 и С-5, где N_{μ} соответственно равны 3,788 ($F_{\mu}=0,944$) и 3,806 ($F_{\mu}=0,926$). Замена ОН-группы при С-1 на OCH_3 сохраняет указанные закономерности на атомах С-1, С-2, С-5, С-6 и С-8 (табл. 2).

У соединения 4 хал ОН-группы находится в положении С-2 и это способствует понижению значения связевого числа при атомах С-1 ($N_{\mu}=3,752$, $F_{\mu}=0,980$, $a.e.=-0,2504$), С-3 ($N_{\mu}=3,769$, $F_{\mu}=0,963$, $a.e.=-0,3068$). У С-8 значение N_{μ} значительно ниже ($N_{\mu}=3,822$, $F_{\mu}=0,910$, $a.e.=-0,3225$), чем у С-1 и С-3.

Метоксигруппа в положении С-2 (соединение 5х) способствует понижению значения связевого числа на С-1 ($N_{\mu}=3,746$, $F_{\mu}=0,986$, $a.e.=-0,2567$) и С-3 ($N_{\mu}=3,767$, $F_{\mu}=0,965$, $a.e.=-0,2964$). Что касается атома С-8, то здесь $N_{\mu}=3,823$ ($F_{\mu}=0,909$, $a.e.=-0,3575$).

Гидроксигруппа в положении С-3 (соединение 6х) способствует существенному снижению величины связевого числа ($N_{\mu}=3,768$, $F_{\mu}=0,964$, $a.e.=-0,3475$) по сравнению с остальными атомами углерода в соединении 6х. Достаточно низкие значения связевых чисел наблюдаются у С-2 ($N_{\mu}=3,788$, $F_{\mu}=0,944$, $a.e.=-0,2618$) и С-4 ($N_{\mu}=3,778$, $F_{\mu}=0,954$, $a.e.=-0,3219$). В случае OCH_3 в положении С-3 (соединение 7х) сохраняются практически те же особенности, что и у 6х.

Две гидроксигруппы или две метоксигруппы (соединения 8х и 11х) в положениях С-2 и С-3 оказывают конкурентное влияние на пропеноновый фрагмент $C-7 \rightarrow C-8 \rightarrow C-9$. Согласно σ -константам Тафта заместителей для С-3-ОН-группы $\sigma = -0,370$, для OCH_3 $\sigma = -0,268$; для С-2-ОН группы $\sigma = +0,127$, для OCH_3 $\sigma = +0,115$ [10]. Подобный тип замещения способствует снижению величины N_{μ} до 3,763 и 3,765 (С-2 и С-3 ди-ОН), 3,765 и 3,757 (С-2 и С-3 ди- OCH_3) на атомах С-4 и С-5 соответственно кольцо «В»).

Таблица 1 – Производные халкона, флаванона и флавоны с флороглюциновым кольцом «А»*

Соединения, № п/п	Халконы				Флаваноны				Флавоны			
	Х				анон				ОН			
	Природа заместителей в кольце «В»											
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
2	ОН	H	H	H	ОН	H	H	H	ОН	H	H	H
3	ОСН ₃	H	H	H	ОСН ₃	H	H	H	ОСН ₃	H	H	H
4	H	ОН	H	H	H	ОН	H	H	H	ОН	H	H
5	H	ОСН ₃	H	H	H	ОСН ₃	H	H	H	ОСН ₃	H	H
6	H	H	ОН	H	H	H	ОН	H	H	H	ОН	H
7	H	H	ОСН ₃	H	H	H	ОСН ₃	H	H	H	ОСН ₃	H
8	H	ОН	ОН	H	H	ОН	ОН	H	H	ОН	ОН	H
9	H	ОСН ₃	ОН	H	H	ОСН ₃	ОН	H	H	ОСН ₃	ОН	H
10	H	ОН	ОСН ₃	H	H	ОН	ОСН ₃	H	H	ОН	ОСН ₃	H
11	H	ОСН ₃	ОСН ₃	H	H	ОСН ₃	ОСН ₃	H	H	ОСН ₃	ОСН ₃	H
12	H	ОН	ОН	ОСН ₃	H	ОН	ОН	ОСН ₃	H	ОН	ОН	ОСН ₃
13	H	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	H	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃	H	ОСН ₃	ОСН ₃	ОСН ₃
14	H	С(CH ₃) ₃	ОН	С(CH ₃) ₃	H	С(CH ₃) ₃	ОН	С(CH ₃) ₃	H	С(CH ₃) ₃	ОН	С(CH ₃) ₃

Примечание: * – производные халкона, флаванона и флавоны под №14 являются виртуальными, которые в соответствии с прогнозом будут синтезированы позже; ** – нумерация углеродных атомов соответствует генерируемым расчетными программами цифрам

Таблица 2 – Значения связевых чисел (Nμ) и индексов свободной валентности (Fμ) на атомах C-1→C-6→C-7→C-8 главной цепи сопряжения* производных 2',4',6-тригидроксиалкона (условно x) Fμ=N_{max} –Nμ

№ п/п	Атомы углерода R	C-1		C-2		C-3		C-4		C-5		C-6		C-7		C-8	
		Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ
1	R ₁ =R ₂ =R ₃ =R ₄ =H	3,813	0,919	3,851	0,881	3,835	0,897	3,853	0,879	3,813	0,919	3,858	0,874	3,848	0,884	3,779	0,953
2	R ₁ =OH, R ₂ =R ₃ =R ₄ =H	3,745	0,987	3,788	0,944	3,829	0,903	3,842	0,89	3,806	0,926	3,765	0,967	3,829	0,903	3,732	1,000
3	R ₁ =OCH ₃ , R ₂ =R ₃ =R ₄ =H	3,766	0,966	3,78	0,952	3,838	0,894	3,837	0,895	3,82	0,912	3,790	0,942	3,861	0,871	3,828	0,904
4	R ₂ =OH, R ₁ =R ₃ =R ₄ =H	3,752	0,980	3,793	0,939	3,769	0,963	3,846	0,886	3,806	0,926	3,856	0,876	3,877	0,855	3,822	0,910
5	R ₂ =OCH ₃ , R ₁ =R ₃ =R ₄ =H	3,746	0,986	3,796	0,936	3,767	0,965	3,847	0,885	3,804	0,928	3,857	0,875	3,875	0,857	3,823	0,909
6	R ₃ =OH, R ₁ =R ₂ =R ₄ =H	3,813	0,919	3,788	0,944	3,771	0,961	3,778	0,954	3,809	0,923	3,853	0,879	3,842	0,890	3,768	0,964
7	R ₃ =OCH ₃ , R ₁ =R ₂ =R ₄ =H	3,815	0,917	3,782	0,95	3,772	0,96	3,775	0,957	3,809	0,923	3,829	0,903	3,839	0,893	3,765	0,967
8	R ₂ =R ₃ =OH, R ₁ =R ₄ =H	3,805	0,927	3,786	0,946	3,762	0,97	3,763	0,963	3,765	0,967	3,837	0,895	3,845	0,887	3,773	0,953
9	R ₂ =OCH ₃ , R ₃ =OH, R ₁ =R ₄ =H	3,808	0,924	3,779	0,953	3,758	0,974	3,761	0,971	3,762	0,97	3,835	0,897	3,842	0,890	3,771	0,961
10	R ₂ =OH, R ₃ =OCH ₃ , R ₁ =R ₄ =H	3,809	0,923	3,788	0,944	3,76	0,972	3,763	0,969	3,764	0,968	3,840	0,892	3,873	0,859	3,810	0,922
11	R ₂ =R ₃ =OCH ₃ , R ₁ =R ₄ =H	3,805	0,927	3,779	0,953	3,75	0,982	3,765	0,967	3,757	0,975	3,835	0,897	3,840	0,892	3,768	0,964
12	R ₂ =R ₃ =R ₄ =OH, R ₁ =H	3,798	0,994	3,776	0,956	3,708	1,024	3,77	0,962	3,736	0,996	3,850	0,882	3,852	0,880	3,784	0,948
13	R ₂ =R ₃ =R ₄ =OCH ₃ , R ₁ =H	3,729	1,003	3,776	0,956	3,692	1,04	3,768	0,964	3,721	1,011	3,854	0,878	3,874	0,858	3,820	0,912
14	R ₂ =R ₄ =C(CH ₃) ₂ , R ₃ =OH, R ₁ =H	3,794	0,938	3,794	0,938	3,748	0,984	3,79	0,942	3,798	0,934	3,834	0,898	3,858	0,874	3,788	0,944

Примечание: * — нумерация атомов углерода главной цепи сопряжения приведена в соответствии с цифрами, генерируемыми расчетными программами

Таблица 3 – Значения связевых чисел (Nμ) и индексов свободной валентности (Fμ) на атомах C-1→C-6→C-7→C-8 главной цепи сопряжения* производных 5,7-дигидроксифлаванона (условно анон)

№ п/п	Атомы углерода R	C-1		C-2		C-3		C-4		C-5		C-6		C-7		C-8	
		Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ
1	R ₁ =R ₂ =R ₃ =R ₄ =H	3,829	0,903	3,849	0,883	3,844	0,888	3,85	0,882	3,828	0,904	3,840	0,892	3,838	0,894	3,827	0,905
2	R ₁ =OH, R ₂ =R ₃ =R ₄ =H	3,776	0,956	3,795	0,937	3,842	0,89	3,843	0,889	3,822	0,91	3,770	0,962	3,832	0,900	3,819	0,913
3	R ₁ =OCH ₃ , R ₂ =R ₃ =R ₄ =H	3,780	0,952	3,801	0,931	3,842	0,89	3,842	0,89	3,828	0,94	3,792	0,940	3,839	0,893	3,817	0,915
4	R ₂ =OH, R ₁ =R ₃ =R ₄ =H	3,762	0,970	3,792	0,94	3,773	0,959	3,845	0,887	3,814	0,918	3,841	0,891	3,839	0,893	3,826	0,906
5	R ₂ =OCH ₃ , R ₁ =R ₃ =R ₄ =H	3,757	0,975	3,795	0,937	3,77	0,962	3,846	0,886	3,813	0,919	3,842	0,890	3,837	0,895	3,827	0,905
6	R ₃ =OH, R ₁ =R ₂ =R ₄ =H	3,828	0,904	3,785	0,947	3,784	0,948	3,777	0,955	3,823	0,909	3,820	0,912	3,835	0,897	3,826	0,906
7	R ₃ =OCH ₃ , R ₁ =R ₂ =R ₄ =H	3,830	0,902	3,779	0,953	3,785	0,947	3,774	0,958	3,824	0,908	3,817	0,915	3,835	0,897	3,828	0,904
8	R ₂ =R ₃ =OH, R ₁ =R ₄ =H	3,764	0,968	3,778	0,954	3,749	0,983	3,798	0,934	3,832	0,919	3,832	0,900	3,837	0,895	3,827	0,905
9	R ₂ =OCH ₃ , R ₃ =OH, R ₁ =R ₄ =H	3,759	0,973	3,776	0,956	3,746	0,986	3,796	0,936	3,814	0,918	3,833	0,899	3,836	0,896	3,829	0,903
10	R ₂ =OH, R ₃ =OCH ₃ , R ₁ =R ₄ =H	3,767	0,965	3,771	0,961	3,754	0,978	3,792	0,94	3,814	0,918	3,831	0,901	3,835	0,897	3,826	0,906
11	R ₂ =R ₃ =OCH ₃ , R ₁ =R ₄ =H	3,782	0,950	3,767	0,965	3,76	0,972	3,779	0,953	3,82	0,912	3,824	0,908	3,835	0,897	3,829	0,903
12	R ₂ =R ₃ =OH, R ₁ =H	3,748	0,984	3,772	0,96	3,712	1,02	3,776	0,966	3,748	0,984	3,833	0,899	3,838	0,894	3,822	0,910
13	R ₂ =R ₃ =R ₄ =OCH ₃ , R ₁ =H	3,739	0,993	3,767	0,965	3,69	1,042	3,769	0,963	3,722	1,01	3,841	0,891	3,837	0,895	3,831	0,901
14	R ₂ =R ₄ =C(CH ₃) ₃ , R ₃ =OH, R ₁ =H	3,804	0,928	3,793	0,939	3,755	0,977	3,785	0,947	3,811	0,921	3,818	0,914	3,838	0,894	3,829	0,903

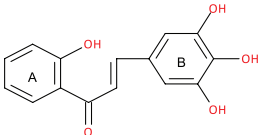
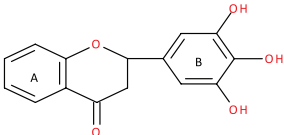
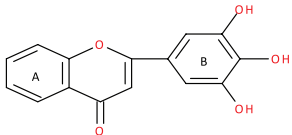
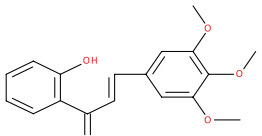
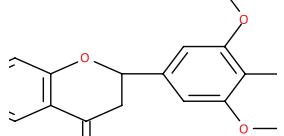
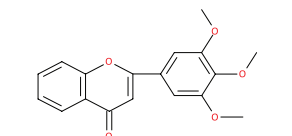
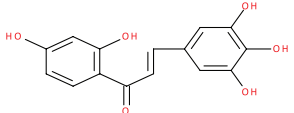
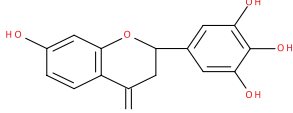
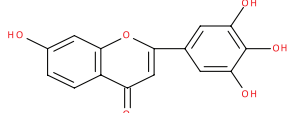
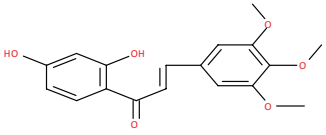
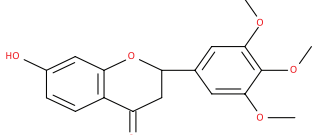
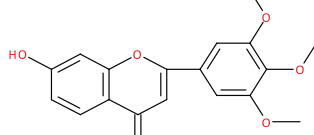
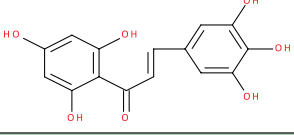
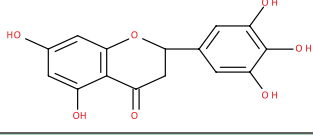
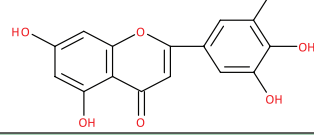
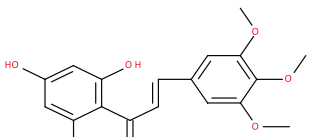
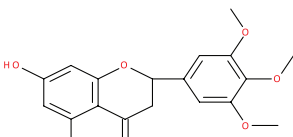
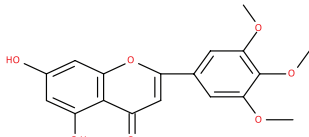
Примечание: * – нумерация атомов углерода главной цепи сопряжения приведена в соответствии с цифрами, генерируемыми расчетными программами

Таблица 4 – Значения связевых чисел (Nμ) и индексов свободной валентности (Fμ) на атомах C-1→C-6→C-7→C-8 главной цепи сопряжения* производных 5,7-дигидроксифлавона (условно он)

№ п/п	Атомы углерода R	C-1		C-2		C-3		C-4		C-5		C-6		C-7		C-8	
		Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ	Nμ	Fμ
1	$R_1=R_2=R_3=R_4=H$	3,808	0,924	3,851	0,881	3,835	0,897	3,852	0,88	3,809	0,923	3,829	0,903	3,793	0,939	3,701	1,031
2	$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H$	3,759	0,973	3,785	0,947	3,832	0,9	3,837	0,895	3,807	0,925	3,724	1,008	3,782	0,950	3,712	1,02
3	$R_1=OCH_3, R_2=R_3=R_4=H$	3,769	0,963	3,77	0,962	3,834	0,898	3,834	0,898	3,81	0,922	3,739	0,993	3,793	0,939	3,712	1,02
4	$R_2=OH, R_1=R_3=R_4=H$	3,745	0,987	3,798	0,934	3,771	0,961	3,848	0,884	3,797	0,935	3,837	0,895	3,798	0,934	3,707	1,25
5	$R_2=OCH_3, R_1=R_3=R_4=H$	3,738	0,994	3,8	0,932	3,767	0,965	3,848	0,884	3,795	0,937	3,838	0,894	3,796	0,936	3,705	1,027
6	$R_3=OH, R_1=R_2=R_4=H$	3,805	0,927	3,789	0,943	3,769	0,963	3,774	0,958	3,805	0,927	3,798	0,934	3,787	0,945	3,694	1,038
7	$R_3=OCH_3, R_1=R_2=R_4=H$	3,808	0,924	3,783	0,949	3,771	0,961	3,771	0,961	3,805	0,927	3,794	0,938	3,783	0,949	3,691	1,041
8	$R_2=R_3=OH, R_1=R_4=H$	3,746	0,986	3,784	0,948	3,742	0,99	3,794	0,938	3,796	0,936	3,820	0,912	3,793	0,939	3,700	1,032
9	$R_2=OCH_3, R_3=OH, R_1=R_4=H$	3,738	0,994	3,781	0,951	3,738	0,994	3,793	0,939	3,796	0,936	3,819	0,913	3,790	0,942	3,698	1,034
10	$R_2=OH, R_3=OCH_3, R_1=R_4=H$	3,749	0,983	3,788	0,944	3,746	0,986	3,79	0,942	3,796	0,936	3,816	0,916	3,789	0,943	3,697	1,035
11	$R_2=R_3=OCH_3, R_1=R_4=H$	3,741	0,991	3,775	0,957	3,743	0,989	3,788	0,944	3,796	0,936	3,816	0,916	3,787	0,945	3,697	1,035
12	$R_2=R_3=R_4=OH, R_1=H$	3,737	0,995	3,776	0,956	3,709	1,023	3,771	0,961	3,732	1,0	3,825	0,907	3,797	0,935	3,705	1,027
13	$R_2=R_3=R_4=OCH_3, R_1=H$	3,723	1,009	3,771	0,961	3,689	1,043	3,773	0,959	3,71	1,022	3,833	0,899	3,791	0,941	3,704	1,028
14	$R_2=R_4=C(CH_3)_3, R_3=OH, R_1=H$	3,785	0,947	3,794	0,938	3,742	0,99	3,787	0,945	3,79	0,942	3,795	0,937	3,777	0,955	3,689	1,043

Примечание: * – нумерация положений в соответствии с генерируемыми расчетными программами цифрами

Таблица 5 – Сравнительные квантово-химические характеристики атома C-8 производных 2'-гидрокси-, 2',4'-дигидрокси- и 2',4',6'-тригидроксиалконов, содержащих заместители в положениях 3, 4, 5 кольца «В»*

  			
а.е.	-0,3016	-0,4337	-0,4337
Nμ	3,817	3,815	3,815
Fμ	0,915	0,917	0,917
эл.пл.	4,3195	4,3737	4,4337
  			
а.е.	-0,3136	-0,4370	-0,4370
Nμ	3,813	3,821	3,821
Fμ	0,919	0,911	0,911
эл.пл.	4,3136	4,4370	4,437
  			
а.е.	-0,3013	-0,4342	-0,4158
Nμ	3,818	3,816	3,699
Fμ	0,914	0,916	1,033
эл.пл.	4,3013	4,4343	4,4158
  			
а.е.	0,3130	-0,4378	-0,4495
Nμ	3,815	3,821	3,686
Fμ	0,917	0,911	1,046
эл.пл.	4,3113	4,4378	4,4495
  			
а.е.	-0,3115	-0,4252	-0,4170
Nμ	3,784	3,822	3,705
Fμ	0,948	0,91	1,027
эл.пл.	4,3115	4,4253	4,4170
  			
а.е.	-0,3265	-0,4291	-0,4190
Nμ	3,820	3,831	3,704
Fμ	0,912	0,901	1,028
эл.пл.	4,3266	4,4292	4,4190

Примечание: * – в таблицах 8–10 нумерация положений углеродных атомов показана согласно общепринятой для халконов, флаванонов и флавонов

У соединений 9х и 10х, где 2-ОН и 3-ОСН₃ (2-ОСН₃ и 3-ОН) на всех атомах углерода пропенового фрагмента наблюдается практически одинаковые значения N_{μ} и F_{μ} .

Наиболее характерные особенности наблюдаются в соединениях 12х и 13х, где кольцо «В» представлено остатком пирогаллола или его сполна метилированного производного. Такое расположение гидроксигрупп характерно для природных флавоноидов – мирицетина, трицетина и трицина [1–3], которые являются наиболее активными антиоксидантами [10] в отношении радикала ОН. Атомы С-1, С-2, С-5, С-8 характеризуются примерно одинаковыми значениями N_{μ} и F_{μ} как у 12х, так и 13х (табл. 2).

Одна очень важная особенность: атомы углерода в кольце «В», с которыми связаны электронодонорные ОН и ОСН₃ группы характеризуются положительным зарядом (С-1 у 2х и 3х; С-2 у 4х и 5х; С-3 у 6х, 7х, 8х, 9х, 10х, 11х, 12х и 14х; С-4 у 8х, 9х, 10х, 11х, 12х, 13х). Из таблицы 2 видно, что перечисленные атомы углерода характеризуются достаточно высокими значениями индексов свободной валентности, однако наличие на этих атомах положительного заряда исключает присоединение к ним на начальной стадии электрофильного гидроксильного радикала.

Производные 5,7-дигидроксифлаванона

В таблице 3 приведены значения N_{μ} и F_{μ} для анализируемых флаванонов. Сравнивая их с аналогичными характеристиками для халконов (табл. 2), можно заметить, что у флаванонов связевые числа и, соответственно, индексы свободной валентности принципиально не отличаются от таковых халконов.

У флаванонов 12анон и 13анон на атомах С-1, С-3, С-5 значения F_{μ} очень близки или равны 1,0, что свидетельствует о предрасположенности указанных положений кольца «В» к присоединению, возможно, по радикальному механизму.

Значения индексов свободной валентности атомов С-6, С-7 и С-8 также свидетельствуют о способности этих атомов к реакциям присоединения.

Производные 5,7-дигидроксифлавоны

Необходимо отметить, что в данной группе производных у всех соединений, без исключения, атом углерода С-7 характеризуется положительным Малликовским зарядом –а.е.

Аналогичная картина наблюдается у атомов С-2 (соединения 4, 5, 9, 10-13он), С-3 (соединения 6-12он и 14он) и С-4 (соединения 12он и 13он).

Наличие положительного заряда на атомах углерода в указанных положениях свидетельствует о том, что на начальном этапе исключается присоединение электрофильного гидроксильного радикала по перечисленным атомам углерода.

Вместе с тем положение С-8 характеризуется такими особенностями, как низкие по сравнению с

другими атомами углерода значения связевых чисел ($N_{\mu}=3,689-3,712$) в сочетании с достаточно высокими индексами свободной валентности ($F_{\mu}=1,02-1,25$) (табл. 4). На этом же атоме углерода отрицательный Малликовский заряд находится в пределах от –0,4122 до –0,4508.

Таким образом, положение С-8 является наиболее вероятным центром, куда на начальном этапе должен присоединиться радикал ОН.

Понятно, что взаимодействие атакующей частицы с данным углеродным атомом виниленовой группы повлечет за собой перераспределение электронной плоскости, связевых чисел, Малликовско-го заряда и индексов свободной валентности. Это в свою очередь приведет к формированию новых нуклеофильных центров, куда присоединится последующий ОН-радикал, и так далее до тех пор, пока в продуктах трансформации флавоны атомы углерода не станут предельно насыщенными, о чем можно будет судить каждый раз по изменяющимся значениям связевых чисел, индексов свободной валентности, а также зарядов атомов углерода и их электронной плотности.

Такой подход, на наш взгляд, создает предпосылки для количественной оценки соотношения числа молей радикала ОН к 1 моль исходного флавоны в процессе их взаимодействия.

В таблице 5 приведены сравнительные квантово-химические характеристики атомов С-8 в анализируемых группах халконов, флаванонов и флавонов, содержащих электронодонорные заместители в кольцах «А» и «В». Выбор соединений, содержащих три –ОН и –ОСН₃-группы (пирогаллольный тип замещения) обусловлен, прежде всего, их наибольшей антиоксидантной и противовоспалительной активностью, что было доказано экспериментально [10–12].

Из таблицы следует, что при переходе от халконов к флавонам, связевые числа (N_{μ}) уменьшаются, что влечет за собой увеличение значения индексов свободной валентности (F_{μ}), а это свидетельствует об усилении реакционной способности атома С-8 в отношении электрофильного гидроксильного радикала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Статья посвящена анализу квантово-химических параметров халконов, флаванонов и флавонов, у которых кольцо «А» представлено флороглюциновым типом, а в кольце «В» всех трех групп соединений в одинаковых положениях содержатся электронодонорные –ОН и –ОСН₃ группы. У трех соединений –14х, 14анон и 14он в кольце «В» содержатся два трет-бутильных заместителя и фенольный гидроксил между ними (табл.1), т.е. кольцо «В» представляет собой пространственно затрудненный фенол, который за счет гомолитического разрыва связи О–Н способен образовать устойчивый феноксильный радикал, который активно взаимодействует с гидрок-

сильным радикалом, о чем было изложено в нашем сообщении I.

Для атомов углерода главной цепи сопряжения C-1→C-6→C-7→C-8 найдены индексы свободной валентности (F_{μ}).

Установлено, что ОН-группа в положении 6' кольца «А» халконов, а у флаванонов и флавонов – это положение 5 кольца «А» влияет разнонаправлено на величину связевых чисел: при переходе от халкона к флаванону N_{μ} возрастает, а затем у флавонов рез-

ко уменьшается. Используя зависимость $F_{\mu} = N_{\mu} - N_{\mu}^{\max}$ найдены соответственно индексы свободной валентности, которые для атомов C-8 всех производных флавонов соответствуют выражению $F_{\mu} \geq 1$. Это вновь доказывает высказанный ранее нами вывод, что на начальном этапе электрофильный гидроксильный радикал присоединяется по положению C-8 циннамоильного фрагмента. На это указывают также Малликовенский заряд ($a.e$) и электронная плотность на данном атоме.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Э.Т. Оганесян – поиск и анализ литературы, интерпретация полученных результатов, написание текста рукописи; С.С. Шатохин – поиск и анализ литературы, выполнение квантово-химических расчетов, интерпретация полученных результатов

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Karrer W. Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe. Birkhäuser, Basel. – 1958. – Vol. 12. – 1216 p. DOI: 10.1007/978-3-0348-6808-2.
2. Литвиненко В.И. Природные флавоноиды. В книге «Технология и стандартизация лекарств». – Харьков: ООО «РИРЕГ». – 1996. – 784 с.
3. Клышев Л.К., Бандюкова В.А., Алюкина Л.С. Флавоноиды растений. – Алма-Ата: Наука. – 1978. – 218 с.
4. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдралилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Synchrobok. Пушино. – 2013. – 310 с.
5. 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 флаванона // Фармация и фармакология. – 2019. – Т. 7. – №1. – С. 53–66. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-53-66.
6. Оганесян Э.Т., Шатохин С.С. Использование квантово-химических параметров для прогнозирования антирадикальной (НО·) активности родственных структур, содержащих циннамоильный фрагмент. II. Производные 2',4'-дигидроксихалкона, а также флаванона и флавонов, содержащие гидроксигруппу в положении 7 // Фармация и фармакология. – 2020. – Т. 8. – №2. – 112–123. DOI:10.19163/2307-9266-2020-8-2-112-123.
7. Минкин В.И., Симкин Б.Я., Миняев Р.М. Теория строения молекул. Ростов-на-Дону: Феникс. – 1997. – 560 с.
8. Жданов Ю.А. Теория строения органических соединений. – М. «Высшая школа». – 1971. – 288 с.
9. Краснов К.С. Молекулы и химическая связь. – М. «Высшая школа». – 1977. – 280 с.
10. Справочник химика. Т. 3. Химическое равновесие и кинетика. Свойства растворов. Электродные процессы / гл. ред. Б. П. Никольский. – 2-е изд., перераб. и доп. – Л.: Химия, Ленингр. отд-ние. – 1964. – 1005 с.
11. Оганесян Э.Т., Мальцев Ю.А., Творовский Д.Е. Исследование механизма реакции производных флавонов с гидроксильным радикалом полуэмпирическими методами // Журнал общей химии. – 2001. – Т. 71. – №6. – С. 999–1005.
12. Оганесян Э.Т., Доркина Е.Г., Хочаева М.Р., Тускаев В.А., Мальцев Ю.А. Использование квантово-химических методов для обоснования антирадикального (ОН·) действия полигидроксихалконов // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – Т. 36. – №12. – С. 21–25.

АВТОРЫ

Оганесян Эдуард Тоникович – доктор фармацевтических наук, профессор, зав. кафедрой органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2756-9382. E-mail:edwardov@mail.ru

Шатохин Станислав Сергеевич – аспирант кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7891-8338. E-mail: Shatohin.stanislav95@yandex.ru

УДК 615.12



ИЗУЧЕНИЕ ИНФОРМИРОВАННОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ ПО ВОПРОСАМ ЗЛОУПОТРЕБЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

Н.Ю. Порсева, А.В. Солонина, О.Н. Дворская

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, 2

E-mail: p9124909966@yandex.ru

Получена 25.12.2019

Принята к печати 08.10.2020

Профилактика немедицинского использования лекарственных препаратов является важнейшей задачей государственной антинаркотической политики Российской Федерации, эффективность которой в значительной степени может быть обусловлена профессиональной информированностью фармацевтических работников, соблюдением ими установленных регламентов отпуска лекарственных препаратов и надлежащего фармацевтического консультирования.

Цель. Изучение информированности фармацевтических специалистов по вопросам злоупотребления лекарственными препаратами.

Материал и методы. Исследование базировалось на анализе нормативных правовых актов Российской Федерации, регламентирующих порядок назначения и отпуска лекарственных препаратов, инструкций по медицинскому применению лекарственных препаратов, используемых с целью злоупотребления. В процессе исследования использовался системный подход, включающий в себя методы структурно-логического, кластерного и контент-анализов, методы обобщения и группировки. Изучение информированности фармацевтических работников по вопросам злоупотребления лекарственными препаратами проводилось методом случайного выборочного опроса по специально разработанной анкете: 396 работников аптечных организаций различных форм собственности из Пермского края, Челябинской и Кировской областей, Удмуртской и Чувашской Республик, Республики Коми в период с 2017 по 2019 годы. В анкету были включены 35 вопросов, структурированных в 4 блока. В первом блоке были включены вопросы по образованию, должности, стажу работы респондентов, во втором – вопросы по выявлению знаний по ассортименту лекарственных препаратов, используемых с целью злоупотребления и категориям потребителей таких лекарственных препаратов. В третьем блоке содержались вопросы по регламентации и соблюдению порядка отпуска препаратов. Четвертый блок анкеты предназначался для установления способов и источников получения информации по вопросам злоупотребления препаратами, используемых специалистами аптечных организаций.

Результаты. На основе проведенного анализа установлен недостаточный уровень знаний специалистами нормативных правовых актов, регламентирующих обращение лекарственных препаратов, ассортимента лекарственных препаратов, используемых с целью злоупотребления и категорий их потребителей. Выявлено нарушение правил отпуска лекарственных препаратов, отсутствие систематизированных источников информации по вопросам злоупотребления лекарственными препаратами.

Заключение. Установлена необходимость разработки программы повышения квалификации фармацевтических работников по вопросам профилактики и предотвращения злоупотребления лекарственными препаратами. С целью формирования дополнительных компетенций по профилактике немедицинского употребления лекарственных препаратов и повышения качества фармацевтического консультирования необходимо проводить соответствующие образовательные мероприятия.

Ключевые слова: информированность фармацевтических специалистов; злоупотребление лекарственными препаратами

Для цитирования: Н.Ю. Порсева, А.В. Солонина, О.Н. Дворская. Изучение информированности фармацевтических работников по вопросам злоупотребления лекарственными препаратами. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):456-464. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-456-464

© Н.Ю. Порсева, А.В. Солонина, О.Н. Дворская, 2020

For citation: N.Yu. Porseva, A.V. Solonina, O.N. Dvorskaya. Study of pharmaceutical specialists' information awareness on the matters of drug abuse. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):456-464. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-456-464

STUDY OF PHARMACEUTICAL SPECIALISTS' INFORMATION AWARENESS ON THE MATTERS OF DRUG ABUSE

N.Yu. Porseva, A.V. Soloninina, O. N. Dvorskaya

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

E-mail: p9124909966@yandex.ru

Received 25 Dec 2020

Accepted 8 Oct 2020

Prevention of non-medical use of drugs is the most important task of the state anti-drug policy of the Russian Federation, the effectiveness of which can largely be due to the professional awareness of pharmaceutical specialists, their compliance with the established regulations for the dispensing of drugs, and proper pharmaceutical advice.

The aim. The research of pharmaceutical specialists' information awareness on the matters of drug abuse.

Material and methods. The study was based on the analysis of the regulatory legal acts of the Russian Federation governing the procedure for prescribing and dispensing drugs, instructions for the medical use of the drugs used for the purpose of abuse. In the course of the study, a systematic approach has been applied. It includes methods of structural-logical, cluster and content analyses, methods of generalization and grouping. The study of pharmaceutical specialists' information awareness on the matters of drug abuse was carried out using a random sample survey using a specially developed questionnaire: 396 employees of pharmacy organizations of various forms of property from the Perm Territory, the Chelyabinsk and Kirov regions, the Udmurt and Chuvash Republics, the Komi Republic, were questioned in the period from 2017 to 2019. The questionnaire included 35 questions, structured in 4 blocks. The first block included questions on education, position, work experience of the respondents, the second – questions on identifying knowledge on the range of drugs used for abuse, and categories of consumers of such drugs. The third block contained questions on the regulation and compliance with the procedure for dispensing drugs. The fourth block of the questionnaire was intended to establish the methods and sources of obtaining information on the abuse of the drugs sold by specialists of pharmacy organizations.

Results. On the basis of the analysis carried out, an insufficient level of knowledge by specialists of the regulatory legal acts governing the trade of drugs, the range of drugs used for the purpose of abuse, and the categories of their consumers have been established. The violation of the rules for dispensing drugs has been revealed, as well as the lack of systematic sources of information on drug abuse.

Conclusion. The need to develop a training program for pharmaceutical specialists on the prophylaxis and prevention of drug abuse has been established. In order to work out additional competencies in the prevention of non-medical use of drugs and improve the quality of pharmaceutical consulting, it is necessary to conduct appropriate educational activities.

Keywords: pharmaceutical specialists' information awareness; drug abuse

ВВЕДЕНИЕ

Злоупотребление лекарственными препаратами (ЛП) на протяжении ряда последних лет остается серьезной проблемой общественного здравоохранения, как в России, так и за рубежом. Обзор источников литературы позволил установить, что неблагоприятная ситуация, связанная с фактами немедицинского использования ЛП, продолжает сохраняться [1–7].

Наиболее часто в немедицинских целях используются ЛП, обладающие психоактивным действием. Данные препараты употребляют для достижения состояния одурманивания (опьянения), которое наступает вслед за приемом препарата и заключается в расстройствах сознания, когнитивных функций, восприятия действительности, эмоций, поведения, реакций, статичности, координации движений, вегетативных и других функций [1, 6–11].

Популярные ЛП, содержащие кодеин или декстрометорфан [1, 4, 12–14], м-холиноблокаторы [6, 8, 15–17], производные бензодиазепаина и

снотворные небензодиазепинового ряда [2, 18–20], баклофен [21, 22], прегабалин [5, 7, 11] и др. употребляются для усиления наркотического эффекта опиоидов, облегчения абстинентного синдрома (при наличии сформированной наркотической зависимости), потенцирования эффекта алкоголя, а также и в индивидуальном виде для достижения состояния одурманивания, что может привести к негативным последствиям, в том числе, их передозировке или лекарственной зависимости.

Проблема немедицинского применения ЛП имеет большое социальное значение, так как основной категорией потребителей является молодое население. Авторы отмечают, что феномен одурманивания при употреблении доступных лекарственных препаратов является серьезной проблемой среди подростков, однако, описаны случаи самоубийств с использованием доступных ЛП у подростков без известного факта злоупотребления [8].

Подчеркивается также, что такого рода ЛП ис-

пользуются при попытках суицида, особенно среди женщин. Также при анализе отравлений была отмечена их сезонность [4, 20, 23].

Согласно «Стратегии государственной антинаркотической политики Российской Федерации до 2020 года»¹ злоупотребление ЛП, обладающих психоактивным действием, представляет серьезную угрозу безопасности государства и здоровью ее населения. В рамках данной Стратегии проводится усиленная работа по стабилизации наркоситуации и немедицинского использования ЛП, включающая осуществление профилактических мероприятий среди населения.

Основным источником приобретения вышеуказанных препаратов являются аптечные организации (АО), специалисты которых должны владеть актуализированной информацией об ассортименте ЛП, категориях потребителей, последствиях злоупотребления и регламентации отпуска ЛП из аптек с целью предотвращения их последующего немедицинского использования. При этом возрастает роль фармацевтического работника в профилактике наркомании и распространенности злоупотреблений лекарственными средствами, которая обеспечивается за счет соблюдения правил отпуска ЛП из АО и оказания надлежащего фармацевтического консультирования.

ЦЕЛЬ. Изучение информированности фармацевтических специалистов по вопросам злоупотребления лекарственными препаратами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В основу исследования положены нормативные правовые акты, регламентирующие порядок назначения и отпуска ЛП, а также инструкции по медицинскому применению ЛП. Для оценки изучения информированности по вопросам злоупотребления в качестве источников информации использовалось анкетирование фармацевтических специалистов. В процессе исследования использовался системный подход, включающий методы: структурно-логического; кластерного и контент-анализов; методы обобщения и группировки.

Изучение проводилось методом случайного выборочного опроса специалистов, работающих в АО различных форм собственности из разных регионов России, а именно: Пермского края, Челябинской и Кировской областей, Удмуртской и Чувашской Республик, Республики Коми в период с 2016 года по 2019 год.

Необходимое для исследования число специалистов определялось с помощью формулы расчета репрезентативного объема выборки для социологических исследований [24]. В анкетировании приняли участие 396 работников АО.

Для оценки профессиональной компетентности

специалистов в этой области нами была разработана анкета, включающая в себя 35 вопросов, структурированных в 4 блока. Первый блок включал общие вопросы, связанные с образованием, должностью и стажем работы специалистов АО. Вопросы второго блока направлены на выявление ассортимента ЛП, используемых с целью злоупотребления и установление категорий потребителей таких ЛП. В третий блок анкеты включены вопросы по регламентации и соблюдению порядка отпуска ЛП. Четвертый блок анкеты предназначался для установления способов и источников получения информации по вопросам злоупотребления ЛП, используемых специалистами АО.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обработка анкет показала, что в выборку попали специалисты, имеющие: высшее фармацевтическое образование (142 специалиста – 35,8%); среднее фармацевтическое образование (234 человека – 59,1%); 20 специалистов (5,1%), имеющих среднее и высшее фармацевтическое образование.

Группировка респондентов по занимаемой должности показала, что: 59,1% респондентов занимают должность фармацевта; 39,9% – провизора; 1,0% – администратора торгового зала.

Результаты распределения фармацевтических специалистов по стажу работы в АО дали основание сделать вывод, что наибольшую часть составляют респонденты со стажем работы от 5 до 20 лет и более (91,9%), остальные имеют стаж от 1 года до 5 лет (8,1%). Почти половину респондентов (40,9% – 162 чел.) составили специалисты с фармацевтическим стажем от 5 до 10 лет, 83 специалиста – со стажем от 10 до 15 лет (21%), 48 сотрудников (12,1%) работают в АО от 15 до 20 лет и 71 человек (17,9%) имеют стаж работы свыше 20 лет.

Изучение данных анкетирования выявило, что работники АО, наряду с регламентированным обязательным повышением квалификации по образовательным программам дополнительного профессионального образования с последующим получением сертификата специалиста не реже 1 раза в 5 лет (100% респондентов), регулярно повышают свою профессиональную квалификацию разными способами, а именно:

- участвуют в образовательных конференциях и семинарах с привлечением специалистов – 61,4% опрошенных работников;
- получают информацию из профессиональных печатных изданий – 60,1% работников АО;
- используют в работе справочную литературу – 55,6 % респондентов;
- посещают тренинги и занятия, проводимые аптечной организацией, – 34,8% работников (рис. 1).

¹ Указ Президента РФ от 09.06.2010 №690 «Об утверждении Стратегии государственной антинаркотической политики Российской Федерации до 2020 года». URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_101259/ (дата обращения 19.08.2019).

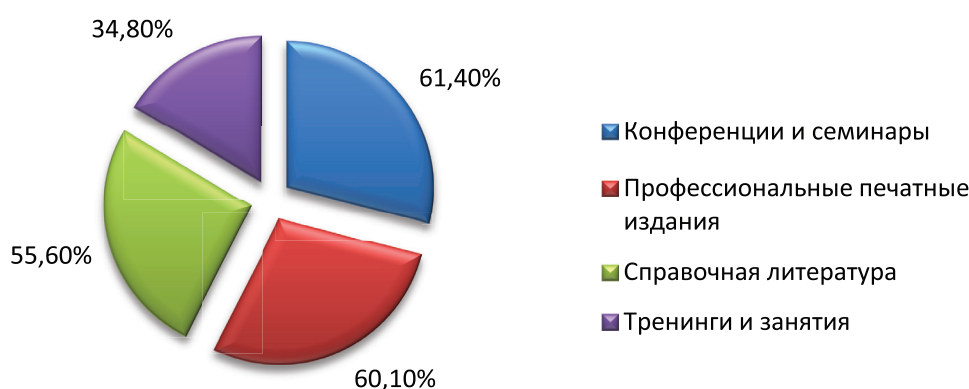


Рисунок 1 – Способы повышения квалификации работниками АО

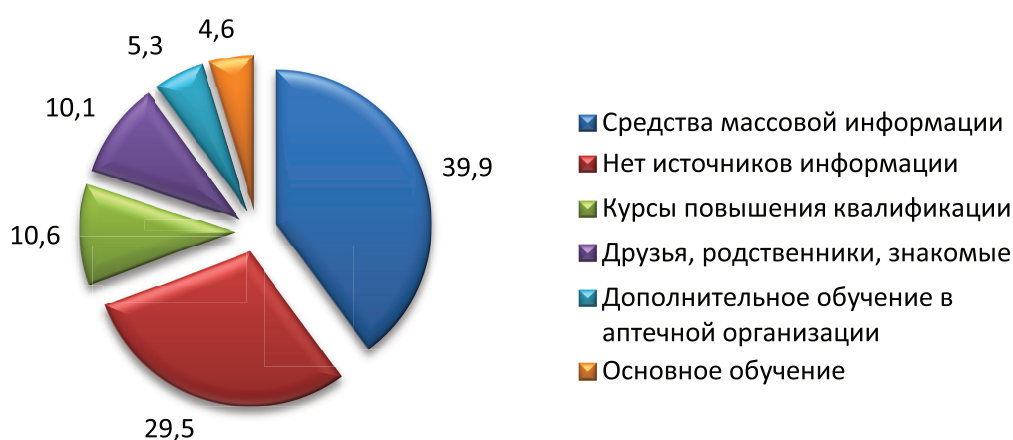


Рисунок 2 – Способы повышения квалификации сотрудниками АО

Одной из основных задач проведения анкетирования являлось изучение информированности работников аптечных организаций о группах ЛП, которые могут применяться не по медицинскому назначению, порядка их отпуска, а также полноты владения специалистами информацией по препаратам, наиболее часто используемым с целью злоупотребления.

В анкете были приведены «Комбинированные ЛП, содержащие кодеин», «Комбинированные ЛП, содержащие декстрометорфан», и конкретные наименования препаратов – тропикамид, циклопентолат и др., а также предложенные формы рецептурных бланков для их отпуска из АО.

При анализе анкет было установлено, что респонденты выделили 13 групп ЛП (представленных 19-ю фармакотерапевтическими группами), используемых (по их мнению) с целью злоупотребления. Наибольшее количество респондентов отметили в качестве подобных групп ЛП: М-холиноблокаторы, содержащие тропикамид и циклопентолат (92,7%), анальгетики и спиртосодержащие ЛП (89,9%).

Практически половина специалистов указали приобретение для немедицинских целей ЛП из групп миорелаксантов (48,9%), противоэпилептических ЛП (50,0%), а также комбинированных ЛП, содержащих декстрометорфан (46,2%). Около 40,0%

респондентов отметили в анкетах комбинированные ЛП, содержащие кодеин (39,4%) и альфа-адреномиметики (35,1%). Менее третьей части специалистов сослались в анкетах на ЛП, применяемые не только в медицинских целях: производные бензодиазепина (28,2%), комбинированные ЛП, содержащие эфедрин (24,7%), антидепрессанты (14,6%) и снотворные средства не бензодиазепинового ряда (15,9%).

В процессе анкетирования были выявлены и отдельные ЛП, запрашиваемые в аптеке для использования с целью злоупотребления (по мнению фармацевтических работников).

Наибольшее количество респондентов определили в качестве ЛП, приобретаемых с целью злоупотребления, комбинированное анальгезирующее средство, содержащее дицикловерин 20,0 мг + парацетамол 500,0 мг (группа «Анальгетики»), спиртосодержащие растворы/настои (89,9%), а также тропикамид (группа «М-холиноблокаторы») – 75,0%.

Практически половина специалистов заострили внимание на приобретении для немедицинских целей: 50,0% – прегабалин из группы «Противоэпилептические средства» и 48,9% – баклофен (группа «Миорелаксанты»). По мнению респондентов, для использования в немедицинских целях приобретаются следующие ЛП: декстрометорфан 15,0 мг +

парацетамол 500,0 мг + фенилэфрин 10,0 мг + хлорфенамин 2,0 мг из группы «Комбинированные ЛП, содержащие декстрометорфан» (39,9%); кодеин 10,0 мг + кофеин 50,0 мг + метамизол натрия 150,0 мг + парацетамол 300,0 мг + фенобарбитал 15,0 мг (30,1%) из группы «Комбинированные ЛП, содержащие кодеин»; нафазолин из группы «Альфа-адреномиметики» (35,1%).

Некоторые респонденты выделили также другие ЛП, в том числе: бромдигидрохлорфенилбензодиазепин из группы «ЛП, производные бензодиазепина» (28,2%); комбинированный препарат, содержащий в составе эфедрин 4,6 мг + глауцин 5,75 мг из группы «Комбинированные ЛП, содержащие эфедрин» (24,7%); дифенгидрамин из группы «Противоаллергическое средство» (21,9%); доксиламин из группы «Снотворное средство» (15,9%); амитриптилин из группы «Антидепрессанты» (14,6%).

В процессе анкетирования выяснилось, что в аптеках спрашивают ЛП всех перечисленных групп, однако, некоторые специалисты не придают этому вопросу особого значения или не имеют достаточных знаний по возможным последствиям немедицинского использования препарата.

Превалирующее число респондентов (356 человек) отметили разные препараты, приобретаемые (по их мнению) не для медицинских целей, при этом 40 информантов вообще считают, что ЛП не могут приобретаться с целью злоупотребления.

Судя по данным анкет, основными потребителями ЛП для немедицинских целей являются подростки и молодое население. Исключение составляет приобретение спиртосодержащих ЛП (по 100 мл) лицами немолодого возраста, преимущественно мужчинами, а также женщинами среднего и пожилого возраста, которые, в основном, обращаются за настойками пустырника, боярышника, пиона по 25 мл – «приходят каждый день или берут сразу упаковок по 30» (здесь и далее цитата из анкеты). При этом респонденты в анкетах указывают, что число постоянных потребителей спиртосодержащей продукции, в среднем, составляет 10–15 человек, а в некоторых аптеках достигает 20. Как правило, каждый из покупателей может приходить в день от 3 до 6 раз. Причем фармацевтические работники «рады бы не отпускать, но нет законодательных оснований к отказу», а руководство аптек относит спиртосодержащие ЛП (в частности, формы выпуска объемом 100 мл) к высокомаржинальной группе товаров, поэтому не стремится вывести их из аптечного ассортимента.

Одной из важных задач анкетирования было изучение информированности фармацевтических работников о регламентации и соблюдении порядка отпуска из АО лекарственных препаратов, используемых с целью злоупотребления.

В результате изучения информированности фармацевтических работников о регламентации поряд-

ка отпуска комбинированных ЛП, содержащих кодеин, декстрометорфан, эфедрин, установлено, что 60 специалистов из 396 (15,1%) знают нормативный документ, регламентирующий данный порядок.²

Отпуск комбинированных ЛП, содержащих кодеин, на основании рецептурного бланка формы 148-1/у-88, в соответствии с регламентирующими нормами³, осуществляют 89,9% специалистов (356 человек), остальные 10,1% считают, что для выписывания и отпуска таких ЛП предусмотрен рецептурный бланк формы 107-1/у.

Мнения аптечных работников разделились при ответе на вопрос: «Какой порядок отпуска предусмотрен для комбинированных ЛП, содержащих в составе декстрометорфан (сиропы от кашля)?». Несмотря на требования нормативного документа, регламентирующего порядок отпуска этих препаратов по рецептам, выписанным на бланках формы 148-1/у-88⁴, только 237 специалистов (59,8%) считают, что перечисленные ЛП должны отпускаться по рецепту, выписанному на бланке формы 148-1/у-88; 139 опрошенных работников (35,1%) утверждают, что это должен быть рецептурный бланк формы 107-1/у; 20 человек (5,1%) считают, что эти ЛП отпускаются без рецепта.

Данные анкетирования показали, что отпуск из АО комбинированного ЛП, содержащего декстрометорфан 15,0 мг + парацетамол 500,0 мг + фенилэфрин 10,0 мг + хлорфенамин 2,0 мг (который должен быть выписан на рецептурном бланке 107-1/у), должен осуществляться (по мнению фармацевтических работников) по рецептам, выписанным на рецептурном бланке формы 148-1/у-88 – 88 специалистов (22,2%), формы 107-1/у – 281 (71,0%), без рецепта врача – 27 (6,8% сотрудников).

Большинство сотрудников АО (324 человека, 81,8%) считают, что комбинированный ЛП, содержащий в составе эфедрин 4,6 мг + глауцин 5,75 мг, отпускается по рецепту, выписанному на бланке формы 107-1/у, 49 человек (12,4%) полагают, что рецептурный бланк должен быть формы 148-1/у-88, а 23 человека (5,8%) считают, что этот ЛП можно отпускать без рецепта.

Больше половины специалистов аптек (55,8%) знают, что ЛП бромдигидрохлорфенилбензодиазепин должен отпускаться по рецепту, выписанному на

² Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 17.05.2012 №562н «Об утверждении порядка отпуска физическим лицам лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих кроме малых количеств наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров другие фармакологические активные вещества» URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_130675/ (дата обращения 26.08.2019).

³ URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_130675/

⁴ Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 17.05.2012 №562н «Об утверждении порядка отпуска физическим лицам лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих кроме малых количеств наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров другие фармакологические активные вещества» http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_130675/ (дата обращения 26.08.2019).

бланке формы 107-1/у. Значительная часть (39,4%) опрошенных специалистов ответили, что этот препарат отпускается по рецепту, выписанному на бланке формы 148-1/у-88, а 4,8% работников АО считают, для отпуска этого ЛП рецепт не нужен.

На вопрос о порядке отпуска ЛП баклофен (должен отпускаться по рецепту, выписанному на бланке формы 107-1/у) были получены следующие ответы: на рецептурном бланке формы 148-1/у-88 (мнение 5,3% работников); на рецептурном бланке формы 107-1/у (86,1%); отпускается без рецепта врача (8,6%).

Изучение порядка отпуска комбинированного ЛП, содержащего дицикловерин 20,0 мг + парацетамол 500,0 мг, показало, что 84,6% опрошенных фармацевтических работников знают о возможности его отпуска без рецепта, а остальные 15,4% считают, что препарат относится к группе рецептурных ЛП.

Все специалисты отметили, что испытывают затруднения при отпуске комбинированного ЛП, выписанного в рецепте по групповому наименованию и у них нет доступного источника информации о групповому наименованиях ЛП на латинском языке.

Следует отметить, что в нормативном документе содержатся требования об обязательности назначения ЛП на латинском языке по международному непатентованному наименованию (МНН), в случае его отсутствия – по групповому или химическому, однако, в имеющихся официальных источниках информации о ЛП (государственный реестр лекарственных средств⁵, инструкции по медицинскому применению ЛП и др.) такая информация отсутствует. В некоторых случаях (в соответствии с требованиями НД) при наличии медицинских показаний назначение ЛП осуществляется по торговым наименованиям по решению врачебной комиссии медицинской организации, при этом на обратной стороне рецепта проставляется специальная отметка (штамп).⁶

На вопрос «Как должен быть оформлен рецепт в случае выписывания комбинированного ЛП по торговому наименованию?» мнения фармацевтических работников разделились: 75,0% считают, что на обороте рецепта ставится специальная отметка (штамп) врачебной комиссии (как и должно быть), а 25,0% считают, что рецепт не требует дополнительного оформления.

Рецепты, выписанные на бланках формы 148-1/у-88, после отпуска комбинированных кодеин содержащих ЛП должны храниться в АО, однако лишь 79,5% специалистов знают об этом. Судя по данным анкет, 5,1% опрошенных работников аптек считают,

что рецепты в аптеке хранить не нужно, а 15,4% респондентов не знают ответа на этот вопрос. Несмотря на регламентирование обязательного хранения в аптеке в течение 3 лет рецептов на комбинированные препараты, содержащие в составе декстрометорфан (сиропа от кашля)⁷, лишь чуть более половины специалистов по отпуску ЛП (55,6% – 220 чел.) считают, что АО должны хранить такие рецепты; 19 опрошенных (4,8%) утверждают, что такие рецепты не должны храниться в АО; 157 специалистов (39,6%) затруднились с ответом.

На вопрос: «Какой срок хранения в АО предусмотрен для рецептов, на которых выписаны комбинированные ЛП, содержащие кодеин и декстрометорфан (сиропа от кашля)?» – 64,9% респондентов правильно ответили на поставленный вопрос (в течение трех лет), 13,6% – считают, что рецепты должны храниться в течение 5 лет и 21,5% специалистов уверены, что такие рецепты не должны храниться в аптеке.

В соответствии с установленными требованиями, рецепты на комбинированные ЛП, содержащие декстрометорфан 15,0 мг + парацетамол 500,0 мг + фенилэфрин 10,0 мг + хлорфенамин 2,0 мг и эфедрин 4,6 мг + глауцин 5,75 мг, оформленные на бланках 107-1/у, должны погашаться штампом «Лекарственный препарат отпущен».⁸ Однако изучение результатов анкетирования показало, что 64 фармацевтических работника (16,2%) из 396 опрошенных теоретически знают о необходимости погашать рецепт на эти ЛП, остальные 83,8% этой информацией не владеют. При этом ни один специалист рецепты на данные ЛП штампом не погашает. В некоторых АО штамп «Лекарственный препарат отпущен» совсем отсутствует.

Изучение соблюдения порядка отпуска ЛП показало, что все респонденты знают, что отпуск рецептурных ЛП без рецепта является грубым нарушением лицензионных требований.⁹ Несмотря на это, все действующие в опросе сотрудники (100,0%) отпускают рецептурные препараты (форма бланка 107-1/у) без рецепта врача.

На вопрос: «Отпустите ли вы ЛП, заранее пред-

⁷ Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 17.05.2012 №562н «Об утверждении порядка отпуска физическим лицам лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих кроме малых количеств наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров другие фармакологические активные вещества» http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_130675/ (дата обращения 26.08.2019)

⁸ Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 17.05.2012 №562н «Об утверждении порядка отпуска физическим лицам лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих кроме малых количеств наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров другие фармакологические активные вещества» http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_130675/ (дата обращения 26.08.2019)

⁹ Постановление Правительства РФ от 22.12.2011 №1081 «О лицензировании фармацевтической деятельности» // http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_124279/ (дата обращения 28.08.2019)

⁵ Государственный реестр лекарственных средств URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx> (дата обращения 23.08.2019)

⁶ Приказ Министерства здравоохранения РФ от 14.01.2019 №4 «Об утверждении порядка назначения лекарственных препаратов, форм рецептурных бланков на лекарственные препараты, порядка оформления указанных бланков, их учета и хранения» // http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_321140/ (дата обращения 26.08.2019)

полагая, что его используют не по медицинскому назначению?» – 68 фармацевтических работников (17,2%) дали отрицательный ответ, остальные 328 (82,8%) ответили на вопрос утвердительно.

По мнению фармацевтических работников, основными причинами сознательного отпуска без рецепта ЛП, используемых с целью злоупотребления, являются: стремление повысить выручку аптеки (отметили 317 респондентов – 80,1%), недостаток информации по вопросам злоупотребления (указали 198 человек – 50,0%) и равнодушие к проблемам покупателей (42 респондента – 10,6%) в совокупности.

В результате изучения способов получения аптечными работниками информации по вопросам немедицинского использования ЛП выявлено:

- самостоятельно с помощью средств массовой информации получают знания по вопросам немедицинского использования ЛП 39,9 % от общего числа опрошенных фармацевтических работников (158 чел.);
- утверждают, что для них нет источников информации по теме опроса 29,5% опрошенных (117 чел.);
- приобретают информацию на курсах повышения квалификации 10,6% специалистов (42 чел.);
- знания в этой области от друзей, родственников, знакомых (случаи из жизни) получают 10,1% (40 чел.) специалистов;
- узнают о ЛП, используемых с целью злоупотребления, во время дополнительной учебы, проведенной в аптечной организации 5,3% (21 чел.);
- оставшиеся 4,6% работников (18 чел.) приобретают информацию во время получения среднего профессионального или высшего образования (рис. 2).

Превалирующее количество анкетированных (297 чел. – 75,0%) уверены в необходимости специального обучения по тематике ассортимента и регламентации отпуска ЛП, используемых с целью злоупотребления. Также 78,8% фармацевтических работников предполагают, что наличие и использование систематизированной информации об ассортименте и регламентации отпуска ЛП, применяемых с целью злоупотребления, будет способствовать повышению их профессионального уровня.

Все опрошенные фармацевтические специалисты подтвердили необходимость получения дополнительной информации по лекарственным препаратам, используемым с целью злоупотребления.

Как показали результаты анкетирования, мнения фармацевтических работников по вопросам отпуска ЛП в ряде случаев не совпадают с требованиями нормативных документов, несмотря на то, что более половины (51,0%) респондентов – опытные работники со стажем работы более 10 лет. Зачастую

действия специалистов противоречат законодательству и этико-деонтологическим нормам, принятым в фармации. Отметим также, что у специалистов на этапе обслуживания пациента нет стремления к предотвращению злоупотребления ЛП.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования показали, что процент фармацевтических работников, знающих ассортимент ЛП, которые могут использоваться с немедицинской целью, невысокий и разнится в зависимости от группы. Так, например, комбинированные ЛП, содержащие декстрометорфан, выделили 6% сотрудников АО; комбинированные ЛП, содержащие эфедрин – 25%; ЛП, производные бензодиазепа – 28%; миорелаксанты – 49%, снотворное средство небензодиазепинового ряда доксиламин – 16% и т.д.

Большинством специалистов остались не раскрытыми все возможные группы ЛП, применяемые с целью злоупотребления, вследствие недостаточной информированности по теме злоупотребления. Результаты анкетирования выявили фармацевтических работников, которые не назвали ни одной из перечисленных групп ЛП.

Сотрудники АО не в полной мере знают требования нормативных документов, регламентирующих правила отпуска ЛП, что приводит к их нарушениям. Многие специалисты осуществляют отпуск рецептурных ЛП без рецепта врача. Заведомо зная о возможности немедицинского применения ЛП, большинство опрошенных специалистов все равно их отпускают, объясняя это стремлением повысить выручку аптеки, недостатком информации по вопросам злоупотребления и равнодушием к проблемам покупателей.

Все специалисты испытывают трудности при отпуске комбинированного ЛП, выписанного в рецепте по групповому наименованию и у них нет доступного источника информации о групповых наименованиях ЛП на латинском языке. Не знают требований к оформлению рецепта в случае выписывания комбинированного ЛП по торговому наименованию 25,0% работников АО, принимавших участие в анкетировании.

Не имеют источника информации по вопросам немедицинского использования ЛП 117 специалистов (29,5%). Достаточно низкий процент специалистов получают такую информацию в процессе обучения по программам среднего профессионального или высшего образования (4,6%) и повышения квалификации (10,6%).

Анализ данных анкетирования работников АО по уровню фармацевтического образования, занимаемой должности, стажу работы и обучению по дополнительным профессиональным программам повышения квалификации предполагает наличие достаточно высокого процента специалистов, обладающих профессиональными знаниями и опытом среди исследуемой нами выборки (396 человек). Од-

нако результат изучения информированности по вопросам злоупотребления ЛП показал, что более стабильные знания по вопросам злоупотребления ЛП продемонстрировали специалисты, имеющие стаж работы от 5 до 10 лет, тогда как у фармацевтических специалистов с опытом работы более 20 лет отмечается невысокий уровень знаний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование свидетельствует о недостаточной информированности фармацевтических специалистов по вопросам немедицинского применения ЛП, что позволяет сделать вывод, что при обучении по программам повышения

квалификации данным вопросам уделяется недостаточно внимания. Это обуславливает необходимость разработки специальной программы повышения квалификации дополнительного профессионального образования по вопросам профилактики и предотвращения злоупотреблений ЛП. Необходимо проводить соответствующие образовательные мероприятия с целью формирования у фармацевтических специалистов дополнительных компетенций по профилактике немедицинского употребления лекарственных препаратов и повышению качества фармацевтического консультирования, а также мотивации работников к самообразованию, осознания ими ответственности за здоровье людей.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Н.Ю. Порсева – дизайн исследования; обзор публикаций по теме статьи; сбор данных; анализ и интерпретация результатов работы; написание текста, формулировка выводов; А.В. Солонина – дизайн исследования; формулировка выводов; редактирование и переработка статьи; О.Н. Дворская – обзор публикаций по теме статьи; сбор данных; интерпретация результатов исследования; редакция статьи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Baumevieille M., Rambaud A., Perri-Plande J., Daveluy A. Community pharmacists, students in pharmacy, and requests of codeine-based medicines: Observational study // *Therapie*. – 2020. – Vol. 75. – No.6. P. 569–577. DOI: 10.1016/j.therap.2019.12.006.
2. Harvin A., Weber R. J. A Primer on Prescription Drug Abuse and the Role of the Pharmacy Director // *Hospital Pharmacy*. – 2015. – Vol. 50. – No.5. P. 423–428. DOI: 10.1310/hpj5005-423.
3. Shimane T. The Pharmacist as Gatekeeper of Prescription Drug Abuse: Return to “Community Scientists” // *Yakugaku Zasshi*. – 2016. – Vol. 136. – No.1. – P. 79–87. DOI: 10.1248/yakushi.15-00228-3.
4. Suchecka D., Kucharska-Mazur J., Groszewska K., Mak M., Samochowiec J., Samochowiec A. Analysis of the phenomenon of over-the-counter drug abuse and not controlled herbs trade by polish adolescents: Part I // *Med Pr*. – 2017. – Vol. 68. – No.3. – P. 413–422. DOI: 10.13075/mp.5893.00245.
5. Al-Husseini A., Wazaify M., Van Hout M. C. Pregabalin Misuse and Abuse in Jordan: a Qualitative Study of User Experiences // *Int J Ment Health Addiction*. – 2018. – Vol. 16. – No.3. – P. 642–654. DOI: 10.1007/s11469-017-9813-4.
6. Фастовцов Г.А., Искандаров Р.Р., Бурцев А.А. Немедицинское употребление тропикамида. Обзор некоторых клинических особенностей // *Наркология*. – 2019. – Т. 18. – № 10. – С. 83–86. DOI: 10.25557/1682-8313.2019.10.83-86.
7. Рохлина М.Л., Ненастьева А.Ю., Усманова Н.Н., Захаров Е.Д., Демурова В.Н. Злоупотребление прегабалином (лирикой) // *Вопросы наркологии*. – 2015. – №3. – С. 9–15.
8. Sikary A.K., Sasidharan A., Pillay V.V., Andrade C., Asian J. Prescription drug suicide in non-abusers: A 6-year forensic survey // *Psychiatr*. – 2019. – No.44. – P. 133–137. DOI: 10.1016/j.ajp.2019.07.039.
9. Сахаров А.В., Барышева О.В., Говорин Н.В. Клинический случай синдрома отмены при зависимости от дицикловерина // *Наркология*. – 2015. – Т. 14. – № 3. – С. 41–45.
10. Тетенова Е.Ю., Надеждин А.В., Колгашкин А.Ю. Злоупотребление прегабалином: предварительная информация и обзор свидетельств // *Наркология*. – 2012. – Т. 11. – №7. – С. 79–82.
11. Пискунов М.В., Кривенков А.Н., Рейхель Н.В. Зависимость от прегабалина («лирика»): обзор литературы и собственные наблюдения // *Наркология*. – 2013. – Т. 12. – №4. – С. 52–56.
12. Порсева Н.Ю., Дворская О.Н. Необходимость мер контроля за обращением лекарственных препаратов, содержащих в составе декстрометорфан, используемых с целью злоупотребления // *Медицинская экспертиза и право*. – 2013. – №3. – С. 10–12.
13. Mishriky J., Stupans I., Chan V. Pharmacists' views on the up scheduling of codeine-containing analgesics to 'prescription only' medicines in Australia // *Int J Clin Pharm*. – 2019. – Vol. 41. – No.2. – P. 538–545. DOI: 10.1007/s11096-019-00804-8.
14. Gibbins A.K., Wood P.J., Spark M.J., Managing inappropriate use of non-prescription combination analgesics containing codeine: A modified Delphi study // *Res Social Adm Pharm*. – 2017. – Vol. 13. – No.2. – P. 369–377. DOI: 10.1016/j.sapharm.2016.02.015.
15. Дворская О.Н., Карпенко Ю.Н., Тумилович Е.Ю., Порсева Н.Ю. О проблеме немедицинского использования лекарственного препарата тропикамид в Пермском крае // *Медицинская экспертиза и право*. – 2012. – №1. – С. 17–19.

16. Порсева Н.Ю., Солонинина А.В., Дворская О.Н., Карпенко Ю.Н., Тумилович Е.Ю. Применение холинолитиков в немедицинских целях // Фармация. – 2012. – № 2. – С. – 51–53.
17. Ponté C., Pi C., Palmaro A., Jouanous E., Lapeyre-Mestre M.; French Addictovigilance Network. Early signal of diverted use of tropicamide eye drops in France // Br J Clin Pharmacol. – 2017. – Vol. 83. – No.8. – P. 1791–1800. DOI: 10.1111/bcp.13272.
18. Белова М.В., Ключев Е.А., Мельников Е.С., Елисеева Д.М. Химико-токсикологическая диагностика острых отравлений феназепамом // Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н.В. Склифосовского. – 2018. – Т. 7. – №4. – С. 319–324. DOI: 10.23934/2223-9022-2018-7-4-319-324.
19. Порсева Н.Ю., Дворская О.Н. Правовые аспекты оборота снотворных препаратов, способных вызывать зависимость // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=20191>.
20. McCall W.V., Benca R.M., Rosenquist P.B., Riley M.A., McCloud L., Newman J.C., Case D., Rumble M., Krystal A.D. Hypnotic Medications and Suicide: Risk, Mechanisms, Mitigation, and the FDA // Am J Psychiatry. – 2017. – Vol. 174. – No.1. – P. 18–25. DOI: 10.1176/appi.ajp.2016.16030336.
21. Reynolds K., Kaufman R., Korenoski A., Fennimore L., Shulman J., Lynch M. Trends in gabapentin and baclofen exposures reported to U.S. poison centers // Clin Toxicol (Phila). – 2020. – Vol. 58. – No.7. – P. 763–772. DOI: 10.1080/15563650.2019.1687902.
22. Jamshidi N., Morley K.C., Cairns R., Dawson A., Haber P.S. // Alcohol Alcohol. – 2019. – Vol. 54. – № 1. – P. 73–78. DOI: 10.1093/alcalc/agy082.
23. Кравченко И.В. Суицидальные отравления психотропными препаратами // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2008. – № 4. – С. 51–53.
24. Левин Д.М., Стефан Д., Кребиль Т.С., Беренсон М.Л. Статистика для менеджеров с использованием MicrosoftExcel, 4-е изд. – М.: Издательский дом «Вильямс». – 2004. – 1312 с.

АВТОРЫ

Порсева Наталья Юрьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России. E-mail: p9124909966@yandex.ru

Солонинина Анна Владимировна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ

ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2745-7698. E-mail: soloninina@mail.ru

Дворская Оксана Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры токсикологической химии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4774-8887 E-mail: Dvoksnik@gmail.com

УДК 616.127:615.22



ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ СО СТАБИЛЬНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПОСЛЕ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА

И.А. Наркевич¹, О.Д. Немятых¹, К.А. Ковалева¹, Л.Г. Ратова², И.О. Трушникова³,
Е.Н. Парижская², А.О. Конради^{2,4}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14, лит. А

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский

исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургский государственный экономический университет»

191023, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, улица Садовая, 21

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский национальный

исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики»

197101, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кронверкский проспект, 49

E-mail: xenia.zagvozdina@pharminnotech.com

Получено 12.11.2020

Принята к печати 20.12.2020

Цель. Оценка качества жизни пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца после ангиопластики со стентированием коронарных артерий на постгоспитальном этапе.

Материалы и методы. На разных этапах проспективного обсервационного исследования использовались методы социологического анализа (анкетирование) и методы математической статистики (описательная статистика, метод динамических рядов, факторный и дисперсионный анализ). Материалами исследования служили: 165 электронных историй болезней пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца после ангиопластики со стентированием коронарных артерий, а также 620 анкет, заполненных больными до операции, через 1, 6 и 12 месяцев после выписки. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics.

Результаты. Результаты комплексного опросника позволяют утверждать о сохранении стабильно хорошего самочувствия кардиохирургических пациентов после ангиопластики со стентированием коронарных артерий на протяжении исследуемого промежутка времени. В рамках опросника EQ-5D-5L выявлено, что более 50% пациентов не имеют физиологических проблем. Результаты анализа SAQ демонстрируют, что 58% пациентов отмечают улучшение самочувствия, а также более 34% больных не имеют одышки через 1 год после операции. Установлено статистически достоверное улучшение состояния здоровья по визуально-аналоговой шкале годовой отметки наблюдения ($62,82 \pm 20,95$), что соответствует высокой оценке результатов применения медицинской технологии. При этом 53% больных отмечают, что результаты лечения соответствуют личным ожиданиям.

Заключение. Предложенный расчет интегрированного индекса эффективности лечения пациента на примере больных со стабильной ишемической болезнью сердца после ангиопластики со стентированием коронарных артерий, базирующийся на результатах факторного анализа, может быть использован для оценки эффективности фармакотерапии в рамках ценностно-ориентированного подхода к лечению ряда других патологий.

Ключевые слова: оценка качества жизни; стабильная ишемическая болезнь сердца; ангиопластика со стентированием коронарных артерий

Сокращения: ИБС – ишемическая болезнь сердца; СИБС – стабильная ишемическая болезнь сердца; АСКА – ангиопластика со стентированием коронарных артерий.

Для цитирования: И.А. Наркевич, О.Д. Немятых, К.А. Ковалева, Л.Г. Ратова, И.О. Трушникова, Е.Н. Парижская, А.О. Конради. Оценка качества жизни пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца после реваскуляризации миокарда. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):465-475. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-465-475

© И.А. Наркевич, О.Д. Немятых, К.А. Ковалева, Л.Г. Ратова, И.О. Трушникова, Е.Н. Парижская, А.О. Конради, 2020

For citation: I.A. Narkevich, O.D. Nemyatykh, K.A. Kovaleva, L.G. Ratova, I.O. Trushnikova, E.N. Parizhskaya, A.O. Konradi. Life quality assessment of patients with stable coronary artery disease after myocardial revascularization. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):465-475. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-465-475

LIFE QUALITY ASSESSMENT OF PATIENTS WITH STABLE CORONARY ARTERY DISEASE AFTER MYOCARDIAL REVASCULARIZATION

I.A. Narkevich¹, O.D. Nemyatykh¹, K.A. Kovaleva¹, L.G. Ratova², I.O. Trushnikova³, E.N. Parizhskaya², A.O. Konradi^{2,4}

¹ Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., Saint-Petersburg, Russia, 197376

² Almazov National Medical Research Center
2, Accuratov St., Saint-Petersburg, Russia, 197341

³ Saint-Petersburg State University of Economics
21, Sadovaya St., Saint-Petersburg, Russia, 191023

⁴ Saint Petersburg National Research University of Information Technology
Mechanics and Optics (ITMO University)
49, Kronverksky Ave., Saint-Petersburg, Russia, 197101

E-mail: xenia.zagvozdina@pharminnotech.com

Received 12 Nov 2020

Accepted 20 Dec 2020

The aim of this study is to assess the life quality of patients with stable coronary artery disease after angioplasty and stenting of coronary arteries at the post-hospital stage.

Materials and methods. Methods of the sociological analysis (questionnaire surveys) and methods of mathematical statistics (descriptive statistics, time series method, factor and variance analyses) were used at different stages of the prospective observational study. The research materials were as follows: 1458 electronic patient records with a stable coronary heart disease (SCHD) after angioplasty and stenting of coronary arteries (ASCA); 620 questionnaires filled in by patients before the surgery, 1, 6, 12 months after discharge. The statistical analysis was performed using the IBM SPSS Statistics software.

Results. The results of a comprehensive survey make it possible for us to assert that during the studied period, stable good healths of cardiac surgery patients with ASCA were maintained. Within the framework of the EQ-5D-5L questionnaire, it was revealed that more than 50% of patients have no physiological problems. The results of the SAQ analysis demonstrate that 58% of the patients feel better, and more than 34% of the patients do not have shortness of breath 1 year after the surgery. A statistically significant improvement in their healths was established according to a visual analogue scale relatively to the annual observation mark (62.82 ± 20.95), which corresponds to the high results assessment of the medical technology use. At the same time, 53% of the patients notify that the treatment results meet their own expectations.

Conclusion. The proposed calculation of the integrated index of patients' treatment efficiency demonstrated by the patients with stable coronary heart disease after angioplasty and stenting of the coronary arteries is based on the results of the factor analysis. This calculation can be used to assess the efficiency of pharmacotherapy in the framework of a value-oriented approach to the treatment of a number of other pathologies.

Keywords: life quality assessment; stable coronary heart disease; angioplasty and stenting of coronary arteries

Abbreviations: IHD – ischemic heart disease; SCHD – stable coronary heart disease; ASCA – angioplasty with and stenting of coronary arteries.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на достигнутые за последние десятилетия впечатляющие успехи в профилактике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний в целом, и ишемической болезни (ИБС) в частности, данная патология по-прежнему занимает ведущие позиции в структуре заболеваемости и смертности населения развитых стран. Согласно данным ВОЗ, ИБС охватывает до 15% структуры общей летальности во всем мире [1].

В Российской Федерации за 2018 г. патологии системы кровообращения являются причиной первичной инвалидизации пациентов в 30% случаев. При этом показатель смертности, обусловленный ИБС, достигает 301,6 чел. на 100 тыс. населения, что

составляет 24% в структуре общей летальности. Потери российской экономики от последствий сердечно-сосудистых заболеваний в условиях ограниченного финансирования здравоохранения достигают 3,2% от внутреннего валового продукта, в связи с чем определяют актуальность поиска эффективных и экономичных стратегий лечения, соответствующих современной модели организации медицинской помощи по принципу «Медицина 4П» [2–4]. Так реализация пилотных проектов, направленных на улучшение качества и продолжительности жизни населения в условиях рационального использования ресурсов здравоохранения, заложена в основу «Стратегии лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года» [5].

Для лечения тяжелой, быстро прогрессирующей и резистентной к медикаментозной терапии ИБС наиболее перспективным на сегодняшний день признано сочетание рациональной фармакотерапии с реваскуляризацией миокарда [6, 7]. Важно подчеркнуть, что потенциальные возможности для улучшения качества жизни и прогноза больных при этом реализуются в постоперационном периоде.

В связи с этим, проведение проспективных исследований исходов, качества жизни кардиохирургических больных на этапе реабилитации представляет научную и практическую значимость [8, 9].

ЦЕЛЬ. Оценка качества жизни пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца после ангиопластики со стентированием коронарных артерий на постгоспитальном этапе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Критерии включения в исследование

Пациенты в возрасте от 18 до 90 лет; пациенты, которые имеют коды диагнозов по МКБ-10: I20.8, I25.0, I25.1, I25.2, I25.6, I25.8, I25.9; пациенты, которым провели плановую операцию по реваскуляризации миокарда методом АСКА.

Критерии исключения

Пациенты младше 18 лет; пациенты, которые имеют все остальные коды диагнозов по МКБ-10 в разделе «Ишемическая болезнь сердца» (коды I.20-I.25), за исключением упомянутых в критериях включения; пациенты, которым была проведена экстренная операция АСКА.

Дизайн

Обсервационное проспективное исследование по оценке исходов лечения пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца (СИБС) после ангиопластики со стентированием коронарных артерий (АСКА) проводилось на базе ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Исследование проводилось в соответствии с положениями Хельсинкской декларации 1975 г. (пересмотр в 2000 г), а также стандартами локального этического комитета. Всем поступившим больным предлагалось ознакомиться с информацией для пациента и подписать информированное согласие в двух экземплярах. Далее, после подписания информированного согласия, пациент заполнял анкету без участия врача и третьих лиц. После выписки из стационара опросник был отправлен пациентам по электронной почте (если пациент ее указал) или сбор информации осуществлялся по телефону. Проведение дополнительных методов исследования или использования медикаментозных и немедикаментозных методов лечения, включая коррекцию проводимой фармакотерапии не предусматривалось. После выполнения АСКА пациенты выписывались из стационара в сроки и с рекоменда-

циями, определяемыми лечащим врачом. При необходимости консультирования, пациентов направляли в медицинские организации по месту жительства. Анкеты заполнялись пациентами при поступлении на плановую ангиопластику со стентированием коронарных артерий (АСКА), а также через 1, 6 и 12 месяцев после выписки из стационара.

Для максимально корректного проведения исследования был разработан комплексный опросник, включающий русскоязычные валидированные версии международных опросников, который состоял из 6 блоков:

1. Общие вопросы, необходимые для формирования портрета пациента;
2. Вопросы о получаемом медикаментозном лечении, дозах и кратности приема препаратов;
3. Вопросы, характеризующие общую самооценку состояния здоровья пациента на данный момент, по сравнению со своими сверстниками, а также удовлетворенность проведенной операцией;
4. Шкала диспноэ Medical Research Council (для определения степени одышки);
5. Неспецифический опросник качества жизни EQ-5D-5L с визуально-аналоговой шкалой (позволяет оценить статус здоровья);
6. Специфический опросник для больных со стабильной стенокардией «Seattle Angina Questionnaire» (SAQ), который обладает достаточной надежностью, валидностью и чувствительностью в отношении клинических симптомов ИБС [10–12].

Для многогранной ценностно-ориентированной оценки результатов изучаемой медицинской технологии пациентам было предложено также определить степень важности каждого показателя качества жизни, включенного в комплексный опросник [13].

Статистическая обработка результатов исследования

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета IBM SPSS Statistics. На основании полученных данных рассчитывались описательные статистические показатели. Для непрерывных величин рассчитывали среднее значение, стандартное отклонение, медиану. Для категориальных величин рассчитывали частоту встречаемости признака. Для проверки нормальности или ненормальности распределения использовался одновыборочный критерий Колмогорова-Смирнова. В сравнительном анализе для проверки гипотезы о различии двух зависимых выборок использовали критерий Вилкоксона, а для независимых выборок — критерий Манна-Уитни. Выделение обобщенных факторов в рамках двухэтапного факторного анализа происходило с помощью метода главных компонент и метода вращения — варимакс с нормализацией Кайзера. Для

оценки применимости факторного анализа исследуемых переменных были использованы коэффициент Кайзера-Майера-Олкина (КМО) как мера адекватности выборки и коэффициент Бартлетта, определяющий качество анализируемой корреляционной матрицы. Для обоснования однородности выборки в рамках дисперсионного анализа использованы критерии Ливиня и значение R-квадрат. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Массив данных был сформирован на основании 165 электронных историй болезней пациентов со стабильной стенокардией. В обсервационное исследование было включено 165 пациентов (11,3% от общего числа пациентов со стабильной стенокардией, которым с 01.01.2017 г. по 31.12.2017 г. была проведена операция АСКА). Все больные подписали информированное согласие на участие в исследовании. Поскольку менее 1% пациентов используют электронную почту, устный опрос по телефону служил основным средством получения первичных данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что в исследуемой группе доля мужчин составляет 71,50%, женщин – 28,50%. Возраст пациентов колебался от 36 до 89 лет, средний возраст составил $66,25 \pm 9,52$ лет. Исходные характеристики пациентов представлены в табл. 1.

Установлено, что у 26,67% пациентов была зафиксирована безболевая или впервые выявленная стенокардия. Стенокардия 1-го функционального класса зарегистрирована у 0,61% лиц; стенокардия 2-го функционального класса у 47,88% больных; стенокардия 3 функционального класса у 24,85% пациентов. При этом 67,88% пациентов ранее перенесли инфаркт миокарда в анамнезе; 7,27% больным ранее была проведена операция коронарного шунтирования. Средний срок от реваскуляризации миокарда до АСКА составляет $10,67 \pm 5,40$ лет. Основные сопутствующие заболевания представлены в табл. 2.

Результаты анкетирования пациентов по общей самооценке состояния здоровья и оценке состояния здоровья по сравнению с другими людьми такого же возраста представлены в табл. 3.

Установлено, что достоверно ($p < 0,05$) улучшение здоровья отмечается через 1, 6 и 12 месяцев после выписки из стационара по сравнению с исходным состоянием пациентов. В остальное время самооценка состояния здоровья не изменялась.

Анализ результатов опросника 100-балльной шкалы оценки состояния здоровья пациентов позволяет утверждать о достоверном повышении показателя качества жизни больных в сравнении с аналогичным показателем на исходной точке наблюдения (табл. 4).

Ответы пациентов по показателям EQ-5D-5L свидетельствуют о наличии положительной динамики самочувствия больных к годовой точке наблюдения, что подтверждается статически значимыми различиями

на отдельных отметках в сравнении с исходными значениями (табл. 5).

Результаты, полученные при обработке данных опросника SAQ, позволяют утверждать, что через 1 год у пациентов повышается физическая активность, стабильность стенокардии, качество жизни, также уменьшается тяжесть основной патологии (различия достоверны по сравнению с исходной точкой). Полученные результаты представлены в табл. 6.

Полученные данные по оценке степени тяжести одышки у пациентов демонстрируют снижение количества нарушений со стороны дыхательной системы, патогенез которых обусловлен сердечно-сосудистой патологией (табл. 7).

Выявлено, что большинство пациентов удовлетворены результатами операции и оценивают проведенное оперативное вмешательство по шкале от –10 до +10 с достаточно высокой оценкой (+7 и выше). Однако на более поздних точках удовлетворенность результатами операции несколько снижается (табл. 8). Кроме того, к годовой отметке наблюдения увеличивается практически в 1,5 раза число пациентов, у которых самочувствие от проведенного оперативного вмешательства не соответствует ожиданиям (табл. 9).

В качестве инструмента сжатия многомерности исходных признаков, представленных в комплексном опроснике с учетом особенностей каждой точки наблюдения до новых обобщенных переменных, нами использован двухэтапный факторный анализ.

Результаты 1-го этапа факторного анализа позволили выделить 3 обобщенных компонента на каждой отметке наблюдения, а именно: «Физиологический статус», «Кардиологический статус» и «Реабилитационный статус» (табл. 10).

Факторные оценки для исследуемых переменных определялись путем анализа каждого обобщенного компонента на каждой отметке наблюдения с заданными статистическими установочными параметрами (табл. 11).

Определение факторной нагрузки показателей в каждом компоненте позволило выделить наиболее весомые параметры, а именно: привычная повседневная деятельность; шкала стабильности приступов; 100-балльная визуально-аналоговая шкала.

На основании полученных результатов нами предложена формула расчета интегрированного показателя эффективности фармакотерапии пациентов после АСКА на постоперационном этапе с учетом ценностно-ориентированного подхода (1):

$$I = \sum_{i=1}^n k_i * w_i * x_i \quad (1),$$

где: I – интегрированный индекс эффективности лечения пациента; n – количество показателей эффективности (обобщенных показателей); k_i – весовой коэффициент показателя эффективности (исходя из факторной нагрузки); w_i – коэффициент важности/значимости показателя для пациента; x_i – значение показателя эффективности у пациента.

Таблица 1 – Исходная характеристика пациентов со стабильной стенокардией, которым выполнена АСКА

Показатель	Единицы измерения	Среднее значение	Минимум	Максимум
Возраст	Год	66,25±9,52	36	89
Рост	См	169,76±9,41	146	192
Вес	Кг	85,72±16,51	48	135
Индекс массы тела	Кг/м²	29,72±5,13	19,41	47,05
Систолическое артериальное давление	Мм рт.ст.	133,36±15,36	90	190
Диастолическое артериальное давление	Мм рт.ст.	80,35±8,80	60	110
Частота сердечных сокращений	Удары в минуту	69,18±8,69	50	110

Таблица 2 – Структура сопутствующих патологий у пациентов, которым выполнена АСКА

Заболевание	Число осложнений	Доля пациентов, имеющих сопутствующие заболевания, %
Артериальная гипертензия	152	92,12%
Хроническая сердечная недостаточность	70, из них	42,42%, из них
I стадия	2	2,86%
II стадия	64	91,43%
III стадия	4	5,71%
Заболевания, связанные с нарушением сердечного ритма	36	21,82%
Заболевания, связанные с нарушением мозгового кровообращения	75	45,45%
Облитерирующий атеросклероз нижних конечностей	10	6,06%
Легочная гипертензия	13	7,88%
Сахарный диабет	38, из них	23,03%, из них
1 типа	0	0,00%
2 типа на пероральных гипогликемических препаратах	33	86,84%
2 типа инсулинозависимый	5	13,16%

Таблица 3 – Состояние здоровья по самооценке пациентов

Показатели	Точки наблюдения			
	1 (n=165)	2 (n=160)	3 (n=148)	4 (n=147)
Как Вы оцениваете в настоящее время состояние Вашего здоровья в целом?				
Отличное, %	-	3,6*	2,4*	2,4*
Очень хорошее, %	1,8	2,4*	3,0*	4,2*
Хорошее, %	12,1	35,8*	38,2*	37,0*
Удовлетворительное, %	60,6	40,0*	33,9*	31,0*
Плохое, %	25,5	15,2*	12,1*	14,5*
Пропущенные значения, %	0	3,0	10,4	10,9
Как Вы оцениваете в настоящее время состояние Вашего здоровья по сравнению с другими людьми Вашего возраста?				
Лучше, %	15,2	14,5*	10,9*	10,9
Такое же, %	33,9	44,2*	44,8*	41,2
Хуже, %	50,9	38,2*	33,9*	37,0
Пропущенные значения, %	0	3,0	10,4	10,9

Примечание: *p<0,05 в сравнении с точкой 1; ** p<0,05 в сравнении с точкой 2

Таблица 4 – Динамика показателя качества жизни, определяемого по визуально-аналоговой (100-балльной) шкале

Параметр	Точки наблюдения			
	1 (n=165)	2 (n=160)	3 (n=148)	4 (n=147)
Среднее значение	52,52	64,94*	63,38*/**	62,82*/**
Стандартное отклонение	19,72	19,61	19,31	20,95

Примечание: *p<0,05 в сравнении с точкой 1; ** p<0,05 в сравнении с точкой 2

Таблица 5 – Динамика показателей шкал опросника EQ-5D-5L

Показатели опросника	Доля пациентов, которые не имеют проблем по шкалам опросника, %			
	1 (n=165)	2(n=160)	3(n=148)	4 (n=147)
Подвижность	30,43	48,73*	50,68*	52,78*
Уход за собой	68,84	77,85*	80,82	81,25
Привычная повседневная деятельность	35,51	67,09*	63,70*	64,58*
Боль/Дискомфорт	42,03	72,78*	76,03*	79,86*
Тревога/Депрессия	49,28	70,25*	71,23*	71,53*

Примечание: *p<0,05 в сравнении с точкой 1; ** p<0,05 в сравнении с точкой 2

Таблица 6 – Динамика показателей шкал опросника SAQ

Шкалы опросника SAQ	Точки наблюдения			
	1 (n=165)	2(n=160)	3(n=148)	4 (n=147)
Ограничения физических нагрузок, баллы	63,38±20,20	75,71±15,12*	76,02±14,75*	76,07±14,45*
Стабильность приступов, баллы	60,24±30,52	87,50±23,82*	86,76±27,36*	86,12±27,76*
Частота приступов, баллы	65,39±30,75	90,50±18,25*	90,54±21,18*	90,00±21,55*
Удовлетворенность лечением, баллы	67,14±21,03	72,00±19,08*	71,76±21,07*	71,58±21,11*
Отношение к болезни, баллы	44,90±21,04	59,22±14,47*	59,35±15,30*	58,95±15,49*

Примечание: *p<0,05 в сравнении с точкой 1; ** p<0,05 в сравнении с точкой 2

Таблица 7 – Динамика оценки по шкале диспноэ

Степень одышки/тяжесть	Точки наблюдения			
	1 (n=165)	2 (n=160)	3 (n=148)	4 (n=147)
0/нет, %	25,5	40,6*	33,3 ^{*/**}	34,5*
1/легкая, %	23,6	28,5*	26,1 ^{*/**}	24,8*
2/средняя, %	35,2	20,0*	22,4 ^{*/**}	21,8*
3/тяжелая, %	14,5	6,7*	7,3 ^{*/**}	6,7*
4/очень тяжелая, %	1,2	1,2*	0,6 ^{*/**}	1,2*

Примечание: *p<0,05 в сравнении с точкой 1; ** p<0,05 в сравнении с точкой 2

Таблица 8 – Удовлетворенность пациентов результатами операции

Удовлетворенность результатами операции	Точки наблюдения		
	2 (n=159)	3 (n=148)	4 (n=147)
Медиана	+8	+7*	+7 ^{*/**}

Примечание: *p<0,05 в сравнении с точкой 2; ** p<0,05 в сравнении с точкой 2

Таблица 9 – Анализ соответствия результатов операции ожиданиям пациентов

Соответствие ожиданиям	Точки наблюдения		
	2 (n=159)	3 (n=148)	4 (n=147)
Соответствует, %	71,5	58,2*	53,3 ^{*/**}
Не соответствует, %	24,8	31,5*	35,8 ^{*/**}
Пропущенные значения, %	3,7	10,3*	10,9 ^{*/**}

Примечание: *p<0,05 в сравнении с точкой 2; ** p<0,05 в сравнении с точкой 2

Таблица 10 – Структуризация обобщенных факторов

Компоненты		
1	2	3
Физиологический статус	Кардиологический статус	Реабилитационный статус
Привычная повседневная деятельность	Шкала стабильности приступов	Состояние здоровья по пятибалльной шкале здоровья
Подвижность	Шкала частоты приступов	Состояние здоровья по сравнению со сверстниками
Уход за собой	Шкала отношения к болезни	Визуально-аналоговая шкала
Боль/Дискомфорт		Шкала диспноэ
Тревога/Депрессия		Шкала удовлетворенности лечением
Шкала ограничений физических нагрузок		Удовлетворенность результатами операции
		Соответствие ожиданиям пациентов результата операции

Таблица 11 – Матрица коэффициентов значений компонентов факторов

Фактор	Показатель	Точки наблюдения			
		1	2	3	4
1	Привычная повседневная деятельность	0,232	0,248	0,241	0,228
	Подвижность	0,210	0,246	0,236	0,227
	Уход за собой	0,196	0,241	0,226	0,215
	Боль/Дискомфорт	0,200	0,211	0,196	0,198
	Тревога/Депрессия	0,189	0,161	0,186	0,191
	Шкала ограничений физических нагрузок	–0,213	–0,173	–0,184	–0,186
2	Шкала стабильности приступов	0,380	0,382	0,354	0,354
	Шкала частоты приступов	0,386	0,376	0,353	0,354
	Шкала отношения к болезни	0,382	0,354	0,344	0,352
3	Состояние здоровья по пятибалльной шкале здоровья	0,293	–0,199	–0,195	–0,190
	Состояние здоровья по сравнению со сверстниками	0,258	–0,152	–0,156	–0,159
	Визуально-аналоговая шкала	–0,302	0,218	0,206	0,203
	Шкала диспноэ	0,240	–0,164	–0,155	–0,161
	Шкала удовлетворенности лечением	–0,239	0,191	0,183	0,173
	Удовлетворенность результатами операции	–	0,208	0,194	0,188
	Соответствие ожиданиям пациентов результата операции	–	0,194	0,179	0,180

Примечание: метод выделения факторов: метод главных компонент; Метод вращения: варимакс с нормализацией Кайзера

Таблица 12 – Результаты оценки интегрированного показателя качества жизни

Параметр	Точки наблюдения			
	1	2	3	4
Среднее значение	35,065	47,742 ¹	44,511 ^{1,2}	43,945 ^{1,2,3}
Среднеквадратичное отклонение	13,776	15,444	15,566	14,586

Примечание: ¹ – $p < 0.05$ в сравнении с т. 1; ² – $p < 0.05$ в сравнении с т. 2; ³ – $p < 0.05$ в сравнении с т. 3

Таблица 13 – Дисперсионный анализ качественных факторов на интегрированный показатель качества жизни пациентов со СИБС после АСКА

Фактор	Число степеней свободы	Точки наблюдения					
		2		3		4	
		F	P	F	P	F	P
Пол	1	2,096	0,150	0,268	0,606	0,004	0,952
Возраст	5	0,558	0,732	0,156	0,978	0,317	0,902
Индекс массы тела	4	0,728	0,574	0,034	0,998	0,504	0,733
Вид стента*	1	0,461	0,498	0,463	0,498	0,198	0,657
Наличие инфаркта миокарда в анамнезе	1	0,288	0,592	0,002	0,966	0,037	0,849
Артериальная гипертензия	1	1,232	0,269	0,195	0,660	0,134	0,715
Хроническая сердечная недостаточность	1	0,945	0,333	0,250	0,618	0,890	0,347
Заболевания, связанные с нарушением сердечного ритма	1	0,454	0,502	0,031	0,861	0,289	0,592
Заболевания, связанные с нарушением мозгового кровообращения	1	0,343	0,559	1,982	0,162	0,076	0,783
Легочная гипертензия	1	0,932	0,336	2,895	0,091	1,945	0,166
Сахарный диабет	1	0,002	0,967	0,044	0,834	0,177	0,674
Облитерирующий атеросклероз нижних конечностей	1	0,050	0,823	0,229	0,633	0,002	0,964
R-квадрат	-	0,092		0,068		0,063	

Примечание: * – принято разделение на непокрытые стент/стенты и стент/стенты с лекарственным антипролиферативным покрытием; F – критерий Фишера, p – уровень значимости

В результате преобразования, с учетом результатов факторного анализа, формула (1) приобрела следующий вид:

$$I = k_{\text{пнд}} * w_{\text{пнд}} * x_{\text{пнд}} + k_{\text{шсп}} * w_{\text{шсп}} * x_{\text{шсп}} + k_{\text{ваш}} * w_{\text{ваш}} * x_{\text{ваш}} \quad (2),$$

где: I – интегрированный индекс эффективности лечения пациента со СИБС после АСКА; $k_{\text{пнд}}$ – весовой коэффициент показателя «Привычная повседневная деятельность»; $w_{\text{пнд}}$ – коэффициент важности/значимости показателя «Привычная повседневная деятельность»; $x_{\text{пнд}}$ – значение показателя «Привычная повседневная деятельность» у пациента; $k_{\text{шсп}}$ – весовой коэффициент показателя «Шкала стабильности приступов»; $w_{\text{шсп}}$ – коэффициент важности/значимости показателя «Шкала стабильности приступов»; $x_{\text{шсп}}$ – значение показателя «Шкала стабильности приступов» у пациента; $k_{\text{ваш}}$ – весовой коэффициент показателя «Визуально-аналоговая шкала»; $w_{\text{ваш}}$ – коэффициент важности/значимости показателя «Визуально-аналоговая шкала»; $x_{\text{ваш}}$ – значение показателя «Визуально-аналоговая шкала» у пациента.

Таким образом, оценка качества жизни пациентов после АСКА, базирующаяся на динамике показателей комплексного опросника, в том числе данных неспецифического опросника EQ-5D-5L; шкалы специфического опросника SAQ; шкалы диспноэ; общей самооценки состояния здоровья пациента и оценка интегрированного показателя качества жизни на каждой отметке наблюдения, позволяет утверждать о достоверном улучшении самочувствия до и после оперативного вмешательства на всех отметках наблюдения, а именно: через 1, 6, 12 месяцев после выписки из стационара (табл. 12). Обращает на себя внимание то обстоятельство, что у 53% больных результаты лечения соответствуют личным ожиданиям.

С учетом клинических особенностей патологии и подходов к фармакотерапии пациентов, целесообразным представлялось проведение оценки влияния качественных факторов на величину интегрированного показателя качества жизни пациентов со СИБС после АСКА на амбулаторном этапе. В качестве независимых переменных анализировали пол, возраст, вид стента, а также наличие сопутствующих сердечно-сосудистых патологий. Результаты многофакторного одномерного дисперсионного анализа качественных факторов в исследуемой выборке позволяют утверждать об отсутствии статистически значимого влияния качественных факторов на интегрированный показатель (табл. 13).

Установлено, что значение критерия Ливиня (критерия однородности выборок) на исследуемых точках показывает равенство дисперсий, т.е. совокупность факторов не влияет на зависимую переменную. При этом значение R-квадрата низкое на всех точках, что в свою очередь подтверждает статистическую незначимость влияния независимых переменных. Поэтому для последующих исследований однородность исследуе-

мой группы была обоснована тем, что, в свою очередь, опосредовало ее оценку без деления на группы пациентов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Все пациенты со стабильной ишемической болезнью сердца, поступившие на плановое чрескожное коронарное вмешательство, а именно для проведения ангиопластики со стентированием коронарных артерий, имели стандартные показания (отягощенный анамнез, функциональный класс основного заболевания) для выполнения оперативного вмешательства по реваскуляризации миокарда. Частота встречаемости сердечно-сосудистых и основных цереброваскулярных патологий была типичной для больных со стабильной стенокардией [14–17].

Стоит подчеркнуть высокую значимость реабилитационного этапа после хирургического вмешательства на коронарных артериях, которая подчеркнута в работах национальных и зарубежных ученых [18–25]. Результаты проведенного исследования свидетельствуют об улучшении состояния здоровья пациентов после АСКА к годовой отметке наблюдения по сравнению с исходной точкой, в том числе увеличение подвижности; отсутствие проблем, связанных с уходом за собой, привычной повседневной деятельностью; уменьшение боли и дискомфорта; уменьшение тревоги и депрессии; уменьшение одышки, снижение частоты и стабильности приступов стенокардии. Выводы о повышении качества жизни пациентов после реваскуляризации миокарда согласуются с литературными данными [26–28].

Нельзя обойти вниманием выделение государственных квот на проведение оперативных вмешательств на сосудах, питающих сердце. Так, согласно данным Федерального фонда обязательного медицинского страхования в 2019 г., средний норматив финансовых затрат на единицу объема медицинской помощи на территории Российской Федерации в рамках программы «Коронарная реваскуляризация миокарда с применением ангиопластики в сочетании со стентированием при ишемической болезни сердца», составила 221645 руб. В зависимости от стадии заболевания, патофизиологических особенностей организма, предшествующего анамнеза пациента, современные технологии проведения реваскуляризации миокарда позволяют подобрать максимально эффективный и безопасный метод для пациента с учетом его индивидуальных характеристик. Оценка спектра государственных квот с высокой распространенностью оперативного вмешательства на сосудах, питающих сердце, свидетельствует о значительной нагрузке на федеральный бюджет. Это обосновывает целесообразность проведения рациональных реабилитационных мероприятий, направленных на улучшение прогноза пациентов, повышение качества жизни, а также увеличение продолжительности жизни больных со стабильной стенокардией в условиях ограниченного финансирования системы здравоохранения.

Во многих странах наблюдается совершенствование системы оказания медицинской помощи населению в сторону акцента на привлечение пациента в принятие решения о лечении, а также оценке применяемых методов профилактики, диагностики и терапии. По мнению создателей системы ценностной медицины (value-based medicine), расчет необходимо производить по результатам достижения положительного/позитивного исхода заболевания с точки зрения пациента [29, 30]. Изменение условий договоров на оплату медицинских услуг, в части расширения выбора медицинских организаций, позволит несколько снизить ежегодно прогрессирующие бюджетные средства на здравоохранение. Это обусловлено потерей выгоды для организаций за счет увеличения количества предоставляемых услуг и их подорожанию. Достижение благоприятного исхода заболевания, с наименьшими расходами на лечение, будет более рентабельно. По прогнозам экспертов, подобный подход позволит уменьшить затраты на здравоохранение на 10% и более за счет лимитирования/устранения использования ненужных лечебно-диагностических процедур, повышения эффективности лечения, замещения низкоэффективных и дорогостоящих медицинских технологий, а также широкого распространения первичной и вторичной профилактики [31]. Впервые в 2006 г. FDA опубликовало руководство по оценке результатов лечения пациентов (patient reported outcomes – PRO), где обозначено значение оценки результатов лечения пациентов как любой оценки состояния здоровья, данной самим больным без какой-либо интерпретации со стороны врача или третьих лиц. При этом, важно отметить, что субъективное мнение, высказанное пациентом, не подвергается сомнению и учитывается «как есть». Использование PRO помогает оценить все симптомы пациента, а именно: общее состояние его здоровья; повседневную активность; психологическое состояние; общее качество жизни и качество жизни, связанное со здоровьем, а также немаловажное значение имеет исследование показателей состояния здоровья в динамике; удовлетворенность процессом лечения и его результатом. PRO представляет собой инструмент, который позволяет

измерить эффект применения медицинского вмешательства с точки зрения пациента. Изучение оценки результатов лечения пациентом способствует достижению трех основных целей лечения больного: удовлетворенность пациента лечением, улучшение состояния его здоровья и снижение затрат на лечение, что позволяет улучшить качество жизни пациента за счет использования эффективных и доступных методов диагностики и лечения [32–34].

В настоящее время ИБС по-прежнему занимает лидирующие места в структуре летальности населения во всем мире, что подчеркивает необходимость совершенствования оказания медицинской помощи пациентам на каждом этапе лечения. Таким образом, обобщая все вышеизложенное, в связи с широкой вариабельностью заболевания и значительным влиянием сопутствующих патологий, для лечения пациентов в условиях рационального использования бюджетных средств уместно применять персонализированный подход в каждой клинической ситуации [35]. Вопросам применения инструментов оптимизации ресурсов здравоохранения в терапии ИБС будут посвящены следующие исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка исходов лечения пациентами после перенесенного планового чрескожного коронарного вмешательства демонстрирует улучшение состояния здоровья по анализируемым параметрам комплексного опросника, что подтверждается статистическими инструментами анализа. В условиях ценностно-ориентированной парадигмы развития здравоохранения предложен и научно обоснован расчет интегрированного показателя эффективности лечения пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца после ангиопластики со стентированием коронарных артерий, базирующийся на результатах двухэтапного факторного анализа, который в дальнейшем будет использован в рамках фармакоэкономического анализа «затраты-полезность» терапии пациентов в исследуемой группе. Кроме того, предложенный расчет показателя качества жизни может быть использован для оценки эффективности медицинских технологий в рамках лечения ряда других патологий.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при участии гранта Российского научного фонда (проект № 17-15-01177).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

И.А. Наркевич – выбор направления исследования, идея; О.Д. Немятых – формулирование цели и задач исследования, разработка алгоритма проведения исследования, консультация по вопросам проведения всех этапов исследования, написание статьи; К.А. Ковалева – анализ литературы, написание статьи, проведение всех этапов исследования, обработка полученных результатов; Л.Г. Ратова – сбор первичных данных, консультация по вопросам проведения отдельных этапов исследования, написание статьи; И.О. Трушников – консультация по вопросам математико-статистической обработки данных; Е.Н. Парижская – сбор первичных данных; А.О. Конради – консультация по вопросам проведения отдельных этапов исследования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. WHO (World Health Organization). 2020. The top 10 causes of death. Geneva: WHO. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
2. Концевая А.В., Драпкина О.М., Баланова Ю.А., Имаева А.Э., Суворова Е.И., Худяков М.Б. Экономический ущерб от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации в 2016 году // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2018. – Т. 14. – №2. – С. 156–166. DOI: 10.20996/1819-6446-2018-14-2-156-166
3. Пальцев М.А., Белушкина Н.Н., Чабан Е.А. 4П-медицина как новая модель здравоохранения в Российской Федерации // ОРГЗДРАВ: Новости. Мнения. Обучение. Вестник ВШОУЗ. – 2015. – №2. – С. 48–54.
4. Османов, Э.М. Маньяков Р.Р., Османов Р.Э., Жабина У.В., Коняев Д.А., Агафонова Ю.В., Пешкова А.А. Медицина 4 «П» как основа новой системы здравоохранения // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. – 2017. – Т. 22. – № 6–2. – С. 1680–1685. DOI: 10.20310/1810-0198-2017-22-6-1680-1685.
5. Немайх О.Д., Ковалева К.А. Социально-экономические аспекты лекарственного обеспечения пациентов с сердечно-сосудистыми патологиями в постоперационном периоде // Сборник материалов IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации»: Санкт-Петербург, 9–10 ноября 2016 г. – С. 445–447.
6. Ковалева К.А., Немайх О.Д., Наркевич И.А., Ратова Л.Г., Парижская Е.Н., Конради А.О., Басакина И.И. Анализ ассортимента лекарственных препаратов для терапии пациентов со стабильной стенокардией в Российской Федерации // Медицинский вестник Башкортостана. – 2019. – Т. 14. – №5(83). – С. 43–47.
7. Ковалева К.А., Немайх О.Д., Наркевич И.А., Ратова Л.Г., Парижская Е.Н., Конради А.О., Басакина И.И. Анализ государственных закупок в сегменте льготного лекарственного обеспечения пациентов со стабильной стенокардией (на примере Санкт-Петербурга) // Вестник Росздравнадзора. – 2020. – №1. – С. 83–89. DOI: 10.35576/2070-7940-2020-1-83-88
8. Ратова Л.Г., Парижская Е.Н., Ковалева К.А., Недошивин А.О., Немайх О.Д., Пулит В.В., Конради А.О. Обсервационное исследование по оценке исходов планового чрескожного коронарного вмешательства у пациентов со стабильной стенокардией: исходная характеристика пациентов // Российский кардиологический журнал. – 2018. – №12. – С. 52–56. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-12-52-56
9. Ратова Л.Г., Парижская Е.Н., Ковалева К.А., Звартау Н.Э., Ионон М.В., Семенов А.П., Федоренко А.А., Недошивин А.О., Немайх О.Д., Конради А.О. Оценка исходов лечения пациентами со стабильной стенокардией после планового чрескожного коронарного вмешательства (пилотные результаты) // Российский кардиологический журнал. – 2017. – №12. – С. 8–13. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-12-8-13
10. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Белевский А.С., Лещенко И.В., Мещерякова Н.Н., Овчаренко С.И., Шмелев Е.И. Российское респираторное общество. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению хронической обструктивной болезни легких // Пульмонология. – 2014. – №3. – С. 15–54. DOI: 10.18093/0869-0189-2014-0-3-15-54
11. Амирджанова В.Н., Эрдес Ш.Ф. Валидация русской версии общего опросника EUROQOL-5D (EQ-5D) // Научно-практическая ревматология. – 2007. – № 3. DOI: 10.14412/1995-4484-2007-691
12. Сыркин А.Л., Печорина Е.А., Дриницина С.И. Валидация методик оценки качества жизни у больных стабильной стенокардией // Клиническая медицина. – 2001. – Т. 79. – №. 11.
13. Балацкий, Е.В. Факторы удовлетворенности жизнью: измерение и интегральные показатели // Мониторинг общественного мнения. – 2005. – №4. – С. 42–52.
14. Сумин А.Н. Корок Е.В., Щеглова А.В., Барбараш О.Л. Коморбидность у больных ишемической болезнью сердца: гендерные особенности // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2017. – Т. 13. – №5. – С. 622–629. DOI: 10.20996/1819-6446-2017-13-5-622-629
15. Мирзаханова Л.Р. Эффективность коронарного стентирования и консервативной терапии у больных пожилого и старческого возраста: результаты длительного проспективного исследования // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2011. – Т. 7. – №6. – С. 708–712.
16. Manzella D., Paolisso G. Cardiac autonomic activity and Type II diabetes mellitus // Clin Sci (Lond). – 2005. – Vol. 108. – No.2. – P. 93–99. DOI: 10.1042/CS20040223
17. DeLuca A.J., Saulle L.N., Aronow W.S., Ravipati G., Weiss M.B. Prevalence of silent myocardial ischemia in persons with diabetes mellitus or impaired glucose tolerance and association of hemoglobin A1c with prevalence of silent myocardial ischemia // Am J Cardiol. – 2005. – Vol. 95. – No.12. – P. 1472–1474. DOI: 10.1016/j.amjcard.2005.02.016
18. Lo K.Y., Chan C.K. Characteristics and outcomes of patients with percutaneous coronary intervention for unprotected left main coronary artery disease: a Hong Kong experience // Hong Kong Med J. – 2014. – Vol. 20. – No.3. – P. 187–193. DOI: 10.12809/hkmj134069.
19. Hilliard A.A., From A.M., Lennon R.J., Singh M., Lerman A., Gersh B.J., Holmes D.R. Jr., Rihal C.S., Prasad A. Percutaneous revascularization for stable coronary artery disease temporal trends and impact of drug-eluting stents // JACC Cardiovasc Interv. – 2010. – Vol. 3. – No.2. – P. 172–179. DOI: 10.1016/j.jcin.2009.11.013
20. Аверин Е.Е., Апухтин А.Ф., Деларю В.В. Реабилитация пациентов кардиохирургического профиля: критическая оценка социально-правовой базы // Юрист – Правовед. – 2010. – №4. – С. 42–44.
21. Клинические рекомендации. Стабильная ишемическая болезнь сердца. [Электронный ресурс]. 2020. 114 с. URL: <http://cr.rosminzdrav.ru/#!/schema/> (дата обращения: 28.08.2020)
22. Зобенко И.А., Мисюра О.Ф., Карпухин А.В., Лубинская Е.И., Демченко Е.А. Оценка реабилитационного потенциала пациента на II этапе кардиореабилитации после коронарного шунтирования // Трансляционная медицина. – 2019. – Т. 6. – №5. – С. 6–15. DOI: 10.18705/2311-4495-2019-6-5-
23. Карпова Э.С., Котельникова Е.В., Лямина Н.П. Ишемическое preconditioning и его кардиопротективный эффект в программах кардиореабилитации больных с ишемической болезнью сердца после чрескожных коронарных вмешательств // Российский кардиологический журнал. – 2012. – №4. – С. 104–108.
24. Neumann F.J., Sousa-Uva M., Ahlsson A., Alfonso F., Banning A.P., Benedetto U., Byrne R.A., Collet J.P., Falk V., Head S.J., Jüni P., Kastrati A., Koller A., Kristensen S.D., Niebauer J., Richter D.J., Seferovic P.M., Sibbing D., Stefanini G.G., Windecker S., Yadav R., Zembala M.O. ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization // Eur Heart J. – 2019. – Vol. 40. – No.2. – P. 87–165. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy394
25. Мартынова В.В., Андреев Д.А., Долецкий А.А., Абугов С.А., Саакян Ю.М. Безопасность и эффективность курса ранней физической реабилитации после плановых чрескожных коронарных вмешательств // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 5. – №6. – С. 11–16.
26. Кузнецов В.А., Самойлова Е.П., Бессонов И.С., Гуляе-

- ва Е.П., Зырянов И.П., Бердинских С.Г., Горбатенко Е.А., Колунин Г.В. Отдаленные результаты чрескожных коронарных вмешательств в сравнении с медикаментозной терапией при лечении пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца в реальной клинической практике // Российский кардиологический журнал. – 2016. – №2. – С. 7–11. DOI: 10.15829/1560-4071-2016-2-7-11
27. Baron S.J., Chinnakondepalli K., Magnuson E.A., Kandzari D.E., Puskas J.D., Ben-Yehuda O., van Es G.A., Taggart D.P., Morice M.C., Lembo N.J., Brown W.M. 3rd, Banning A., Simonton C.A., Kappetein A.P., Sabik J.F., Serruys P.W., Stone G.W., Cohen D.J.; EXCEL Investigators. Quality-of-Life After Everolimus-Eluting Stents or Bypass Surgery for Left-Main Disease: Results from the EXCEL Trial // J Am Coll Cardiol. – 2017. – Vol. 70. – No.25. – P. 3113–3122. DOI: 10.1016/j.jacc.2017.10.036
 28. Jensen L.O., Thayssen P., Maeng M., Christiansen E.H., Ravkilde J., Hansen K.N., Kalsoft A., Tilsted H.H., Madsen M., Lassen J.F.; Scandinavian Organization for Randomized Trials With Clinical Outcome SORT OUT IV Investigators. Three-year outcomes after revascularization with everolimus- and sirolimus-eluting stents from the SORT OUT IV trial // JACC Cardiovasc Interv. – 2014. – Vol. 7. – No.8. – P. 840–848. DOI: 10.1016/j.jcin.2014.02.014
 29. Contracting for Outcomes A Value-Based Approach [Электронный ресурс]. – 2014. URL: http://outcomesbasedhealthcare.com/Contracting_for_Outcomes.pdf (дата обращения: 10.08.2020)
 30. Outcomes based approaches to healthcare [Электронный ресурс]. Outcomes based approaches to healthcare Ltd. – 2014. URL: http://outcomesbasedhealthcare.com/OBH_Outcomes_Myths_2014.pdf (дата обращения: 10.08.2020)
 31. Latkovic T. The Trillion Dollar Prize. Using outcomes-based payment to address the US healthcare financing crisis [Электронный ресурс]. McKinsey and Company. – 2013. 40 p. URL: <http://healthcare.mckinsey.com/sites/default/files/the-trillion-dollar-prize.pdf> (дата обращения: 10.08.2020)
 32. Bae J.M. Value-based medicine: concepts and application // Epidemiol Health. – 2015. – No.37. – e2015014. DOI: 10.4178/epih/e2015014
 33. Kelly M.P., Heath I., Howick J., Greenhalgh T. The importance of values in evidence-based medicine // BMC Med Ethics. – 2015. – Vol. 16. – No.1. – 69 p. DOI: 10.1186/s12910-015-0063-3
 34. Шляхто Е.В., Яковенко И.В. Медицина, ориентированная на исход заболевания // Трансляционная медицина. – 2017. – №4 (1). – С. 6–10.
 35. Шляхто Е.В., Конради А. О. Медицина, основанная на ценности, – новая парадигма в здравоохранении // Ремедиум Приволжье. – 2018. – №3(163). – С. 4–8.

АВТОРЫ

Наркевич Игорь Анатольевич – доктор фармацевтических наук, профессор, ректор, заведующий кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5483-6626. E-mail: igor.narkevich@pharminnotech.com

Немятых Оксана Дмитриевна – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5933-2120. E-mail: oksana.nemyatyh@pharminnotech.com

Ковалева Ксения Александровна – ассистент кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6647-2479. E-mail: xenia.zagvozdina@pharminnotech.com

Ратова Людмила Геннадьевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-3109-034X. E-mail: Lratova@mail.ru

Трушников Ирина Олеговна – кандидат экономических наук, доцент кафедры маркетинга ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный экономический университет». ORCID ID: 0000-0003-2640-7952. E-mail: itrushnikova@mail.ru

Парижская Елена Николаевна – старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3863-8547. E-mail: parizhskaia_en@almazovcentre.ru

Конради Александра Олеговна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель генерального директора по научной работе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России; руководитель НИО артериальной гипертензии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, директор Института трансляционной медицины ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики». ORCID ID: 0000-0001-8169-7812. E-mail: konradi_ao@almazovcentre.ru

УДК 577.15



ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОЛИЧЕСТВА ЗАПУСКОВ AUTODOCK 4 НА СРЕДНЕКВАДРАТИЧЕСКОЕ ОТКЛОНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ДОКИНГА

М.Р.Ф. Пратама^{1,2}, Сисвандоно¹

¹ Университет Айрланга

60115, Индонезия, Восточная Ява, г. Сурабая, Доктор Ир. Сукарно, ул. Кампус С, Мульореё

² Университет Мухаммадии Палангкая

73111, Индонезия, Центральный Калимантан, г. Паланка Рая, Пахандут РТА Милоно, ул. 1.5 Км

E-mail: prof.sis@ff.unair.ac.id

Получена 15.05.2019

Принята к печати 11.11.2020

Цель. Известно, что количество запусков докинга с AutoDock 4 играет важную роль в достоверности получаемых результатов. Чем больше количество запусков, тем больше достоверных результатов докинга. Однако точно не известно, как наиболее оптимально работает докинг с AutoDock 4. Это исследование направлено на определение влияния количества запусков процесса докинга в AutoDock 4 на достоверность результатов.

Материалы и методы. В качестве метода исследования использовали процесс редокинга с AutoDock 4.2.6. Используемый рецептор представляет собой рецептор эстрогена с эталонным лигандом эстрадиола (PDB ID 1GWR). Варьировали количество прогонов от 10 до 100, кратные 10. Наблюдаемыми параметрами были RMSD, свободная энергия связывания, константы ингибирования, аминокислотные остатки и количество водородных связей.

Результаты. Все эксперименты вырабатывают идентичную свободную энергию связи, где максимальная разница в константе ингибирования составляет всего 0,06 нМ. Наименьшее среднеквадратичное отклонение (RMSD) определяется количеством прогонов, равным 60, при значении среднеквадратичного отклонения, равного 0,942. Установлено, что между количеством прогонов и пространственным выравниванием (RMSD) нет линейной зависимости, так как коэффициент корреляции (R) равен 0,4607.

Заключение. В целом, количество запусков не оказывает значительного вклада в достоверность результатов процесса докинга с AutoDock 4. Однако эти результаты справедливы только с рецепторами, использованными в данном исследовании.

Ключевые слова: AutoDock 4; докинг; количество запусков; RMSD; вариация

NUMBER OF RUNS VARIATIONS ON AUTODOCK 4 DO NOT HAVE A SIGNIFICANT EFFECT ON RMSD FROM DOCKING RESULTS

М.Р.Ф. Пратама^{1,2}, Siswandono¹

¹ Airlangga University

Dr. Ir. Soekarno St. Campus C, Mulyorejo, Surabaya, East Java, Indonesia 60115

² Muhammadiyah Palangkaraya University

RTA Milono St. Km. 1.5, Pahandut, Palangka Raya, Central Kalimantan, Indonesia 73111

E-mail: prof.sis@ff.unair.ac.id

Received 15 May 2019

Accepted 11 Nov 2020

The aim. The number of runs in the docking process with AutoDock 4 is known to play an important role in the validity of the results obtained. The greater the number of runs it is often associated with the more valid docking results. However, it is not

Для цитирования: М.Р.Ф. Пратама, Сисвандоно. Изучение влияния количества запусков AutoDock 4 на среднеквадратическое отклонение результатов докинга. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):476-480. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-476-480

© М.Р.Ф. Пратама, Сисвандоно, 2020

For citation: M.R.F. Pratama, Siswandono. Number of runs variations on AutoDock 4 do not have a significant effect on RMSD from docking results. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):476-480. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-476-480

known exactly how the most ideal runs in the docking process with AutoDock 4. This study aims to determine the effect of the number of runs docking processes with AutoDock 4 on the validity of the docking results.

Materials and methods. The method used is the redocking process with AutoDock 4.2.6. The receptor used is an estrogen receptor with ligand reference estradiol (PDB ID 1GWR). Variations were made on the number of runs from 10 to 100 in multiples of 10. The parameters observed were RMSD, free energy of binding, inhibition constants, amino acid residues, and the number of hydrogen bonds.

Results. All experiments produce identical bond free energy, where the maximum difference in inhibition constant is only 0.06 nM. The lowest RMSD is indicated by the number of runs of 60, with a RMSD value of 0.942. There is no linear relationship between the number of runs and RMSD, with R in the linear equation of 0.4607.

Conclusion. Overall, the number of runs does not show a significant contribution to the validity of the results of docking with AutoDock 4. However, these results have only been proven with the receptors used.

Keywords: AutoDock 4; docking; number of runs; RMSD, variation

ВВЕДЕНИЕ

Молекулярный докинг (или просто докинг) – один из наиболее распространенных экспериментальных методов *in silico*. Простота в процессе подготовки, внедрения и анализа результатов – одно из достоинств метода [1]. Однако докинг – это простой, но сложный метод. Как один из самых популярных методов *in silico*, докинг имеет ряд преимуществ и недостатков. Помимо скорости и практичности, докинг также предлагает достаточно полное наблюдение анализа комплексов между лекарственными средствами и рецепторами, что даже очень сложно сделать *in vitro* или *in vivo*. Однако полученные результаты обычно имеют большую степень вариации, причем воспроизводимость является одним из важных вопросов, влияющих на уровень достоверности результатов докинга [2]. По этой причине абсолютно необходима проверка результатов докинга.

На результаты валидации докинга влияют различные факторы, связанные как с условиями, так и с настройками программно-аппаратного обеспечения и используемого протокола. Различные настройки и вариации различных факторов могут вызывать различия в значении среднеквадратичного отклонения (RMSD), которое показывает степень различия в положении каждого атома до и после выполнения процесса докинга [3]. Само значение RMSD является основным индикатором процесса проверки докинга, где меньшее значение RMSD показывает положение атома, который приближается к исходному положению до выполнения процесса докинга. В идеале, чтобы быть достоверным, значение RMSD докинга с кристаллографическим лигандом не должно превышать 2 Å [4]. Это положение также относится к AutoDock 4, одному из самых популярных программ для осуществления докинга.

В AutoDock 4 есть несколько параметров, которые могут влиять на значение RMSD результатов докинга, таких как: положение и размер ячейки сетки; регулирование жестких/гибких аминокислотных остатков; присутствие молекул воды; количество запусков процессов докинга [5]. Из-за этих факторов количество прогонов представляет интерес для дальнейшего исследования, поскольку в отличие от

других факторов, количество прогонов не зависит от типа лиганда или используемого рецептора [6]. В общем, количество прогонов показывает количество повторов генетического алгоритма Ламарка, выполненных для получения вариаций установленной позиции лиганда на сетке [7]. Логично, что большее количество прогонов даст лиганду возможность достичь наиболее идеальной позиции и приблизиться к кристаллографической, хотя это, безусловно, увеличит требуемое время [8]. Однако в настоящее время нет четкого ограничения на количество прогонов, которое идеально подходит для получения наименьшего RMSD с наименьшим временем докинга.

Это исследование направлено на определение влияния количества запусков процесса докинга с AutoDock 4 на достоверность результатов докинга, определяемого значением RMSD. Мы попытаемся доказать, дает ли большее количество прогонов меньшее среднеквадратичное отклонение или наоборот. Кроме того, мы также определили линейность отношения между количеством запусков и значением RMSD, исходя из коэффициента корреляции (R).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Используемое оборудование: ультрабук ASUS серии A46CB с процессором Intel™ Core i5-3337U @ 1,8 ГГц и 64-битной операционной системой Windows 7 Ultimate SP-1. Используемое программное обеспечение – AutoDockTools 1.5.6 и Autodock 4.2.6 от Scripps Research Institute, Inc (USA). Информация о трехмерных структурах рецепторных белков взята с сайта Protein Data Banks (<http://www.rcsb.org>).

Используемый рецептор представляет собой рецептор эстрогена с эталонным лигандом эстрадиола (PDB ID 1GWR). Рецепторы скачиваются в формате .pdb, затем неиспользуемая часть, включая молекулы воды, удаляется, а вместо них добавляется неполярный водород с заданным зарядом и с помощью AutoDockTools 1.5.6 упорядочивается размер и блок координатной сетки [9]. Эталонный лиганд, эстрадиол, извлекается и затем повторно используется для процесса повторной фиксации после добавления неполярного водорода, заданного заряда и заданного

крутящего момента. Размер и координаты ячейки сетки автоматически регулируются в соответствии с положением сокристалла лиганда каждого рецептора, устанавливая лиганд в центре ячейки сетки [10]. Координата сетки, используемая для размеров x , y и z , равна -7.351 , -4.233 и 12.804 соответственно. При этом размер ячейки сетки составляет $40 \times 40 \times 40$ Å.

Используемый параметр поиска докинга: генетический алгоритм Ламарка с количеством генетических алгоритмов от 10 до 100, количество запусков которых кратно 10, размер популяции 150, максимальное количество оценок энергии – среднее от 2500000, максимальное количество поколений – 27000, по умолчанию параметр стыковки, используемый для параметров запуска.

Основным наблюдаемым параметром является значение RMSD для определения достоверности результатов докинга, где линейность зависимости между количеством прогонов в качестве контрольной переменной и RMSD в качестве зависимой переменной определяется в форме коэффициента корреляции (R). Кроме того, наблюдаются другие параметры, такие как свободная энергия связывания (ΔG), константа ингибирования (K_i), аминокислотные остатки и количество водородных связей [9]. Выбор позиции для каждого прогона осуществляется путем просмотра оценки повторного ранжирования значений ΔG и K_i , где конформация с наиболее отрицательным ΔG и наименьшим значением K_i является репрезентативной для соответствия количеству прогонов. Наблюдение за этими параметрами проводится для выявления различий в результатах докинга, возникающих из-за различий в количестве запусков.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты докинга показывают, что разница в количестве прогонов не дает существенной разницы для всех наблюдаемых параметров, даже таких, как ΔG и количество водородных связей показывают идентичные результаты для всего количества прогонов. Значение RMSD для каждого количества прогонов находится в диапазоне от 0,942 до 0,97, причем наименьшее RMSD получается при количестве прогонов равном 60. Этот результат интересен, потому что оказывается, что наименьшее значение RMSD не указывает на наибольшее количество прогонов. Эти результаты становятся обновлениями информации, так как исследователи обычно используют стандартное количество прогонов, по крайней мере, равное 100 в процессе докинга, который требует более длительного времени обработки [9, 11], где меньшее количество прогонов может фактически обеспечить лучшее значение RMSD. Этот результат обеспечивает новое измерение для процесса докинга с AutoDock 4, где, помимо проведения ориентации для определения идеальных координат и размера ячейки сетки [12], необходимо также заранее определить количество

прогонов, обеспечивающих наименьшее среднеквадратичное отклонение.

С другой стороны, другие параметры, такие как K_i и количество аминокислотных остатков, также не показали значительной разницы. Показанное значение K_i показывает варьирование в диапазоне от 15,57 до 15,63 нМ с разницей всего в 0,06 нМ и наименьшим значением, полученным при количестве запусков равном 90, что указывает на отсутствие разницы в значении K_i при разнице в количестве использованных запусков. Количество аминокислотных остатков показывает почти те же результаты для каждого количества запусков для таких аминокислот, как: 353-Глу, 384-Лей, 388-Мет, 391-Лей, 404-Фен, 424-Иле, 521-Глу, 524-Гис и 525-Лей. Разница в аминокислотных остатках показана на количестве запусков равных 20, 30, 40 и 90 с вариациями взаимодействий, происходящих в аминокислотах 384-Лей и 391-Лей. Эти результаты показывают, что вариации в количестве прогонов могут привести к небольшим вариациям значения K_i и полученных аминокислотных остатках. Опять же, эти результаты подчеркивают важность проведения ориентации для определения наиболее идеального количества прогонов перед выполнением процесса докинга [11]. Полные результаты процесса докинга включают значения RMSD, ΔG , K_i , аминокислотных остатков, а количество водородных связей для каждого количества запусков представлены в таблице 1.

Для определения линейной зависимости между количеством прогонов и полученным RMSD, было проведено сравнение с диаграммой для получения R . Результаты наблюдения показывают, что уравнение линейности между количеством прогонов и RMSD имеет вид $y = 0,0011x + 0,9464$ со значением $R = 0,4607$, как показано на рисунке 1. Эти результаты подтверждают, что соотношение между количеством прогонов и RMSD действительно не линейное, что говорит о том, что увеличение количества запусков не обязательно увеличивает достоверность полученных результатов докинга. Другими словами, увеличение количества запусков не гарантирует лучшей достоверности результатов докинга. Этот результат также подтверждает утверждения, согласно которым наиболее идеальное число запусков находится в диапазоне от 50 до 60, так как RMSD в этом диапазоне является наименьшим [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Это простое исследование успешно доказало, что даже несмотря на то, что количество запусков влияет на значение RMSD результатов докинга, оно не имеет линейной зависимости. Наиболее идеальное количество запусков находится в диапазоне от 50 до 60, при этом большее количество запусков не показывает меньшее значение RMSD. Однако это исследование имеет ограничения, в том числе тип рецептора и используемое программное обеспечение для докинга.

Таблица 1 – Результаты повторного докинга рецепторов 1GWR с вариацией в количестве запусков

Параметры	Число запусков									
	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10
RMSD (Å)	0.950	0.948	0.951	0.953	0.942	0.948	0.956	0.970	0.958	0.951
ΔG (ккал / моль)	-10.65	-10.65	-10.65	-10.65	-10.65	-10.65	-10.65	-10.65	-10.65	-10.65
Аминокислотные остатки	353-Глу	353-Глу	353-Глу	353-Глу	353-Глу	353-Глу	353-Глу	353-Глу	353-Глу	353-Глу
	384-Лей	–	384-Лей	384-Лей	384-Лей	384-Лей	–	–	384-Лей	384-Лей
	388-Мет	388-Мет	388-Мет	388-Мет	388-Мет	388-Мет	388-Мет	388-Мет	388-Мет	388-Мет
	391-Лей	391-Лей	391-Лей	391-Лей	391-Лей	391-Лей	391-Лей	391-Лей	–	391-Лей
	404-Фен	404-Фен	404-Фен	404-Фен	404-Фен	404-Фен	404-Фен	404-Фен	404-Фен	404-Фен
	424-Иле	424-Иле	424-Иле	424-Иле	424-Иле	424-Иле	424-Иле	424-Иле	424-Иле	424-Иле
	521-Глу	521-Глу	521-Глу	521-Глу	521-Глу	521-Глу	521-Глу	521-Глу	521-Глу	521-Глу
	524-Гис	524-Гис	524-Гис	524-Гис	524-Гис	524-Гис	524-Гис	524-Гис	524-Гис	524-Гис
	525-Лей	525-Лей	525-Лей	525-Лей	525-Лей	525-Лей	525-Лей	525-Лей	525-Лей	525-Лей
Количество водородных связей	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

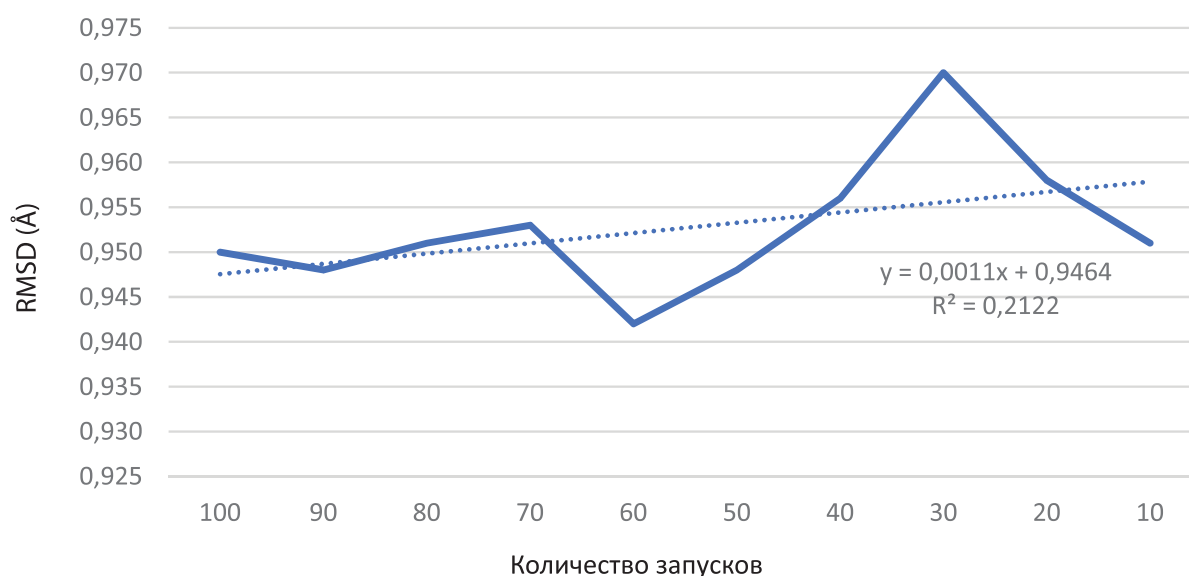


Рисунок 1 – Связь между количеством запусков и значением RMSD на рецепторе 1GWR

Дальнейшие исследования с использованием других типов рецепторов в больших количествах и другого программного обеспечения для проведения докинга, такого как AutoDock Vina, могут быть

проведены для того, чтобы удостовериться в данных результатах. Тем не менее, это открытие может быть основным ориентиром для исследований методом докинга с использованием программы AutoDock 4.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

М.Р.Ф. Пратама – концептуализация, курирование данных, формальный анализ, исследование, проверка, визуализация, написание оригинального проекта; Сисвандоно – концептуализация, курирование данных, формальный анализ, исследование, методология, администрирование проекта, ресурсы, программное обеспечение, надзор, написание обзора и редактирование.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ferreira L.G., Dos Santos R.N., Oliva G., Andricopulo A.D. Molecular docking and structure-based drug design strategies // *Molecules*. – 2015. – Vol.20. – No.7. – P. 13384–13421. DOI: 10.3390/molecules200713384.
2. Sliwoski G., Kothiwale S., Meiler J., Lowe E.W. Computational Methods in Drug Discovery // *Pharmacological Reviews*. – 2014. – Vol. 66. – No.1. – P. 334–395. DOI: 10.1124/pr.112.007336.
3. Pagadala N.S., Syed K., Tuszynski J. Software for molecular docking: a review // *Biophysical Reviews*. – 2017. – Vol. 9. – No.2. – P. 91–102. DOI:10.1007/s12551-016-0247-1.
4. Kontoyianni M., McClellan L.M., Sokol G.S. Evaluation of docking performance: comparative data on docking algorithms // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2004. – Vol. 47. – No.3. – P. 558–65. DOI: 10.1021/jm0302997
5. Kufareva I., Abagyan R. Methods of protein structure comparison // *Methods in Molecular Biology*. – 2012. – No.857. – P. 231–257. DOI: 10.1007/978-1-61779-588-6_10.
6. Guedes I.A., de Magalhaes C.S., Dardenne L.E. Receptor – ligand molecular docking // *Biophysical Reviews*. – 2014. – Vol. 6. – No.1. – P. 75–87. DOI: 10.1007/s12551-013-0130-2.
7. Lape M., Elam C., Paula S. Comparison of current docking tools for the simulation of inhibitor binding by the transmembrane domain of the sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase // *Biophysical Chemistry*. – 2010. – Vol. 150. – No.1–3. – P. 88–97. DOI: 10.1016/j.bpc.2010.01.011.
8. Ramirez D., Caballero J. Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data? // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23. – No.5. – P. 1038. DOI: 10.3390/molecules23051038.
9. Forli S., Huey R., Pique M.E., Sanner M., Goodsell D.S., Olson A.J. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite // *Nature Protocols*. – 2016. – Vol. 11. – No.5. – P. 905–919. DOI:10.3390/molecules23051038.
10. Arba M., Yamin, Ihsan S., Tjahjono D.H. Computational approach toward targeting the interaction of porphyrin derivatives with Bcl-2 // *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. – 2018. – Vol. 8. – No.12. – P. 60–66. DOI: 10.7324/JAPS.2018.81208.
11. Atkovska K., Samsonov S.A., Pszkowski-Rogacz M., Pisabarro M.T. Multipose Binding in Molecular Docking // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2014. – Vol. 15. – No.2. – P. 2622–2645. DOI: 10.3390/ijms15022622.
12. Feinstein W.P., Brylinski M. Calculating an optimal box size for ligand docking and virtual screening against experimental and predicted binding pockets // *Journal of Cheminformatics*. – 2015. – No.7. – P. 18. DOI: 10.1186/s13321-015-0067-5.

АВТОРЫ

Мохаммад Ризки Фадхил Пратама – кандидат фармацевтических наук, докторант факультета фармацевтической химии Университета Айрланга, Индонезия; доцент кафедры медицинской химии фармацевтического факультета Палангкарайского университета Мухаммадии, Индонезия. ORCID

ID: 0000-0002-0727-4392. E-mail: m.rizkifadhil@umpalangkaraya.ac.id

Сисвандоно – профессор медицинской химии факультета фармацевтической химии Университета Айрланга, Индонезия. ORCID ID: 0000-0002-9579-8929. E-mail: prof.sis@ff.unair.ac.id

