



2024 Том / Volume XII

№ 1

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

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



Главный редактор

Петров В.И. академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Заместители главного редактора

Озеров А.А. доктор химических наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Корянова К.Н. кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Редакционная коллегия

Куркин В.А. доктор фармацевтических наук, профессор, г. Самара, Россия

Зилфикаров И.Н. профессор РАН, доктор фармацевтических наук, г. Москва, Россия

Саканян Е.И. доктор фармацевтических наук, профессор, г. Москва, Россия

Вавер И. PhD, профессор, г. Варшава, Польша

Ханферьян Р.А. доктор медицинских наук, профессор, г. Москва, Россия

Буске П. MD, профессор, г. Страсбург, Франция

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

Наркевич И.А. доктор фармацевтических наук, профессор, г. Санкт-Петербург, Россия

Егорова С.Н. доктор фармацевтических наук, профессор, г. Казань, Россия

Сомасундарам С. MD, Россия / Индия

Ответственный секретарь: Мищенко Е.С., кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Переводчик: Давыденко Л.Г., кандидат филологических наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Технический редактор: Доценко М.А., г. Пятигорск, Россия

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
(сокращенное наименование: ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России).

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

Адрес издательства и редакции: 357532, Россия, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, д. 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. Дата подписания в печать 08.05.2024; выход в свет 28.05.2024

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 «Бюро новостей»,
355000, Россия, г. Ставрополь, ул. Серова, д. 278А

Scientific and Practical Journal

PHARMACY & PHARMACOLOGY

(ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ)

Frequency of 6 issues per year

Volume XII, Issue 1, 2024

The mass media registration certificate

ПИ № ФС77–67428 от 13.10.2016

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Editor-in-Chief

Vladimir I. Petrov Academician RAS, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Aleksandr A. Ozerov Doctor of Sciences (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Ksenia N. Koryanova Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Editorial Board

Vladimir A. Kurkin Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Ifrat N. Zilfikarov Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor of RAS, Moscow, Russia

Elena I. Sakanyan Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Moscow, Russia

Iwona Wawer PhD, Professor, Warsaw (Poland)

Roman A. Khanfer`yan Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet MD, PhD, Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino MD, PhD, Professor, Genoa, Italy

Igor A. Narkevich Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, Russia

Svetlana N. Egorova Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Kasan, Russia

Somasundaram Subramanian MD, Russia/India

Executive Editor: Ekaterina S. Mischenko, Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Translator: Lubov G. Davydenko, Candidate of Sciences (Philology), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Technical editor: Marina A. Dotsenko, Pyatigorsk, Russia

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

Publisher and 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 "Buro novostey" in accord with provided materials. 278A, Serova Str., Stavropol, 355000

© Volgograd State Medical University, 2024

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2024

© Authors, 2024



СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ / RESEARCH ARTICLE

<i>В.И. Петров, Н.А. Осадченко, А.С. Тарасов, А.М. Доценко, Е.И. Морковин</i> Оценка эффективности серосодержащих аминокислот у крыс с экспериментальным «алкогольным похмельем» с помощью методики зоосоциального взаимодействия.....4	<i>V.I. Petrov, N.A. Osadchenko, A.S. Tarasov, A.M. Dotsenko, E.I. Morkovin</i> Effectiveness assessment of sulfur-containing amino acids in rats with experimental “alcohol withdrawal syndrome” with modified zoosocial interaction methods4
<i>О.И. Ивахненко, В.В. Ряженев, Е.А. Максимкина, В.С. Фисенко, О.В. Савоськин, М.М. Кузнецова</i> Анализ фактических результатов реализации лекарственного обеспечения в рамках программы высокозатратных нозологий.....15	<i>O.I. Ivakhnenko, V.V. Ryazhenov, E.A. Maksimkina, V.S. Fisenko, O.V. Savoskin, M.M. Kuznetsova</i> Analysis of actual results of drug supply implementation within framework of High-Cost Nosologies Program15
<i>Ш.П. Абдуллаев, М.Н. Шатахин, О.Л. Сигаило, Ш.П. Абдуллаев, П.О. Бочков, С.Н. Тучкова, О.В. Теодорович, О.Б. Лоран, Д.А. Сычев</i> Ассоциация носительства полиморфизмов CYP3A4*1B, CYP3A4*22 и CYP3A5*3 с эффективностью и безопасностью тамсулозина у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы.....32	<i>Sh.P. Abdullaev, M.N. Shatokhin, O.L. Sigailo, Sh.P. Abdullaev, P.O. Bochkov, S.N. Tuchkova, O.V. Teodorovich, O.B. Loran, D.A. Sychev</i> Association of CYP3A4*1B, CYP3A4*22 and CYP3A5*3 polymorphisms carriage with efficacy and safety of tamsulosin in patients with benign prostatic hyperplasia32
<i>Н.С. Попов, Д.А. Гавриленко, М.С. Баранов, В.Ю. Балабаньян</i> Разработка методики количественного определения оксида азота (NO) в тканях крыс с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии.....49	<i>N.S. Popov, D.A. Gavrilenko, M.S. Baranov, V.Yu. Balabanyan</i> Development of a method for quantitative determination of nitric oxide (NO) in rat tissues based on high-performance liquid chromatography and mass spectrometry.....49
<i>П.Р. Лебедев, Е.В. Кузубова, В.М. Покровский, А.И. Радченко, С.И. Осипьян, Ю.В. Степенко, А.А. Апостол, Л.М. Даниленко, А.А. Должиков, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, Я.С. Кочергина, О.В. Дудникова</i> Влияние исследователя на оценку мышечной силы у животных в эксперименте: сравнение автоматизированного теста «перевернутая сетка» и его классического варианта.....63	<i>P.R. Lebedev, E.V. Kuzubova, V.M. Pokrovsky, A.I. Radchenko, S.I. Osipyany, Y.V. Stepenko, A.A. Apostol, L.M. Danilenko, A.A. Dolzhikov, T.G. Pokrovskaya, O.S. Gudyrev, Ya.S. Kochergina, O.V. Dudnikova</i> Investigator’s influence on the muscle strength assessment in animals in experiment: Comparison of automated “inverted grid” test and its classical variant63
ОБЗОР / REVIEW	
<i>О.И. Бутранова, С.К. Зырянов</i> Применение габапентина для терапии нейропатической боли: взгляд с позиций доказательной медицины.....74	<i>O.I. Butranova, S.K. Zyryanov</i> Use of gabapentin for neuropathic pain therapy: A view from perspective of evidence-based medicine74

УДК 615.235+57.084.1



Оценка эффективности серосодержащих аминокислот у крыс с экспериментальным «алкогольным похмельем» с помощью методики зоосоциального взаимодействия

В.И. Петров¹, Н.А. Осадченко¹, А.С. Тарасов^{1,2}, А.М. Доценко^{1,2}, Е.И. Морковин²

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 Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
400087, Россия, г. Волгоград, ул. Новороссийская, д. 39

E-mail: n.a.osachenko@gmail.com

Получена 03.01.2024

После рецензирования 28.02.2024

Принята к печати 06.03.2024

Цель. Сравнить влияние адеметионина, ацетилцистеина и таурина на зоосоциальное поведение крыс, находящихся в постинтоксикационном состоянии после острого отравления этанолом.

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах-самцах линии Wistar. Постинтоксикационное состояние моделировали однократным введением этанола (3 г/кг, внутривенно). Через 30 мин после пробуждения животным вводили: физиологический раствор, ацетилцистеин (1 г/кг), адеметионин (100 мг/кг) или таурин (40 мг/кг). Через 30 мин после введения проводили тест зоосоциального взаимодействия.

Результаты. Среди исследуемых показателей поведения были приняты во внимание: количество актов замиранья, длительность следования, количество актов обнюхивания спереди, количество актов избегания и количество вертикальных стоек без опоры ($p < 0,05$ между показателями групп отрицательного и положительного контроля во всех случаях). Введение ацетилцистеина, адеметионина и таурина снижало количество актов замиранья на 53,64, 7,27 и 24,51% соответственно ($p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля во всех случаях). Введение ацетилцистеина и таурина снижало количество актов избегания на 50 и 10% соответственно ($p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля в обоих случаях). Все аминокислоты нормализовали показатели коммуникативности, несмотря на то, что они не отличались от показателей у животных из группы положительного контроля ($p > 0,05$). Алкоголизация снижала количество вертикальных стоек на 65% ($p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля), а при последующем введении адеметионина и таурина снижение составило 38 и 36% соответственно ($p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля).

Заключение. Согласно полученным данным, серосодержащие аминокислоты, в первую очередь те, что обладали центральными эффектами, нормализовали функции нейронов, положительно влияя на сложное поведение крыс. Учитывая результаты предыдущих исследований, удалось заключить, что терапевтическое действие адеметионина и таурина в контексте постинтоксикационного состояния опосредовано их центральными эффектами, не столь выраженными в сравнении с ацетилцистеином.

Ключевые слова: этанол; ацетилцистеин; таурин; адеметионин; доклинические исследования

Список сокращений: АН – алкогольные напитки; ПС – похмельный синдром; ПОЛ – перекисное окисление липидов; mNSS – модифицированная шкала неврологического дефицита (modified Neurological Severity Scores).

Для цитирования: В.И. Петров, Н.А. Осадченко, А.С. Тарасов, А.М. Доценко, Е.И. Морковин. Оценка эффективности серосодержащих аминокислот у крыс с экспериментальным «алкогольным похмельем» с помощью методики зоосоциального взаимодействия. *Фармация и фармакология*. 2024;12(1):4-14. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-4-14

© В.И. Петров, Н.А. Осадченко, А.С. Тарасов, А.М. Доценко, Е.И. Морковин, 2024

For citation: V.I. Petrov, N.A. Osadchenko, A.S. Tarasov, A.M. Dotsenko, E.I. Morkovin. Effectiveness assessment of sulfur-containing amino acids in rats with experimental “alcohol withdrawal syndrome” with modified zoosocial interaction methods. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(1):4-14. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-4-14

Effectiveness assessment of sulfur-containing amino acids in rats with experimental “alcohol withdrawal syndrome” with modified zoosocial interaction methods

V.I. Petrov¹, N.A. Osadchenko¹, A.S. Tarasov^{1,2}, A.M. Dotsenko¹, E.I. Morkovin²

¹ Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131
² Scientific Center of Innovative Medicines,
39, Novorossiyskaya Str., Volgograd, Russia, 400087

E-mail: n.a.osachenko@gmail.com

Received 03 Jan 2024

After peer review 28 Feb 2024

Accepted 03 March 2024

The aim of the work was to compare the effects of ademethionine, acetylcysteine and taurine on the zoosocial behavior of rats in a post-intoxicated state after an acute ethanol poisoning.

Materials and methods. The study was conducted on male rats of the Wistar line. The post-intoxication state was modeled by a single injection of ethanol (3 g/kg, intraperitoneally). 30 min after awakening, the animals were injected with a physiological solution, acetylcysteine (1 g/kg), ademethionine (100 mg/kg) or taurine (40 mg/kg). A zoosocial interaction test was performed 30 min after the administration.

Results. Among the behavioral indicators investigated, the following were validated: the number of acts of freezing, their duration, the number of acts of sniffing in front, the number of acts of avoidance and the number of vertical stances without support ($p < 0.05$ between the values of the negative and positive control groups in all cases). The administration of acetylcysteine, ademethionine and taurine reduced the number of freezing acts by 53.64, 7.27 and 24.51%, respectively ($p < 0.05$ when compared with the indicator index in the animals from the positive control group in all cases). The administration of acetylcysteine and taurine reduced the number of avoidance acts by 50 and 10%, respectively ($p < 0.05$ when compared to that of the animals from the positive control group in both cases). All amino acids normalized the communicative performance, although it did not differ from that of the animals from the positive control group ($p > 0.05$). Alcoholization reduced the number of vertical stances by 65% ($p < 0.001$ when compared with that in the animals from the negative control group), and when followed by the administration of ademethionine and taurine, the reduction was 38 and 36%, respectively ($p < 0.05$ when compared to that in the animals from the negative control group).

Conclusion. According to the data obtained, sulfur-containing amino acids, primarily those that had central effects, normalized neuronal functions, positively influencing a complex behavior of rats. Taking into account the results of the previous studies, it was possible to conclude that the therapeutic effect of ademethionine and taurine in the context of a post-intoxication state is mediated by their central effects, which are not so pronounced in comparison with acetylcysteine.

Keywords: ethanol; acetylcysteine; taurine; ademethionine; preclinical studies

Abbreviations: AB – alcoholic beverage; AWS – alcohol withdrawal syndrome; LPO – lipid peroxidation; mNSS – modified Neurological Severity Scores.

ВВЕДЕНИЕ

Злоупотребление алкоголем в современном обществе распространено ввиду увеличения стрессогенной нагрузки, а также доступности алкогольных напитков (АН)^{1,2}. Употребление АН в чрезмерных количествах приводит к формированию похмельного синдрома (ПС). Данное состояние определяют как «совокупность психических и физиологических симптомов, которые человек испытывает после однократного эпизода употребления алкоголя в большом количестве, развивающихся на фоне отсутствия этанола в

крови» [1]. По данным отчета ВОЗ о глобальном статусе потребления АН на 2018 г., 18,2% населения мира потребляет АН в количестве, достаточном для развития ПС³. Gunn С. и соавт. (2018) в своем систематическом обзоре представили данные, подтверждающие негативное влияние ПС на результаты проведения тестов по определению краткосрочной и долгосрочной памяти, концентрации внимания и скорости психодвигательной реакции [2]. Позже это наблюдение подтвердили Palmer E.O.C. и соавт. (2020) в исследовании с участием студентов, проходивших тест по оценке работы памяти и других когнитивных функций на следующий день после приема АН в большом количестве [3].

ПС требует изучения и разработки терапии,

¹ Клинические рекомендации. Алкогольная болезнь печени у взрослых // Рубрикатор клинических рекомендаций. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/711_1

² Федеральная служба государственной статистики. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13218>

³ WHO (World Health Organization). Global status report on alcohol and health 2018. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639>

так как он является широко распространенным состоянием, снижающим многие аспекты качества жизни и создающим риск травм как у человека, испытывающего его, так и у окружающих его людей. На фоне этого состояния увеличивается риск травматизации при управлении автомобилем или на производствах [4, 5], снижается качество сна [6].

Состояние алкогольного ПС у человека характеризуется возможным наличием 47 симптомов [7], поэтому при моделировании этой патологии у животных для последующей оценки влияния лекарственных средств на данное состояние следует использовать значительное количество поведенческих тестов, в которых оцениваются различные аспекты двигательной, эмоциональной и когнитивной сфер психики [3]. Так как постинтоксикационное состояние у животных характеризуется нарушением локомоторной функции [8], для оценки его выраженности используют шкалы неврологического дефицита Combs and D'Alecy [9] и модифицированную шкалу неврологического дефицита (modified Neurological Severity Scores, mNSS) [10, 11]. Для оценки влияния ПС и влияния на когнитивные функции (мнестическая, исследовательская активность) подходят тесты «Водный лабиринт Морриса» [12] и «Открытое поле» [10, 13]. Тест «Открытое поле» также направлен на изучение тревожной активности [13], то есть для оценки эмоциональной сферы психики, влияние на которую оказывает ПС.

В России для терапии ПС применяют препараты и биологически активные добавки на основе ацетилсалициловой и/или янтарной кислот, сорбенты, которые необходимо применять во время употребления алкоголя с целью предупреждения возникновения ПС и препараты симптоматического лечения, не относящиеся к названным выше – препараты аргинина глутамата, растительные препараты⁴. Таким образом, терапия похмелья на сегодняшний день ограничена симптоматическим и профилактическим подходами.

ПС является частным случаем интоксикации, сопровождающимся снижением запасов глутатиона и токсическим повреждением печени, приводящим к неврологическим нарушениям. Гипотеза исследования заключается в том, что серосодержащие аминокислоты, являющиеся участниками метаболизма глутатиона, можно применять для лечения ПС. Перепрофилирование известных и изученных лекарственных средств для новых показаний – перспективный способ поиска решений для лечения распространенных патологий.

Для ацетилцистеина, помимо муколитического действия, были доказаны антиоксидантные свойства [14] и NO-эргическая активность [15], однако результаты клинического исследования эффективности ацетилцистеина при ПС были

неоднозначными [16]. Таурин оказывал положительное влияние на течение экспериментального неврологического дефицита, вызванного отравлением [17], ишемией [18], черепно-мозговой травмой [19] и кровоизлияниями [20]. Роль этой сульфокислоты в течении неврологического дефицита подтверждена в клинических исследованиях [21]. Адеметионин оказывает различные фармакологические эффекты в центральной нервной системе (ЦНС), в частности он влияет на метаболизм моноаминовых нейромедиаторов и рецепторные системы [22, 23], что отражается и на показателях поведенческой активности. Метаболизм этих серосодержащих аминокислот включает образование глутатиона, недостаточность которого является центральным звеном патогенетической цепи алкогольного похмелья. Исходя из этого, мы предположили, что введение серосодержащих аминокислот будет препятствовать истощению глутатиона и облегчит течение окислительного стресса, приводящего к ослаблению метаболической активности печени и нарушению функционирования нейронов.

ЦЕЛЬ. Сравнить влияние адеметионина, ацетилцистеина и таурина на зоосоциальное поведение крыс, находящихся в постинтоксикационном состоянии после острого отравления этанолом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Проведена серия экспериментов на самцах крыс линии Wistar ($n=40$; масса тела 300–450 г), полученных из питомника ФГУП «ПЛЖ «Рапполово» (Россия), которых содержали в стандартных условиях вивария при свето-темновом цикле 12/12 ч, температуре $20\pm 2^\circ\text{C}$ и влажности 40–60%. Животные получали воду и пищу *ad libitum*.

Этическая экспертиза

Все экспериментальные исследования проведены в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России от 23.08.2010 № 708н, при строгом соблюдении Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или других научных целей (Директива 2010/63/ЕС). Протокол одобрен Региональным независимым этическим комитетом при ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (ИРБ 00005839 IORG 0004900 (OHRP) протокол № 132 от 20.05.2019).

Дизайн исследования

Всего было использовано 80 животных: 40 из них были интактными, а другие 40 использовали в экспериментальной серии. Были сформированы 5 групп по 8 животных в каждой. Животным из группы положительного контроля и экспериментальных групп вводили 20% водный раствор этанола в дозе 3 г/кг, однократно внутривенно, а сразу после

⁴ Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://grls.minzdrav.gov.ru/Default.aspx>

пробуждения (длительность сна составляла $5 \pm 0,5$ ч) им вводили одно из трех лекарственных средств: ацетилцистеин (1 г/кг, внутривенно однократно), адеметионин (100 мг/кг, внутривенно однократно) или таурин (40 мг/кг, внутривенно однократно), либо физиологический раствор в соответствующем объеме (в группах положительного и отрицательного контроля). Дозы для введения были выбраны на основании литературных данных и согласно результатам экспериментов, проведенных ранее [24–27]. Животным из группы отрицательного контроля вместо этанола вводили физиологический раствор в соответствующем объеме, а вместо лекарственных средств вводили физиологический раствор. Схема дизайна исследования представлена на рисунке 1.

Исследуемые соединения

В работе были использованы следующие лекарственные средства в виде порошков: ацетилцистеин (Zambon, Италия), адеметионина бутандисульфат (ООО «ВЕРОФАРМ», Россия), таурин (Supprtrue Taurine, Россия).

Оценка зоосоциального поведения

Оценку зоосоциального поведения по методике Петрова В.И. [28] начинали через 30 мин после введения исследуемых лекарственных средств. Так как в эксперименте оценивали взаимодействие двух животных, для проведения теста использовали 40 здоровых животных, составлявших пары для тестируемых крыс. После типирования животных по массе тела, среди 40 дополнительных животных каждому из них подбирали пару для взаимодействия резидент-интродер.

Установка для проведения теста представляла собой квадратное открытое поле без норок 97×97 см, находящееся в темном помещении и освещаемое красным светом [29]. Пару животных – сначала интактные (резидент), затем животное из экспериментальной группы (интродер) – по очереди помещали в центр установки и наблюдали в течение 10 мин.

Оценивали следующие компоненты поведения животного: тревожность, коммуникативность, негативность, исследовательская активность, агрессивность. Тревожность оценивали по количеству актов замирания и количеству актов короткого груминга. Коммуникативность оценивали по длительности следования за интактным животным, количеству актов обнюхивания (спереди, сбоку, хвоста и ануса) и количеству актов алло- и аутогруминга. Избегающее поведение оценивали по количеству актов движения от резидента. Исследовательское поведение оценивали по количеству вертикальных стоек без и с опорой на стену. Агрессивность оценивали по количеству актов приближения сбоку.

Статистическая обработка

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–Кейлса, а цифровые значения представляли в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего арифметического. Для оценки различий категориальных данных использовали критерий хи-квадрат. Отличия между показателями в группе считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Обработку и анализ результатов осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corporation, США) и статистического пакета GraphPad Prism 5 (Dotmatics, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты и их статистическая обработка представлены в таблице 1.

Тревожность

Количество актов замирания у животных из группы отрицательного и положительного контроля составили $13,75 \pm 2,96$ и $22,5 \pm 5,21$ ($p < 0,01$) актов. У животных, которым после алкоголизации вводили ацетилцистеин, адеметионин или таурин, эти показатели составили $6,38 \pm 3,16$, $12,75 \pm 9,59$ и $10,38 \pm 7,11$ ($p < 0,01$ во всех случаях при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля) актов.

Количество актов короткого груминга у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $4,38 \pm 2,07$ и $7,88 \pm 4,19$ соответственно ($p > 0,05$). Таким образом, алкоголизация не оказывала статистически значимого влияния на количество актов короткого груминга. У животных из групп ацетилцистеина, адеметионина и таурина этот показатель составил $2,63 \pm 2,13$, $3,86 \pm 2,85$ и $5,5 \pm 4,93$ соответственно. Показатель у животных из группы ацетилцистеина был статистически значимо ниже, чем у животных из группы положительного контроля ($p < 0,05$). Поскольку оценка этого компонента поведения не прошла валидацию (отрицательный и положительный контроли не отличались), интерпретировать действие ацетилцистеина как анксиолитическое нельзя. Результаты оценки тревожности представлены на рисунке 2.

Коммуникативность

Средняя длительность следования за резидентом у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $18,38 \pm 3,75$ и $8,05 \pm 4,7$ с соответственно ($p < 0,05$). Показатель у животных из группы ацетилцистеина, адеметионина и таурина статистически значимо не отличались от показателей у животных из контрольных групп и занимали промежуточные значения: $9,55 \pm 5,54$, $14,47 \pm 7,72$ и $11,06 \pm 9,77$ с соответственно.

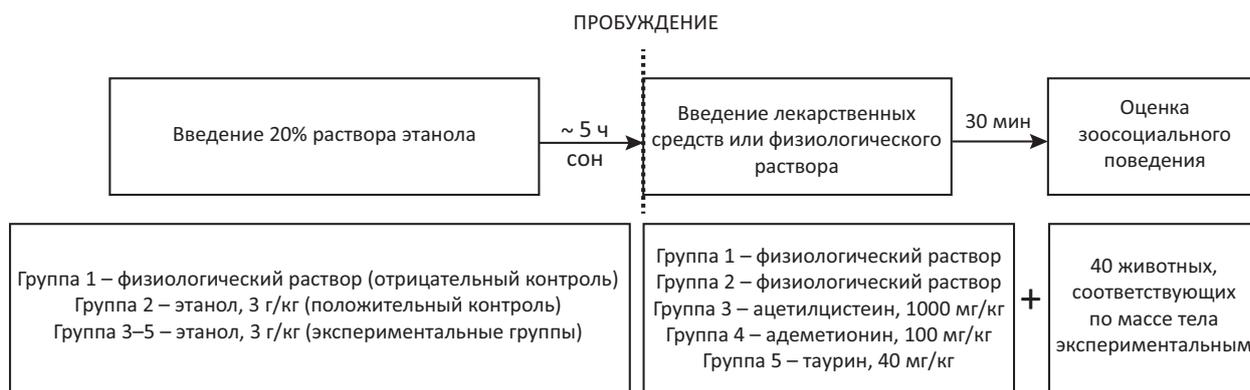


Рисунок 1 – Схема дизайна исследования по оценке зоосоциального поведения

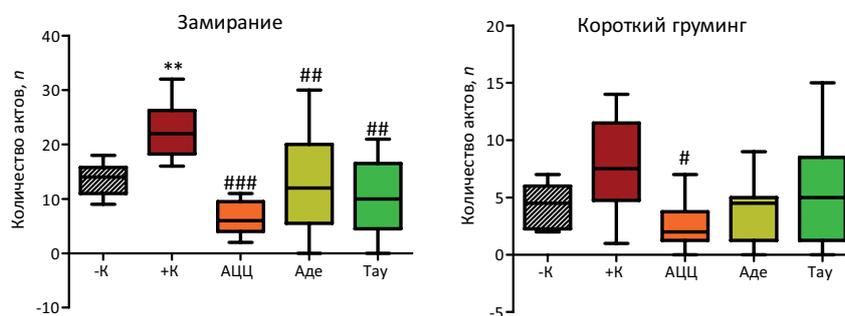


Рисунок 2 – Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на показатели тревожности при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших интоксикацию этанолом

Примечание: -K – показатели у животных из группы отрицательного контроля; +K – показатели у животных из группы положительного контроля; АЦЦ – показатели у животных, которым вводили ацетилцистеин; Аде – показатели у животных, которым вводили адеметионин; Тау – показатели у животных, которым вводили таурин; ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; ## – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; ### – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,001$; данные представлены в виде медианы, стандартного отклонения (ящик) и минимальных и максимальных значений (усы).

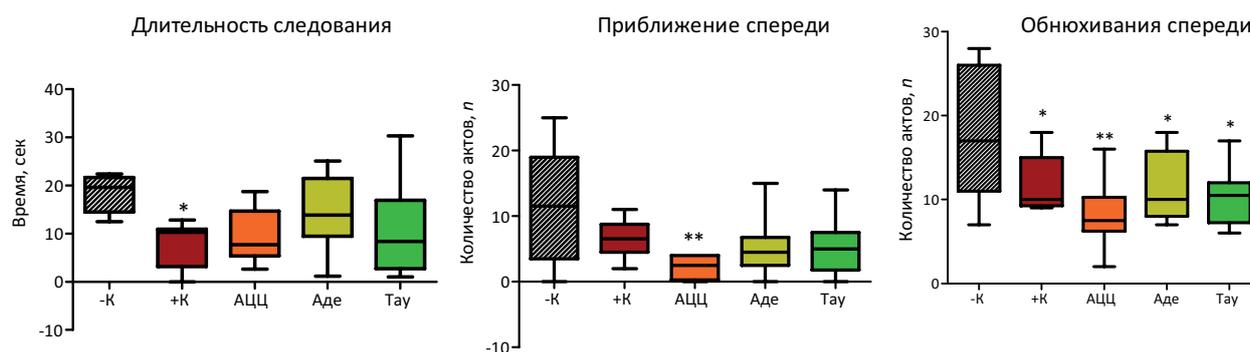


Рисунок 3 – Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на показатели коммуникативности при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших интоксикацию этанолом

Примечание: -K – показатели у животных из группы отрицательного контроля; +K – показатели у животных из группы положительного контроля; АЦЦ – показатели у животных, которым вводили ацетилцистеин; Аде – показатели у животных, которым вводили адеметионин; Тау – показатели у животных, которым вводили таурин; * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; данные представлены в виде медианы, стандартного отклонения (ящик) и минимальных и максимальных значений (усы).

Таблица 1 – Результаты измерения показателей поведения, отражающих неврологический дефицит и нарушение зоосоциального взаимодействия

Компонент поведения	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Ацетилцистеин	Адеметионин	Таурин
Тревожность	Количество актов замирания, <i>n</i>				
	13,75±2,964	22,50±5,210 (+63,64%)**	6,375±3,159 (-53,64%)###	12,75±9,588 (-7,27%)##	10,38±7,110 (-24,51%)##
	Количество актов короткого груминга, <i>n</i>				
	4,375±2,066	7,875±4,190 (+80%)	2,625±2,134 (-40%)*	3,875±2,850 (-11,43%)	5,500±4,928 (+25,71%)
Коммуникативность	Длительность следования, сек				
	18,38±3,752	8,046±4,696 (-56,22%)*	9,548±5,536 (-48,05%)	14,47±7,715 (-21,27%)	11,06±9,771 (-39,83%)
	Количество актов приближения спереди, <i>n</i>				
	11,50±8,635	6,625±2,825 (-42,39%)	2,250±1,753 (-80,43%)**	5,375±4,47 (-53,26%)	5,375±4,34 (-53,26%)
	Количество актов обнюхивания спереди, <i>n</i>				
	17,88±7,661	11,75±3,412 (-34,28%)*	8,125±4,051 (-54,56%)**	11,50±4,243 (-35,68%)*	10,38±3,503 (-41,95%)*
	Количество актов обнюхивания сбоку, <i>n</i>				
	7,875±2,357	6,000±1,604 (-23,81%)	6,875±2,031 (-12,70%)	6,250±3,196 (-20,63%)	9,250±2,550 (+17,46%)
	Количество актов обнюхивания ануса, <i>n</i>				
	10,63±6,391	6,375±3,815 (-40,03%)	4,125±1,458 (-61,19%)	5,750±4,950 (-45,91%)	6,625±4,838 (-37,68%)
	Количество актов обнюхивания хвоста, <i>n</i>				
	10,38±8,535	10,13±4,998 (-2,41%)	4,250±3,370 (-59,06%)	7,625±4,470 (-26,54%)	6,750±3,576 (-34,97%)
Количество актов аллогруминга, <i>n</i>					
1,000±0,5345	0,3750±0,7440 (-62,5%)	0,8750±0,8345 (-12,5%)	0,6250±0,7440 (-37,5%)	0,6250±0,9161 (-37,5%)	
Количество актов аутогруминга, <i>n</i>					
3,750±2,493	1,750±1,389 (-53,33%)	3,875±2,031 (+3,33%)	3,250±1,982 (-13,33%)	5,250±5,392 (+40%)	
Негативность	Количество актов избегания, <i>n</i>				
	2,500±1,195	4,125±1,553 (+65%)*	1,250±1,035 (-50%)###	3,250±1,488 (+30%)	2,250±1,165 (-10%)#
Исследовательское поведение	Количество вертикальных стоек у стенки, <i>n</i>				
	28,50±6,655	27,63±9,211 (-3,05%)	17,13±7,180 (-39,89%)	23,38±8,959 (-17,96%)	24,63±9,380 (-13,58%)
	Количество вертикальных стоек без опоры, <i>n</i>				
	27,00±8,401	9,375±4,749 (-65,28%)**	10,00±8,089 (-62,96%)**	16,63±9,724 (-38,41%)*	17,25±8,172 (-36,11%)*
Агрессивность	Количество актов приближения сбоку, <i>n</i>				
	3,125±1,808	1,125±0,991 (-64%)	2,375±1,685 (-24%)	2,375±1,598 (-24%)	1,500±1,309 (-52%)

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; ** – $p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; *** – $p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; # – $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; ## – $p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; ### – $p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения (процентное снижение).

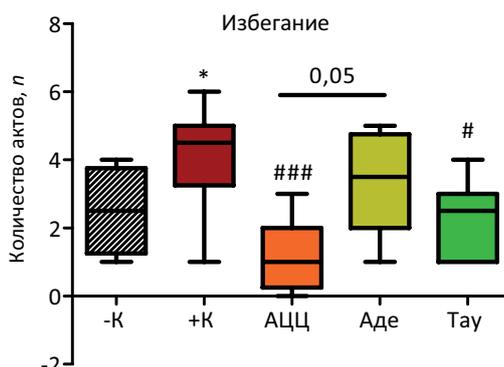


Рисунок 4 – Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов избегания зоосоциального взаимодействия у животных, перенесших интоксикацию этанолом

Примечание: -K – показатели у животных из группы отрицательного контроля; +K – показатели у животных из группы положительного контроля; АЦЦ – показатели у животных, которым вводили ацетилцистеин; Аде – показатели у животных, которым вводили адеметионин; Тау – показатели у животных, которым вводили таурин; * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,001$; сравниваемые группы обозначены горизонтальной линией; данные представлены в виде медианы, стандартного отклонения (ящик) и минимальных и максимальных значений (усы).

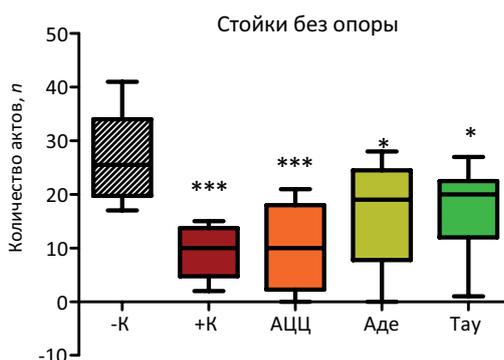


Рисунок 5 – Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество стоек без опоры при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших интоксикацию этанолом

Примечание: -K – показатели у животных из группы отрицательного контроля; +K – показатели у животных из группы положительного контроля; АЦЦ – показатели у животных, которым вводили ацетилцистеин; Аде – показатели у животных, которым вводили адеметионин; Тау – показатели у животных, которым вводили таурин; * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,001$; данные представлены в виде медианы, стандартного отклонения (ящик) и минимальных и максимальных значений (усы).

Количество актов приближения спереди у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $11,5 \pm 8,64$ и $6,63 \pm 2,83$ соответственно ($p > 0,05$). Таким образом, алкоголизация не оказывала существенного или статистически значимого влияния на приближение спереди. Показатель у животных из группы ацетилцистеина оказался еще ниже, чем у животных из группы положительного контроля, и составил $2,25 \pm 1,75$ ($p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля). При этом количество актов обнюхивания спереди как оценка тревожности прошла валидацию. Показатели у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $17,88 \pm 7,66$ и $11,75 \pm 3,41$ актов ($p < 0,05$). Показатели у животных из опытных

групп были сопоставимы со средним показателем у животных из группы положительного контроля и составили $8,13 \pm 4,05$ ($p < 0,01$ при сравнении с интактными животными), $11,5 \pm 4,24$ и $10,38 \pm 3,5$ ($p < 0,05$ при сравнении с интактными животными в обоих случаях) актов для ацетилцистеина, адеметионина и таурина соответственно. Результаты оценки коммуникативности обобщены на рисунке 3.

Негативность (избегающее поведение)

Количество актов избегания, характеризующее негативность поведения у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $2,5 \pm 1,2$ и $4,13 \pm 1,55$ актов ($p < 0,05$). У животных из группы ацетилцистеина показатель был ниже, чем у животных из групп контроля, и составил

1,25±1,04 ($p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля). Показатель у животных из группы адеметионина занимал промежуточное положение между показателями у животных из обеих контрольных групп и не отличался статистически значимо ни от одного из них, составив 3,25±1,49 актов ($p > 0,05$, но $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы ацетилцистеина). У животных, которым вводили таурин, средний показатель статистически значимо отличался от показателя у животных из группы положительного контроля ($p < 0,05$) и составил 2,25±1,17 актов. Результаты измерения количества актов избегания представлено на рисунке 4.

Исследовательская активность

Количество стоек без опоры у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили 27±8,4 и 9,38±4,75 актов. У животных из групп ацетилцистеина, адеметионина и таурина показатели составили 10±8,09 ($p < 0,001$ при сравнении с отрицательным контролем), 16,63±9,72 и 17,25±8,17 ($p < 0,05$ при сравнении с отрицательным контролем). Результаты представлены на рисунке 5.

Среди показателей, оцениваемых в тесте зоосоциального поведения, валидацию прошли параметры, отражающие следующие компоненты поведения: тревожность (количество актов замирания), коммуникативность (следование, обнюхивания спереди), негативность (количество актов избегания) и исследовательское поведение (стойки без опоры).

Применение ацетилцистеина, адеметионина и таурина снижало количество актов замирания на 72, 43 и 54% соответственно, при сравнении с показателем в группе положительного контроля. Длительность следования за резидентом увеличилась на 19, 80 и 38% соответственно. Количество актов обнюхивания снижалось во всех группах лечения, но наибольшим было в группе ацетилцистеина.

ОБСУЖДЕНИЕ

Средства метаболической терапии, обладающие антиоксидантными, гепато- и нейропротекторными свойствами, могут корректировать течение токсических нейропатий [30]. Выбор лекарственных средств для изучения был обусловлен наличием атома серы в молекуле адеметионина, ацетилцистеина и таурина и их способностью образовывать дисульфидные связи.

Ацетилцистеин – производное L-цистеина, являющееся прекурсором антиоксидантного трипептида глутатиона. Основой муколитического действия ацетилцистеина является способность разряжать дисульфидные связи мукопротеинов, что приводит к разжижению мокроты. Существуют основания полагать, что за счет антиоксидантных свойств ацетилцистеин может обладать антиапоптогенным эффектом [31–33]. Выдвинуто

предположение, что ацетилцистеин нормализует нейротрансмиссию глутамата в различных структурах мозга [34]. Использование ацетилцистеина для улучшения состояния после острой алкоголизации может иметь двойное действие – улучшение обработки веществ в печени и защитное действие на нервную систему, что помогает снизить желание употреблять АН.

Таурин – 2-аминосульфоновая кислота – сульфокислота, широко распространенная в живых организмах и участвующая во множестве метаболических процессов. Большинство млекопитающих, включая взрослых людей, способно к самостоятельному синтезу таурина. Они получают его непосредственно с пищей животного происхождения в количествах, достаточных для обеспечения метаболических потребностей⁵. Дефицит таурина наблюдается при различных заболеваниях, в особенности – при сахарном диабете и сердечно-сосудистых заболеваниях. На фоне введения таурина животным с экспериментальным сахарным диабетом отмечено увеличение содержания гликогена в печени и повышение утилизации глюкозы мышцами [35]. Таурин может связываться с липидными гидроперекисями, которые нарушают целостность сосудистого эпителия, что предотвращает апоптоз клеток и развитие дисфункции эндотелия [36].

S-аденозилметионин, промежуточный продукт синтеза таурина, выполняет в организме роль переносчика метильных групп, что позволяет использовать его в качестве лекарственного средства для лечения как расстройств гепатобилиарной системы, так и некоторых видов депрессий [37–40].

В предыдущих исследованиях по изучению эффектов серосодержащих аминокислот в постинтоксикационном состоянии на биохимические показатели, мы установили, что ацетилцистеин, адеметионин и таурин восстанавливали работу печени, нормализуя уровни аспартатаминотрансферазы и глутатиона. При этом наиболее выраженное положительное влияние на эти параметры оказывал ацетилцистеин, снижая активность аспартатаминотрансферазы на 16% и увеличивая запасы глутатиона на 16% относительно показателей в группе положительного контроля. Адеметионин и таурин снижали активность аспартатаминотрансферазы на 9 и 11% соответственно. Оба лекарственных средства оказали явное положительное влияние на восстановление запасов глутатиона, увеличив их на 11% в обоих случаях [41].

В рамках оценки нейро- и гепатопротекторного действия серосодержащих аминокислот при состояниях, сопровождающихся снижением

⁵ Froger N. Taurine Deficiency and the Eye. Handbook of Nutrition, Diet and the Eye / V.R. Preedy, J. Sahel, S. Picaud. – Academic Press. – London: Elsevier, 2014. – Vol. 51. – P. 505–513. DOI: 10.1016/B978-0-12-401717-7.00051-4

запасов глутатиона ранее мы использовали спектр поведенческих оценок: «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Открытое поле», «Адгезивный тест», тест условной реакции пассивного избегания, «Водный лабиринт Морриса», а также шкалы Combs and D'Alecy и mNSS. Согласно результатам наших более ранних исследований [10], применение ацетилцистеина, адemetионина и таурина у крыс, перенесших острую алкогольную интоксикацию, частично корректирует поведенческие нарушения. Наиболее выраженный эффект оказал адemetионин, повышая средний балл Combs and D'Alecy относительно показателя у животных с экспериментальным ПС без лечения. Двигательная активность в тесте «Открытое поле» среди алкоголизованных животных также была наиболее высокой в группе адemetионина [10].

Поскольку подавление психоневрологических изменений у животных после острой алкоголизации совпало с увеличением количества запасов глутатиона в печени, мы заключили, что механизм действия всех исследуемых лекарственных средств опосредован гепатопротекторным действием.

Однако, ПС у человека – многофакторное состояние, поэтому был проведен тест зоосоциального взаимодействия, который позволил оценить компоненты поведения, не учитываемые вышеупомянутыми методиками. Несмотря на то, что валидацию прошли только тревожность, коммуникативность, негативность поведения и исследовательская активность, полученные для этих компонентов поведения результаты соотносятся с результатами стандартного поведенческого тестирования, внося дополнительные уточнения в имеющиеся представления о моделировании и лечении ПС в эксперименте *in vivo*.

Среди исследуемых соединений наиболее выраженным эффектом на коммуникативность обладал адemetионин, а ухудшал состояние ацетилцистеин, что предположительно связано с центральными эффектами адemetионина и таурина, которыми ацетилцистеин не обладает [23, 42, 43]. Ацетилцистеин существенно подавлял избегающее поведение, снижая количество актов избегания на 70% (против 21 и 45% в группе адemetионина и таурина), а также его введение привело к снижению количества актов замиранья. Таурин наиболее выраженно усиливал исследовательский компонент поведения. Введение таурина, адemetионина и ацетилцистеина

увеличивало количество вертикальных стоек без опоры на 84, 77 и 7% соответственно.

Постинтоксикационное состояние, помимо ранее обнаруженных анксиогенного эффекта и подавления исследовательской деятельности, нарушало коммуникацию животных, усиливая поведение, связанное с избеганием (негативность). Согласно результатам предыдущих экспериментальных серий, ацетилцистеин оказывал существенно более выраженное влияние на биохимический компонент постинтоксикационной психоневрологической недостаточности, чем адemetионин и таурин.

Согласно полученным в этой экспериментальной серии данным, серосодержащие аминокислоты, в первую очередь те, что обладали центральными эффектами, нормализовали функции нейронов, положительно влияя на сложное поведение крыс.

Ограничения исследования

Как упомянуто выше, ПС у человека характеризуется наличием 47 симптомов, все их смоделировать и оценить у животных невозможно. Исходя из этого, доклиническое изучение описанного состояния не позволяет напрямую экстраполировать полученные результаты на человека. Для разработки эффективной терапии ПС требуется проведение клинических исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди исследуемых соединений наиболее выраженным эффектом на коммуникативность обладал адemetионин, а ухудшал состояние ацетилцистеин, что предположительно связано с центральными эффектами адemetионина и таурина, которыми ацетилцистеин не обладает. Ацетилцистеин существенно подавлял избегающее поведение, снижая количество актов избегания на 70% (против 21 и 45% в группе адemetионина и таурина), а также его введение привело к снижению количества актов замиранья. Таурин наиболее выраженно усиливал исследовательский компонент поведения. Введение таурина, адemetионина и ацетилцистеина увеличивало количество вертикальных стоек без опоры на 84, 77 и 7% соответственно.

С учетом данных, полученных в тесте зоосоциального взаимодействия, удалось уточнить, что вклад центральных эффектов адemetионина и таурина оказался больше, чем метаболических в контексте изученного состояния.

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

Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). В.И. Петров – идея проведения эксперимента, методология и научное руководство; Н.А. Осадченко, А.С. Тарасов, А.М. Доценко – обзор литературных источников, сбор материалов, проведение экспериментов, написание и редактирование статьи; Е.И. Морковин – поиск источников для литературного обзора, статистическая обработка результатов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- van Schroyen Lantman M., van de Loo A.J., Mackus M., Verster J.C. Development of a definition for the alcohol hangover: consumer descriptions and expert consensus // *Current Drug Abuse Reviews*. – 2016. – Vol. 9, No. 2. – P. 148–154. DOI: 10.2174/1874473710666170216125822
- Gunn C., Mackus M., Griffin C.A. systematic review of the next-day effects of heavy alcohol consumption on cognitive performance // *Addiction* (Abingdon, England). – 2018. – Vol. 113, No. 12. – P. 2182–2193. DOI: 10.1111/add.14404
- Palmer E.O.C., Arnoldy L., Ayre E. Proceeding of the 11th alcohol hangover research group meeting in Nadi, Fiji // *Proceedings*. – 2020. – Vol. 43, No. 1. – P. 1. DOI: 10.3390/proceedings2020043001
- Alford C., Broom C., Carver H. The impact of alcohol hangover on simulated driving performance during a 'commute to work'-zero and residual alcohol effects compared // *Journal of Clinical Medicine*. – 2020. – Vol. 9, No. 5. – P. 1435. DOI: 10.3390/jcm9051435
- Hartung B., Schwender H., Mindiashvili N. The effect of alcohol hangover on the ability to ride a bicycle // *International Journal of Legal Medicine*. – 2015. – Vol. 129, No. 4. – P. 751–758. DOI: 10.1007/s00414-015-1194-2
- Devenney L.E., Coyle K.B., Roth T., Verster J.C. Sleep after heavy alcohol consumption and physical activity levels during alcohol hangover // *Journal of Clinical Medicine*. – 2019. – Vol. 8, No. 5. – P. 752. DOI: 10.3390/jcm8050752
- Penning R., McKinney A., Verster J.C. Alcohol hangover symptoms and their contribution to the overall hangover severity // *Alcohol and Alcoholism* (Oxford, Oxfordshire). – 2012. – Vol. 47, No. 3. – P. 248–252. DOI: 10.1093/alcalc/ags029
- Karayadian A.G., Mac Laughlin M.A., Cutrera R.A. Estrogen blocks the protective action of melatonin in a behavioral model of ethanol-induced hangover in mice // *Physiology & Behavior*. – 2012. – Vol. 107, No. 2. – P. 181–186. DOI: 10.1016/j.physbeh.2012.07.003
- Combs D.J., D'Alecy L.G. Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: effect of fasting and 1,3-butanediol // *Stroke*. – 1987. – Vol. 18, No. 2. – P. 503–511. DOI: 10.1161/01.str.18.2.503
- Морковин Е.И., Осадченко Н.А., Кнышова Л.П. Влияние ацетилцистеина на психоневрологические показатели крыс после острой интоксикации этанолом // *Вестник Волгоградского Государственного Медицинского Университета*. – 2019. – № 3 (71). – С. 110–115. DOI: 10.19163/1994-9480-2019-3(71)-110-1159480
- 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
- Kurkin D.V., Morkovin E.I., Osadchenko N.A. N-acetylcysteine relieves neurologic signs of acute ethanol hangover in rats // *Research Results in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 7, No. 1. – P. 75–83. DOI: 10.3897/rrpharmacology.7.62622
- Kraeuter A.K., Guest P.C., Sarnyai Z. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior // *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.). – 2019. – No. 1916. – P. 99–103. DOI: 10.1007/978-1-4939-8994-2_9
- Jomova K., Raptova R., Alomar S.Y. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging // *Archives of toxicology*. – 2023. – Vol. 97, No. 10. – P. 2499–2574. DOI: 10.1007/s00204-023-03562-9
- Kesidou E., Bitsina C., Chatzizotiriou A. N-acetylcysteine administration attenuates sensorimotor impairments following neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rats // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, No. 24. – P. 16175. DOI: 10.3390/ijms232416175
- Coppersmith V., Hudgins S., Stoltzfus J., Stankewicz H. The use of N-acetylcysteine in the prevention of hangover: a randomized trial // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11, No. 1. – P. 13397. DOI: 10.1038/s41598-021-92676-0
- Ommati M.M., Heidari R., Ghanbarinejad V. Taurine treatment provides neuroprotection in a mouse model of manganism // *Biological Trace Element Research*. – 2019. – Vol. 190, No. 2. – P. 384–395. DOI: 10.1007/s12011-018-1552-2
- Prentice H., Gharibani P.M., Ma Z. Neuroprotective functions through inhibition of ER stress by taurine or taurine combination treatments in a rat stroke model // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2017. – No. 975. – P. 193–205. DOI: 10.1007/978-94-024-1079-2_17
- Gupte R., Christian S., Keselman P. Evaluation of taurine neuroprotection in aged rats with traumatic brain injury // *Brain Imaging and Behavior*. – 2019. – Vol. 13, No. 2. – P. 461–471. DOI: 10.1007/s11682-018-9865-5
- Li F., Jiang H.X., Zhang H.K., Chen Q.X. TUG1 aggravates intracerebral hemorrhage injury by inhibiting angiogenesis in an miR-26a-dependent manner // *American Journal of Translational Research*. – 2023. – Vol. 15, No. 1. – P. 175–183.
- Kofler M., Schiefecker A., Ferger B. Cerebral taurine levels are associated with brain edema and delayed cerebral infarction in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage // *Neurocritical Care*. – 2015. – Vol. 23, No. 3. – P. 321–329. DOI: 10.1007/s12028-015-0140-y
- Mann S.P., Hill M.W. Activation and inactivation of striatal tyrosine hydroxylase: the effects of pH, ATP and cyclic AMP, S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine // *Biochemical Pharmacology*. – 1983. – Vol. 32, No. 22. – P. 3369–3374. DOI: 10.1016/0006-2952(83)90364-7
- Losada M. E., Rubio M. C. Acute effects of S-adenosyl-L-methionine on catecholaminergic central function // *European Journal of Pharmacology*. – 1989. – Vol. 163, No. 2–3. – P. 353–356. DOI: 10.1016/0014-2999(89)90205-7
- 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
- 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

26. 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
27. Sehirlı 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
28. Петров В.И., Григорьев И.А., Горбунов С.Г. Методика исследования зоосоциального поведения крыс в психофармакологии // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 1996. – Т. 59, № 4. – С. 65–69.
29. Jacobs G.H., Fenwick J.A., Williams G.A. Cone-based vision of rats for ultraviolet and visible lights // *The Journal of Experimental Biology.* – 2001. – Vol. 204, No. 14. – P. 2439–2446. DOI: 10.1242/jeb.204.14.2439
30. Agnes J.P., Dos Santos V.W., das Neves R.N. Antioxidants improve oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in tumor-bearing mice model: role of spinal cord oxidative stress and inflammation // *The Journal of Pain.* – 2021. – No. 8. – P. 996–1013. DOI: 10.1016/j.jpain.2021.03.142
31. Elsayed A., Elkomy A., Elkammar R. Synergistic protective effects of lycopen and N-acetylcysteine against cisplatin-induced hepatorenal toxicity in rats // *Scientific Reports.* – 2021. – Vol. 11, No. 1. – P. 13979. DOI: 10.1038/s41598-021-93196-7
32. Liao C. Y., Wu T. C., Yang S. F., Chang J. T. Effects of NAC and gallic acid on the proliferation inhibition and induced death of lung cancer cells with different antioxidant capacities // *Molecules (Basel, Switzerland).* – 2021. – Vol. 27, No. 1. – P. 75. DOI: 10.3390/molecules27010075
33. Anastasi E., Scaramuzzino S., Viscardi M.F. Efficacy of n-acetylcysteine on endometriosis-related pain, size reduction of ovarian endometriomas, and fertility outcomes // *International Journal of Environmental Research and Public Health.* – 2023. – Vol. 20, No. 6. – P. 4686. DOI: 10.3390/ijerph20064686
34. Siemsen B.M., Denton A.R., Parrila-Carrero J. Heroin self-administration and extinction increase prelimbic cortical astrocyte-synapse proximity and alter dendritic spine morphometrics that are reversed by N-acetylcysteine // *Cells.* – 2023. – Vol. 12, No. 14. – P. 1812. DOI: 10.3390/cells12141812
35. Sun J., Guo F., Ran J. Bibliometric and visual analysis of global research on taurine, creatine, carnosine, and anserine with metabolic syndrome: from 1992 to 2022 // *Nutrients.* – 2023. – Vol. 15, No. 15. – P. 3374. DOI: 10.3390/nu15153374
36. Анциферов М.Б. Роль таурина и его дефицита в организме человека и животных // *Фарматека.* – 2012. – Т. 16, № 249. – С. 60–78.
37. Saccarello A., Montarsolo P., Massardo I. Oral administration of S-adenosylmethionine (SAME) and lactobacillus plantarum HEAL9 improves the mild-to-moderate symptoms of depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled study // *The Primary Care Companion for CNS Disorders.* – 2020. – Vol. 22, No. 3. – P. 19m02578. DOI: 10.4088/PCC.19m02578
38. Tillmann S., Happ D.F., Mikkelsen P.F. Behavioral and metabolic effects of S-adenosylmethionine and imipramine in the Flinders Sensitive Line rat model of depression // *Behavioural Brain Research.* – 2019. – No. 364. – P. 274–280. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.02.011
39. Ullah H., Di Minno A., Esposito C. Efficacy of a food supplement based on S-adenosyl methionine and probiotic strains in subjects with subthreshold depression and mild-to-moderate depression: A monocentric, randomized, cross-over, double-blind, placebo-controlled clinical trial // *Biomedicine & Pharmacotherapy.* – 2022. – No. 156. – P. 113930. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113930
40. Noureddin M., Sander-Struckmeier S., Mato J.M. Early treatment efficacy of S-adenosylmethionine in patients with intrahepatic cholestasis: A systematic review // *World journal of hepatology.* – 2020. – Vol. 12, No. 2. – P. 46–63. DOI: 10.4254/wjh.v12.i2.46
41. Морковин Е.И., Осадченко Н.А., Куркин Д.В. Коррекция токсических эффектов этанола у крыс при помощи перорального введения ацетилцистеина // *Волгоградский Научно-Медицинский Журнал.* – 2019. – № 4. – С. 43–46.
42. Otero-Losada M.E., Rubio M.C. Acute changes in 5-HT metabolism after S-adenosyl-L-methionine administration // *General Pharmacology.* – 1989. – Vol. 20, No. 4. – P. 403–406. DOI: 10.1016/0306-3623(89)90186-9
43. Kirson D., Oleata C.S., Roberto M. Taurine suppression of central amygdala GABAergic inhibitory signaling via glycine receptors is disrupted in alcohol dependence // *Alcoholism, Clinical and Experimental Research.* – 2020. – Vol. 44, No. 2. – P. 445–454. DOI: 10.1111/acer.14252

АВТОРЫ

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

Осадченко Назар Андреевич – очный аспирант кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7398-2186. E-mail: n.a.osadchenko@gmail.com

Тарасов Александр Сергеевич – ассистент кафедры фундаментальной медицины и биологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; младший

научный сотрудник лаборатории нейрпсихотропных средств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8581-1595. E-mail: tarasov.pharm@ya.ru

Доценко Анна Михайловна – ассистент кафедры фундаментальной медицины и биологии, заочный аспирант кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории фармакокинетики НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3324-3351. E-mail: ev8278@mail.ru

Морковин Евгений Игоревич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией нейрпсихофармакологии НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7119-3546. E-mail: e.i.morkovin@gmail.com

УДК 614.27



Анализ фактических результатов реализации лекарственного обеспечения в рамках программы высокочрезвычайных нозологий

О.И. Ивахненко, В.В. Ряженев, Е.А. Максимкина, В.С. Фисенко, О.В. Савоськин, М.М. Кузнецова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

E-mail: oii@hta-expert.ru

Получена 24.11.2023

После рецензирования 06.03.2024

Принята к печати 15.03.2024

Доступность и охват фармацевтической помощью связаны с принятием политических, экономических и управленческих решений, что обуславливает необходимость оценки результатов государственных программ в сфере лекарственного обеспечения.

Цель. Оценка количественных результатов реализации программы высокочрезвычайных нозологий в Российской Федерации с 2008 по 2023 гг. для определения дальнейших векторов ее совершенствования.

Материалы и методы. Нормативную базу работы составило законодательство Российской Федерации в сфере лекарственного обеспечения. В качестве информационной базы исследования для сбора и анализа данных использовали открытые источники: отчеты федеральных и региональных органов исполнительной власти, материалы профильных конференций, результаты опубликованных исследований.

Результаты. Лекарственное обеспечение в рамках программы высокочрезвычайных нозологий (ВЗН) осуществляется по 14 нозологиям, 11 из которых отнесены к категории орфанных. С момента реализации программа ВЗН расширялась 2 раза за счет включения новых нозологий в 2019 и 2020 гг. По состоянию на 01 октября 2023 года численность пациентов в Федеральном регистре ВЗН составляла 263 721 человек, что в 13,58 раз выше в сравнении с 2008 г. Лекарственное обеспечение осуществляется по перечню из 47 МНН. Объем финансирования программы увеличился с 32 млрд руб. в 2008 г. до 87,96 млрд руб. в 2023 г. К наиболее ресурсоемким нозологиям относятся гемофилия, рассеянный склероз и онкогематология.

Заключение. В настоящем исследовании проведен анализ основных количественных характеристик реализации программы ВЗН, определены векторы дальнейшего ее совершенствования. Полученные результаты могут быть использованы для проведения аналитических исследований, в том числе внутри нозологий и нозологических групп, включенных в программу, с целью оптимизации фармацевтической помощи. Фокус совершенствования реализации программы ВЗН связан с совершенствованием правового поля, парадигмы лечения пациентов и подходов к ее финансированию.

Ключевые слова: лекарственное обеспечение; перечень дорогостоящих лекарственных препаратов; программа высокочрезвычайных нозологий; оценка медицинских технологий

Список сокращений: ВЗН – программа высокочрезвычайных нозологий; ДЛО – программа дополнительного лекарственного обеспечения; ЗНО – злокачественные новообразования; ЛО – лекарственное обеспечение; ЛП – лекарственный препарат; ФР – федеральный регистр; МНН – международное непатентованное наименование; ОЗ – орфанные заболевания; перечень ЖНВЛП – перечень жизненно-необходимых и важнейших лекарственных препаратов; РС – рассеянный склероз; ЛБО – лимит бюджетных обязательств; ГК – государственные контракты.

Для цитирования: О.И. Ивахненко, В.В. Ряженев, Е.А. Максимкина, В.С. Фисенко, О.В. Савоськин, М.М. Кузнецова. Анализ фактических результатов реализации лекарственного обеспечения в рамках программы высокочрезвычайных нозологий. *Фармация и фармакология*. 2024;12(1):15-31. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-15-31

© О.И. Ивахненко, В.В. Ряженев, Е.А. Максимкина, В.С. Фисенко, О.В. Савоськин, М.М. Кузнецова, 2024

For citation: O.I. Ivakhnenko, V.V. Ryazhenov, E.A. Maksimkina, V.S. Fisenko, O.V. Savoskin, M.M. Kuznetsova. Analysis of actual results of drug supply implementation within framework of High-Cost Nosologies Program. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(1):15-31. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-15-31

Analysis of actual results of drug supply implementation within framework of High-Cost Nosologies Program

O.I. Ivakhnenko, V.V. Ryazhenov, E.A. Maksimkina, V.S. Fisenko, O.V. Savoskin, M.M. Kuznetsova

Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
Bld. 2, 8, Trubetskaya Str., Moscow, Russia, 119991

E-mail: oii@hta-expert.ru

Received 24 Nov 2023

After peer review 06 March 2024

Accepted 15 March 2024

The accessibility and pharmaceutical care coverage are linked to political, economic and managerial decisions. That fact necessitates the evaluation of the state programs results in the field of the drug provision.

The aim of the work was to assess the quantitative results of the implementation of the High-Cost Nosologies program in the Russian Federation from 2008 to 2023 to determine further vectors of its improvement.

Materials and methods. The regulatory base of the work was made up of the Russian Federation legislation in the field of the drug provision. The open sources were used as the research information base for the data collection and analysis: reports of federal and regional executive authorities, materials of specialized conferences, results of published studies.

Results. The drug coverage under the High-Cost Nosologies (VZN) program is provided for 14 nosologies, 11 of which are classified as orphan diseases. Since its implementation, the HCNs program has been expanded twice by including new nosologies in 2019 and 2020. As of 01 October 2023, the number of patients in the Federal Register of VZN was 263 721 people, which was 13.58 times greater compared to 2008. The drug provision is carried out according to the list of 47 INNs. The amount of funding for the program increased from RUB 32 bn in 2008 to RUB 87.96 bn in 2023. The most resource-intensive nosologies include hemophilia, multiple sclerosis and oncohematology.

Conclusion. The main quantitative characteristics of the implementation of the HCNs program and the identified vectors for its further improvement have been analyzed in this study. The results obtained can be used to conduct analytical studies, including the ones within nosologies and nosological groups included in the program, in order to optimize a pharmaceutical care. The focus of improving the implementation of the VZN program is related to the improvement of the legal framework, a patient treatment paradigm and approaches to its financing.

Keywords: drug provision; list of expensive drugs; High-Cost Nosologies Program; evaluation of medical technologies

Abbreviations: VZN – high-cost nosologies; SRP – State Reimbursement Program; MNs – malignant neoplasms; MP – drug provision; FR – federal register; INN – international nonproprietary name; ODs – orphan diseases; VED – list of vital and essential drugs; MS – multiple sclerosis; BOL – budgetary obligations limit; SCs – state contracts.

ВВЕДЕНИЕ

В системе устойчивого развития человеческий капитал занимает центральное место, а его сохранение и прирост – это приоритетная задача социально-экономической политики государства [1–3]. Одной из качественных характеристик человеческого ресурса государства является здоровье населения, потери которого измеряются размером экономического бремени, обусловленного заболеваемостью, временной утратой трудоспособности, уровнем инвалидизации и смертностью, в особенности преждевременной среди экономически активного населения [4–6]. Система мер по охране здоровья направлена на обеспечение качества и доступности медицинской помощи, включая лекарственное обеспечение (ЛО) [7, 8]. Эффективность системы здравоохранения определяется совокупной оценкой трех составляющих: социальной, медицинской и экономической. При этом социальная и медицинская компонента оценки эффективности отрасли являются преобладающими [9]. С точки зрения законодательства лекарственные препараты

(ЛП) являются структурным элементом как оказания медицинской помощи, так и инструментом обеспечения социальных гарантий со стороны государства [10, 11]. То есть сфера обращения лекарственных средств и ЛО может рассматриваться как механизм регулирования достижения целей устойчивого развития по сохранению и приращению человеческого капитала [12].

С позиции медико-социальной значимости и улучшения качества жизни пациентов государственная программа ЛО дорогостоящими ЛП (программа высокочатратных нозологий, ВЗН) является наиболее показательной¹ [13]. Поскольку её создание стало стартом не только для ЛО отдельных категорий граждан с жизнеугрожающими и инвалидизирующими заболеваниями в

¹ Качество жизни пациентов, получающих лечение в программе «7ВЗН» / Доклад Жулева Ю. Форум Всероссийского Союза Пациентов. – Москва, 2018. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://forum-vsp.ru/media/5cjjitck/vserossiiskiiforumzhulev vkachestvozhiznipacientovpoluchayushihlecheniepoprogramme7nozo logii-rassh.pdf>

амбулаторных условиях, но и послужило началом для использования дополнительных источников финансирования медикаментозной терапии наиболее ресурсоёмких нозологий.

Программа ВЗН реализуется в РФ 15 лет. Основанием для её запуска в 2008 году стал Федеральный закон № 132-ФЗ от 17 июля 2007 года. Перед его принятием в 2007 г. по решению Правительства РФ и в соответствии с приказом Минздравсоцразвития РФ (упразднен 21 мая 2012 года) от 09.03.2007 № 159 была проведена подготовка к передаче полномочий по ЛО ВЗН на федеральный уровень: разработан порядок формирования перечня пациентов, нуждающихся в дорогостоящей медикаментозной терапии, определен перечень из 7-ми заболеваний, сформирован список пациентов и определена их численность². В программу были включены злокачественные новообразования (ЗНО) лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей (онкогематология) (Коды МКБ 10 C 82, 83.0, 83.1, 83.3, 83.4, 83.8, 83.9, 84, 84.5, 85, 88.0, 90.0, 91.1, 92.1), рассеянный склероз (РС) (Код МКБ-10 G 35.0), гемофилия (Код МКБ-10 D 66.0, D 67.0, D 68.0), гипопизарный нанизм (Код МКБ-10 E 23.0), муковисцидоз (Код МКБ-10 E 84.0), болезнь Гоше (Код МКБ-10 E 75.5) и состояния после трансплантации органов и тканей (трансплантация)³. Численность пациентов в программе в 2008 г. составила 19 416 пациентов^{4,5}, а объём выделенного финансирования – 32 млрд руб. [14, 15]. ЛО пациентов осуществлялось по перечню из 18 МНН.

За период реализации программа ВЗН дважды расширялась. В 2019 году было включено 5 орфанных заболеваний (ОЗ): гемолитико-уремический синдромом, юношеский артрит с системным началом, мукополисахаридоз I тип, мукополисахаридоз II тип, мукополисахаридоз VI типа. В 2020 году финансовое обеспечение еще 2 ОЗ (апластическая анемия неуточненная, наследственный дефицит факторов II (фибриногена), VII (лабильного) X (Стюарта–Прауэра)) с регионального было передано на федеральный

² Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 09.03.2007 № 159 «О мерах по обеспечению отдельных категорий граждан необходимыми лекарственными средствами».

³ Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 4 апреля 2008 г. № 162н «О порядке ведения Федерального регистра больных гемофилией, муковисцидозом, гипопизарным нанизмом, болезнью Гоше, миелодисплазией, рассеянным склерозом, а также после трансплантации органов и (или) тканей».

⁴ Власов Я.В. Диагностика и динамика количества пациентов, получающих лечение по программе «7 нозологий» // Всероссийский форум «10 лет программе 7 нозологий». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://forum-vsp.ru/10-let/>

⁵ Отчет «Анализ закупочных процедур по программе 14 ВЗН»; в 2017–2021 гг. // Всероссийский союз пациентов. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://vspru.ru/media/1440603/19072021-predsedatelyu-pravitelstva-rossiiskoi-federacii-mv-mishustinu-o-dop-finansirovani-vzn.pdf>

уровень. Таким образом, на данный момент в программу ВЗН включено 14 нозологий, 11 из которых отнесены к категории редких^{6,7}.

К преимуществам ЛО в рамках программы ВЗН можно отнести гарантированное финансирование из федерального бюджета, включая обеспечение организационных расходов на хранение и логистику, централизацию закупок ЛП по отдельному перечню, персонифицированный учет пациентов в федеральном регистре ВЗН (ФР ВЗН), наличия алгоритмов обеспечения вновь выявленных и уже включенных в ФР ВЗН пациентов, защиты заявки на плановый период, мониторинга остатков и возможности их перераспределения. Однако несмотря на существенные плюсы программы ВЗН остаются и ряд проблемных моментов. По данным Всероссийского союза пациентов к наиболее острым вопросам реализации программы ВЗН относятся доступность инновационных ЛП, сохранение и оптимизация схем лечения, а также выделение соразмерного объема финансирования программы^{8,9} [13].

Положительные медико-социальные результаты реализации программы ВЗН, свидетельствует о необходимости дальнейшего совершенствования ее основных инструментов. Для процесса стратегического целеполагания государственных программ, прежде всего, нужно оценить фактические результаты и текущие инструменты их реализации¹⁰.

В связи с этим, целью настоящего исследования стала оценка фактических результатов реализации программы ВЗН для дальнейшего определения потенциальных векторов ее развития. В ходе работы были решены следующие задачи:

- проведен анализ нормативных правовых актов (НПА), регулирующих реализацию программы ВЗН;
- проведен систематический поиск и обзор данных для определения ключевых параметров реализации программы ВЗН;
- проведен анализ фактических результатов реализации программы ВЗН по выбранным ключевым параметрам.

ЦЕЛЬ. Оценка количественных результатов реализации программы высокотратных нозологий в Российской Федерации с 2008 по 2023 гг. для определения дальнейших векторов ее совершенствования.

⁶ Федеральный закон от 03.08.2018 № 299-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

⁷ Федеральный закон от 27.12.2019 № 452-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

⁸ Власов Я.В. Диагностика и динамика количества пациентов, получающих лечение по программе «7 нозологий», 2018.

⁹ Отчет «Анализ закупочных процедур по программе 14 ВЗН»; в 2017–2021 гг.

¹⁰ Федеральный закон от 28.06.2014 № 172-ФЗ (ред. от 17.02.2023) «О стратегическом планировании в Российской Федерации».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на кафедре регуляторных отношений в области обращения ЛП и медицинских изделий Сеченовского Университета в период с 15 января 2023 по 10 ноября 2023 года. Для решения поставленных задач был использован комплекс методов исследования: обзор литературы; выкопировки данных из отчетных форм федеральных и региональных органов исполнительной власти в сфере здравоохранения; контент-анализ нормативных документов, регулирующих ЛО пациентов с редкими и жизнеугрожающими заболеваниями. Нормативную базу исследования составило законодательство Российской Федерации, регулирующее отношения в сфере ЛО^{11,12,13}. Поиск нормативных правовых актов осуществлялся в Электронном периодическом справочнике «Система ГАРАНТ» (ЭПС «Система ГАРАНТ»). В качестве источников информации для определения ключевых параметров реализации программы ВЗН использовались сведения из отчетов Счетной палаты РФ¹⁴, отчетности Федерального Казначейства РФ об исполнении бюджета за 2008–2021 гг.¹⁵, отчетности о выполнении показателей эффективности деятельности ФКУ «Федеральный центр планирования и организации лекарственного обеспечения граждан» Минздрава России (ФКУ «ФЦПИЛО»)¹⁶, региональные отчеты по реализации

программы 14 ВЗН¹⁷. Поиск опубликованных результатов исследований по данной тематике был осуществлен в научной электронной библиотеке e-library.ru [15–17]. Были изучены размещенные в сети Internet материалы Всероссийского союза пациентов^{18,19}, доклады экспертов на профильных отраслевых мероприятиях^{20,21}. Анализировались сведения из Единой информационной системы закупок (ЕИС Закупки). В работе также использовались ранее неопубликованные собственные данные.

Для анализа фактических результатов реализации программы ВЗН была создана база данных в программе MS Excel 2019 со следующими параметрами: сведения о динамике численности пациентов, включенных в ФР ВЗН, численности пациентов, включенных в заявку на ЛО, об объемах финансового обеспечения и исполнения бюджета программы ВЗН, структуре численности пациентов, включенных в ФР ВЗН, динамике численности пациентов в разрезе нозологий, численности пациентов, получающих ЛО в разрезе нозологий, структуре ЛО пациентов в рамках программы ВЗН в разрезе МКБ-10 и долевого структуре закупок ЛП в рамках соответствующих МНН внутри нозологий. Интерпретацию и анализ полученных результатов проводили с помощью программы StatTech v. 4.1.1 (ООО «Статтех», Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Регулирование лекарственного обеспечения пациентов с редкими и жизнеугрожающими заболеваниями: история вопроса и текущий статус

Трансформация фармацевтического рынка под влиянием экономико-политической ситуации в Российской Федерации в конце 80-х – начале 90-х гг. привели к фундаментальным изменениям институциональной среды регулирования ЛО [18, 19]. Постановлением Правительства РСФСР от

¹¹ Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 13.06.2023) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

¹² Постановление Правительства РФ от 26.11.2018 № 1416 (ред. от 15.02.2023) «О порядке организации обеспечения лекарственными препаратами лиц, больных гемофилией, муковисцидозом, гипофизарным нанизмом, болезнью Гоше, злокачественными новообразованиями лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей, рассеянным склерозом, гемолитико-уремическим синдромом, юношеским артритом с системным началом, мукополисахаридозом I, II и VI типов, апластической анемией неуточненной, наследственным дефицитом факторов II (фибриногена), VII (лабильного), X (Стюарта–Прауэра), лиц после трансплантации органов и (или) тканей (с изменениями и дополнениями)».

¹³ Постановление Правительства РФ от 28.08.2014 № 871 (ред. от 03.12.2020) «Об утверждении Правил формирования перечней лекарственных препаратов для медицинского применения и минимального ассортимента лекарственных препаратов, необходимых для оказания медицинской помощи».

¹⁴ Катренко В.С. Отчет о результатах экспертно-аналитического мероприятия «Анализ эффективности использования государственных средств, направляемых на реализацию обязательств государства по лекарственному обеспечению отдельных категорий граждан в 2011–2012 годах» // Счетная Палата РФ. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://ach.gov.ru/upload/iblock/f00/fj405se3rz3in7sdmxf19153sxx6bm96.pdf>

¹⁵ Федеральное казначейство официальный сайт Казначейства России. Отчетность по исполнению бюджета. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://roskazna.gov.ru/ispolnenie-byudzheta/>

¹⁶ Отчеты о выполнении показателей эффективности деятельности учреждения // ФКУ «Федеральный центр планирования и организации лекарственного обеспечения граждан» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://fcpilo.minzdrav.gov.ru/?page_id=4029

¹⁷ Отчеты о реализации программы 14 ВЗН // Министерство Здравоохранения Удмуртской Республики. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://mzur.ru/activity/support/14vzn-reports/>

¹⁸ Власов Я.В. Диагностика и динамика количества пациентов, получающих лечение по программе «7 нозологий», 2018.

¹⁹ Отчет «Анализ закупочных процедур по программе 14 ВЗН в 2017–2021 гг.»

²⁰ Максимкина Е.А. Лекарственное обеспечение пациентов, страдающих редкими (орфанными) заболеваниями, в рамках исполнения программы высокотратных нозологий (ВЗН) и деятельности Фонда «Круга добра». Материалы Круглого стола на тему: «Итоги и перспективы развития организации медико-социальной помощи пациентам, страдающим редкими (орфанными) заболеваниями, в Российской Федерации» // Комитет Государственной Думы по охране здоровья. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://komitet2-2.km.duma.gov.ru/Novosti-Komiteta/item/28214556/>

²¹ Шуляк С. Программа ВЗН глазами аналитиков // Всероссийский форум «10 лет программе 7 нозологий». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://forum-vsp.ru/10-let/>

26.12.1991 г. № 68²² жизненно необходимые и важнейшие лекарственные средства были отнесены к приоритетной продукции, а Министерству здравоохранения РСФСР было поручено сформировать перечень таких ЛП. В рамках данного постановления была также утверждена Государственная программа по улучшению ЛО и развитию фармацевтической промышленности в РСФСР (программа). В первую очередь было запланировано расширение перечня льготных категорий граждан с хроническими заболеваниями, получающими ЛП на бесплатной основе. Данные положения были закреплены в Постановлении Правительства РФ от 30.06.1994 г. № 890 «О государственной поддержке развития медицинской промышленности и улучшении обеспечения населения и учреждений здравоохранения лекарственными средствами и изделиями медицинского назначения». Помимо этого, в программе закладывались принципы государственного регулирования цен на жизненно необходимые и важнейшие лекарственные препараты (ЖНВЛП).

В 1995 г. был принят Федеральный закон от 24.11.1995 № 181-ФЗ «О социальной защите инвалидов в Российской Федерации», согласно которому «оказание квалифицированной медицинской помощи инвалидам, включая лекарственное обеспечение, осуществляется бесплатно или на льготных условиях» в соответствии с нормами права, установленными в законодательстве. Принятие данного закона стало началом реализации программы дополнительного лекарственного обеспечения (ДЛО). Также в соответствии с Федеральным законом от 17.07.1999 г. № 178-ФЗ «О государственной социальной помощи» государственная социальная помощь гарантирована отдельным категориям граждан в виде набора социальных услуг, в который входят и ЛП, как жизненно необходимые товары. Несмотря на принятые НПА из-за дефицита финансирования, фактическая реализация программы ДЛО началась только в 2005 г. По этой же причине с 2007 г. на уровне Правительства РФ было принято решение о разделении средств федерального бюджета, направляемых на ЛО льготных категорий граждан, на два потока²³:

²² Постановление Правительства РСФСР от 26.12.1991 № 68 «О неотложных мерах по обеспечению населения и учреждений здравоохранения РСФСР лекарственными средствами в 1992 году и развитию фармацевтической промышленности в 1992–1995 годах» (вместе с «Государственной программой РСФСР улучшения лекарственного обеспечения и развития фармацевтической промышленности в 1992–1995 годах»).

²³ Катренко В.С. Отчет о результатах экспертно-аналитического мероприятия «Анализ эффективности использования государственных средств, направляемых на реализацию обязательств государства по лекарственному обеспечению отдельных категорий граждан в 2011–2012 годах».

– средства федерального бюджета на финансирование централизованной закупки лекарственных средств, утвержденных распоряжением Правительства РФ от 02.10.2007 № 1328-р «О перечне централизованнокупаемых за счет федерального бюджета лекарственных средств»;

– средства федерального бюджета в виде субвенций и трансфертов субъектам РФ для реализации полномочий по ЛО отдельных категорий граждан, оставивших за собой право на получение ЛП.

Согласно действующему законодательству, ЛО осуществляется в соответствии «со стандартами медицинской помощи в объеме не меньшем, чем это предусмотрено перечнем ЖНВЛП²⁴. Первый перечень ЖНВЛП был сформирован в 1992 г. в условиях экономического кризиса, что потребовало от государства принятия мер для обеспечения не только ценовой доступности ЛП, в особенности незащищенных слоев населения и льготных категорий граждан, но и мер по развитию локальной фармацевтической промышленности. Исходя из НПА тех лет, можно сделать вывод о том, что в основу формирования перечня ЖНВЛП было положено три принципа совершенствования ЛО: производственный, принцип реализации прав граждан на социальную помощь и принцип государственного регулирования цен на ЛП, которые включаются в данный перечень. Нормативная правовая база, регулирующая формирование перечня ЖНВЛП, разрабатывалась в течение 20 лет и продолжает совершенствоваться до сих пор. За этот период в нормативном поле произошел качественный переход от методических рекомендаций Формулярного комитета по формированию перечня ЖНВЛП до уровня Постановления Правительства, в котором утверждены порядок и процедура формирования нескольких перечней в рамках системы ЛО населения [20]. В 2014 году Постановлением Правительства № 871 были установлены единые принципы формирования перечней ЛП для медицинского применения: порядок и процедура их формирования, критерии включения ЛП в каждый из перечней, интегральные шкалы по которым оцениваются сведения о преимуществах предлагаемого к включению ЛП. Перечень ЖНВЛП стал базовым для формирования перечня дорогостоящих ЛП²⁵. Критерии формирования программы ВЗН и перечня дорогостоящих ЛП не закреплено в правовом поле, в связи с чем в рамках данного исследования было целесообразно определить их существенные характеристики (табл. 1).

²⁴ Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 13.06.2023) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

²⁵ Постановление Правительства РФ от 28.08.2014 № 871 (ред. от 03.12.2020) «Об утверждении Правил формирования перечней лекарственных препаратов для медицинского применения и минимального ассортимента лекарственных препаратов, необходимых для оказания медицинской помощи».

**Таблица 1 – Сущностные характеристики параметров программы ВЗН
и перечня дорогостоящих лекарственных препаратов**

Параметр	Характеристика параметра	Краткое описание
Критерии включения нозологий в программу ВЗН	<p>Медицинский аспект:</p> <ul style="list-style-type: none"> – жизнеугрожающее, редкое (орфанное) заболевание; – наличие патогенетической терапии; – идентифицируемая когорта пациентов. <p>Финансовый аспект:</p> <ul style="list-style-type: none"> – значительная нагрузка на бюджет субъекта РФ; – возможность экономии при централизации закупок; – возможность перераспределения ЛП. 	<p>Порядок и процедура включения нозологий в программу ВЗН не регламентированы. Решение о включении в перечень заболеваний, относящихся к ВЗН, принимается на уровне Правительства РФ (п. 21 ст. 14, гл. 3, п. 21 введен Федеральным законом от 26.04.2016 № 112-ФЗ; в ред. Федеральных законов от 03.08.2018 № 299-ФЗ, от 27.12.2019 № 452-ФЗ; п. 7 ст. 44; п. 10, ст. 44, гл. 5 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 28.04.2023) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»). В соответствии со ст. 104 Конституции РФ с законодательной инициативой о его расширении могут выступать Президент РФ, Совет Федерации, Правительство РФ, законодательные органы субъектов РФ, депутаты Государственной Думы.</p>
Источник финансового обеспечения	<p>Средства федерального бюджета:</p> <ul style="list-style-type: none"> – в отношении взрослых в возрасте 18 лет и старше – за счет бюджетных ассигнований, предусмотренных в федеральном бюджете уполномоченному федеральному органу исполнительной власти; – в отношении детей в возрасте от 0 до 18 лет за счет бюджетных ассигнований, предусмотренных в федеральном бюджете уполномоченному федеральному органу исполнительной власти, для нужд Фонда поддержки детей с тяжелыми жизнеугрожающими и хроническими заболеваниями, в том числе редкими (орфанными) заболеваниями «Круг добра». 	<p>С 2021 г. закупки препаратов по перечню дорогостоящих ЛП осуществляет ФКУ «Федеральный центр планирования и организации лекарственного обеспечения граждан» Минздрава России (ФКУ ФЦПИЛО).</p>
Средства учета контингента и лекарственной терапии	Федеральный регистр ВЗН.	<p>Порядок ведения ФР ВЗН предусмотрен Постановлением Правительства РФ от 26.11.2018 № 1416²⁶ п. 7, ст. 44, № 323-ФЗ, уточняются категория граждан, имеющих право на льготное ЛО.</p>
Момент возникновения права на льготное ЛО	Внесение сведений о пациенте в Федеральный регистр ВЗН.	<p>п. 8, ст. 44, гл. 5 Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 28.04.2023) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».</p>
Характер закупок	Централизованные закупки.	<p>В соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 26 июня 2021 г. № 1025 «О внесении изменений в некоторые акты Правительства Российской Федерации по вопросам совершенствования лекарственного обеспечения граждан» ФКУ «ФЦПИЛО» Минздрава России осуществляет функции по организации и проведению закупок ЛП для медицинского применения за счет средств федерального бюджета.</p>
Критерии включения препарата в перечень дорогостоящих ЛП	<ul style="list-style-type: none"> – препарат должен быть включен в перечень ЖНВЛП; – препарат применяется для патогенетического лечения заболевания, которое отнесено к высокозатратной нозологии; – препарат не должен увеличивать объем бюджетных ассигнований, предусмотренных в федеральном бюджете на соответствующий финансовый год и плановый период. 	<p>Правила и процедура формирования перечней ЛП для медицинского применения регулируется Постановлением Правительства Российской Федерации от 28.08.2014 № 871н ЛП, предлагаемый к включению в данный перечень, должен быть зарегистрирован на территории РФ, включен в перечень ЖНВЛП и обладать преимуществами по сравнению с аналогами уже, включенными в данный перечень.</p>

Примечание: * принято в связи с расширением с 2019 года программы высокозатратных технологий.

²⁶ Постановление Правительства РФ от 26.11.2018 № 1416 (ред. от 15.02.2023).

Таблица 2 – Динамика численности пациентов в разрезе нозологий, которые включены в программу ВЗН, за 2010 г. и в период с 2018 по 2023 гг.

Нозология	Численность пациентов, включенных в ФР ВЗН в год (абс., %)						
	2010	2018	2019	2020	2021	2022*	2023*
ЗНО лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей	30 754 (42,89%)	85 335 (47,13%)	88 327 (46,43%)	99 886 (46,33%)	109 026 (45,60%)	108 833 (44,49%)	115 698 (43,87%)
РС	25 048 (34,94%)	63 455 (35,05%)	66 493 (34,95%)	75 114 (34,84%)	83 884 (35,08%)	87 287 (35,69%)	95 316 (36,14%)
Трансплантация	5 060 (7,06%)	13 810 (7,63%)	15 077 (7,92%)	17 474 (8,10%)	19 706 (8,24%)	20 246 (8,28%)	22 659 (8,59%)
Гемофилия	6 069 (8,46%)	9 434 (5,21%)	9 413 (4,95%)	10 302 (4,78%)	11 139 (4,66%)	11 684 (4,78%)	12 125 (4,60%)
Гипофизарный нанизм	2 704 (3,77%)	5 142 (2,84%)	4 914 (2,58%)	6 460 (3,00%)	6 918 (2,89%)	7 411 (3,03%)	8 259 (3,13%)
Муковисцидоз	1 906 (2,66%)	3 496 (1,93%)	3 651 (1,92%)	3 920 (1,82%)	4 246 (1,78%)	4 429 (1,81%)	4 511 (1,71%)
Юношеский артрит с системным началом	–	2 (0,001%)	1 346 (0,71%)	1 414 (0,66%)	1 666 (0,70%)	1 811 (0,74%)	1 927 (0,73%)
Апластическая анемия неуточненная	–	–	–	–	1 057 (0,44%)	1 280 (0,52%)	1 483 (0,56%)
Гемолитико-уремический синдром	–	6 (0,003%)	398 (0,21%)	380 (0,18%)	463 (0,19%)	538 (0,22%)	600 (0,23%)
БГ	156 (0,22%)	364 (0,20%)	361 (0,19%)	398 (0,18%)	438 (0,18%)	457 (0,19%)	474 (0,18%)
Наследственный дефицит факторов II (фибриногена), VII (лабильного), X (Стюарта-Прауэра)	–	–	–	–	253 (0,11%)	313 (0,13%)	374 (0,14%)
Мукополисахаридоз, I тип	–	1 (0,001%)	11 (0,06%)	123 (0,06%)	139 (0,06%)	112 (0,05%)	94 (0,04%)
Мукополисахаридоз, II тип	–	8 (0,004%)	98 (0,05%)	98 (0,05%)	104 (0,04%)	143 (0,06%)	146 (0,06%)
Мукополисахаридоз, VI тип	–	–	53 (0,03%)	47 (0,02%)	51 (0,02%)	54 (0,02%)	55 (0,02%)
Всего	71 697	181 053	190 250	215 615	239 090	244 600	263 721

Примечание: * – за 2022 и 2023 гг. данные о численности пациентов в ФР ВЗН приведены на октябрь соответствующего года. ЗНО – злокачественные новообразования; РС – рассеянный склероз; БГ – болезнь Гоше.

Таблица 3 – Численность пациентов без сочетанных патологий*, включенных в ФР ВЗН на 01.10.2023, в разрезе нозологических групп и возраста

Нозология	Численность пациентов без сочетанных нозологий, включенных в ФР ВЗН в 2023 г., абсолютный показатель			Долевая структура пациентов без сочетанных патологий, включенных в ФР ВЗН, по возрасту в %	
	Дети до 18 лет	Взрослые	Всего	Дети до 18 лет	Взрослые
	ЗНО лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей	367	115 275	115 642	0,32%
РС	897	93 899	94 796	0,95%	99,05%
Трансплантация	2 254	20 412	22 666	9,94%	90,06%
Гемофилия	3 888	8 049	11 937	32,57%	67,43%
Гипофизарный нанизм	6 035	2 493	8 528	70,77%	29,23%
Муковисцидоз	3 091	1 273	4 364	70,83%	29,17%
Юношеский артрит с системным началом	1 354	598	1 952	69,36%	30,64%
Апластическая анемия неуточненная	185	1 354	1 539	12,02%	87,98%
Гемолитико-уремический синдром	338	209	547	61,79%	38,21%
БГ	114	346	460	24,78%	75,22%
Наследственный дефицит факторов II (фибриногена), VII (лабильного), X (Стюарта-Прауэра)	209	219	428	48,83%	51,17%
Мукополисахаридоз, I тип	69	18	87	79,31%	20,69%
Мукополисахаридоз, II тип	111	25	136	81,62%	18,38%
Мукополисахаридоз, VI тип	34	24	58	58,62%	41,38%
Всего без сочетанных нозологий	18 946	244 194	263 140	7,20%	92,80%

Примечание: * в ФР ВЗН на 01.10.2023 было включен 581 пациент с сочетанными нозологиями. ЗНО – злокачественные новообразования; РС – рассеянный склероз; БГ – болезнь Гоше.

**Таблица 4 – Динамика заявленной потребности на удовлетворение
 в лекарственном обеспечении с 2021 по 2023 гг. в разрезе нозологий**

Нозология	2021		2022		2023	
	Расходы, млрд руб.	Доля, %	Расходы, млрд руб.	Доля, %	Расходы, млрд руб.	Доля, %
Гемофилия	20,556	28,07%	23,744	26,99%	25,455	28,94%
РС	17,763	24,26%	24,254	27,57%	24,185	27,50%
ЗНО лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей	17,638	24,09%	20,542	23,35%	18,092	20,57%
Гемолитико-уремический синдром	4,530	6,19%	5,707	6,49%	6,178	7,02%
Мукополисахаридоз II типа	3,663	5,00%	3,849	4,38%	3,728	4,24%
Трансплантация	2,016	2,75%	2,493	2,83%	2,303	2,62%
ЮРА	1,878	2,56%	1,768	2,01%	2,047	2,33%
Муковисцидоз	1,543	2,11%	1,529	1,74%	1,502	1,71%
БГ	1,377	1,88%	1,518	1,73%	1,501	1,71%
Мукополисахаридоз VI типа	1,375	1,88%	1,518	1,73%	1,405	1,60%
Мукополисахаридоз I типа	0,565	0,77%	0,694	0,79%	0,737	0,84%
Гипофизарный нанизм	0,183	0,25%	0,188	0,21%	0,206	0,23%
Апластическая анемия неуточненная	0,125	0,17%	0,107	0,12%	0,110	0,13%
Наследственный дефицит факторов II (фибриногена), VII (лабильного), X (Стюарта-Прауэра)	0,008	0,01%	0,05	0,06%	0,51	0,58%
Всего, млрд руб.	73,22	100%	87,96	100%	87,96	100%

Примечание: сводная таблица составлена авторами на основании сведений из Единой информационной системы закупок; ЗНО – злокачественное новообразование; РС – рассеянный склероз; ЮРА – ювенильный ревматоидный артрит; БГ – болезнь Гоше.

**Таблица 5 – Ранжирование нозологий программы ВЗН с учётом численности и структуры пациентов
 и объёма финансового обеспечения в 2023 г.**

Нозология	Ранг			
	по численности пациентов в ФР ВЗН, <i>n</i>	по численности пациентов в заявке, <i>n</i>	по объёму финансового обеспечения в общих расходах на программу, <i>n</i>	по доле взрослых пациентов, <i>n</i>
ЗНО лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей (онкогематология)	1	2	3	1
РС	2	1	2	2
Трансплантация	3	3	6	3
Гемофилия	4	4	1	6
Гипофизарный нанизм	5	5	13	11
Муковисцидоз	6	6	8	12
Юношеский артрит с системным началом	7	7	7	10
Апластическая анемия неуточненная	8	8	14	4
Гемолитико-уремический синдром	9	10	4	9
БГ	10	9	9	5
Наследственный дефицит факторов II (фибриногена), VII (лабильного), X (Стюарта-Прауэра)	11	11	12	7
Мукополисахаридоз, I тип	13	13	5	14
Мукополисахаридоз, II тип	12	12	11	13
Мукополисахаридоз, VI тип	14	14	10	8

Примечание: ЗНО – злокачественные новообразования; РС – рассеянный склероз; БГ – болезнь Гоше.

Таблица 6 – Динамика расходов на 1 льготополучателя в разрезе нозологий на уровне субъекта РФ в 2020–2022 гг. (на примере данных о реализации программы 14 ВЗН в Республике Удмуртия)

Нозология	Расходы, затраченные на 1 льготополучателя, руб.								
	2020			2021			2022		
	Средняя сумма расходов	Минимальная сумма расходов	Максимальная сумма расходов	Средняя сумма расходов	Минимальная сумма расходов	Максимальная сумма расходов	Средняя сумма расходов	Минимальная сумма расходов	Максимальная сумма расходов
Гемолитико-уремический синдром	5 188 601,70	3 003 927,30	7 373 276,10	6 554 023,20	–	6 554 023,20	12 925 990,20	10 377 203,40	18 023 563,80
Мукополисахаридоз тип II	19 074 627,00	–	19 074 627,00	19 837 612,08	–	19 837 612,08	17 930 149,38	–	17 930 149,38
Юношеский артрит с системным началом	1 026 797,57	57 978,26	6 102 939,00	645 821,25	44 995,32	1 109 625,00	1 314 600,04	674 929,80	1 362 201,60
Онкогематология	443 160,00	12 097,80	476 511,04	461 462,99	12 359,70	486 045,63	575 726,35	182 482,20	586 470,73
Муковисцидоз	327 345,73	272 308,28	412 959,55	350 164,76	331 320,00	381 572,68	458 371,64	397 584,00	500 455,38
Гемофилия	2 134 154,71	192 959,28	2 179 298,79	2 591 382,42	2 020 806,12	2 803 310,76	2 470 798,90	1 787 210,30	2 812 593,20
РС	274 685,31	196 215,04	278 975,57	287 755,52	196 105,88	292 636,50	295 409,96	166 676,68	302 094,54
Гипофизарный нанизм	46 467,77	–	46 467,77	43 006,16	–	43 006,16	31 293,55	–	31 293,55
БГ	2 153 779,20	–	2 153 779,20	2 183 328,00	–	2 183 328,00	2 363 904,00	–	2 363 904,00
Трансплантация органов и(или) тканей	1 505,05	7 638,58	1 590,67	1 389,29	6 150,21	1 488,38	1 268,24	74 039,21	1 301,68

Примечание: РС – рассеянный склероз; БГ – болезнь Гоше. Данные адаптированы авторами из источника²⁷.

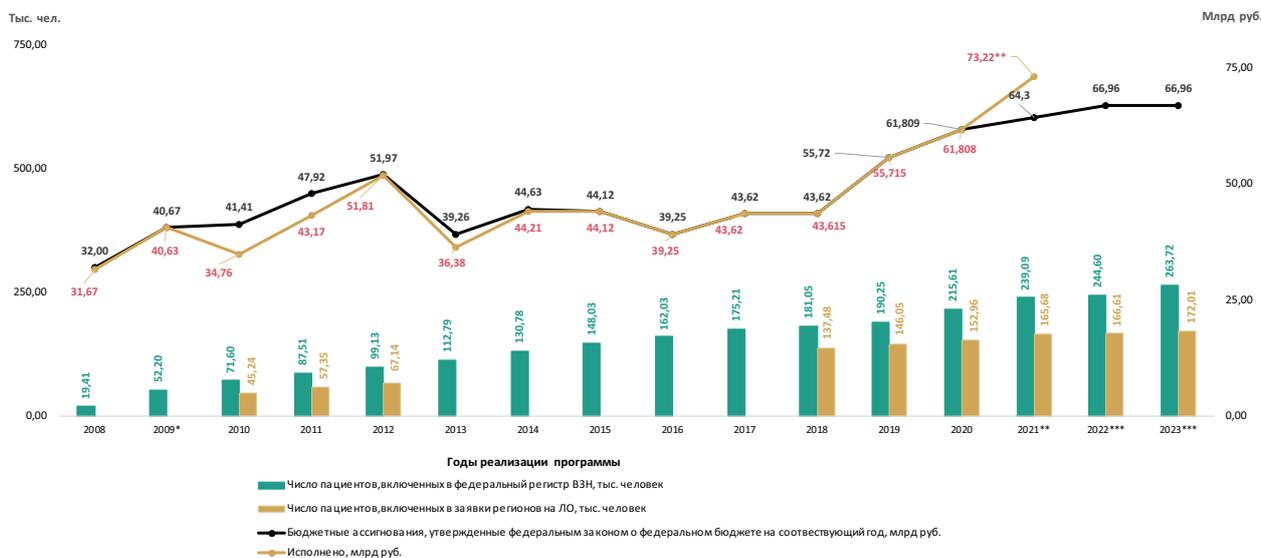


Рисунок 1 – Динамика численности пациентов в программе ВЗН, объема бюджетных ассигнований из федерального бюджета программы и исполнения её бюджета с 2008 по 2023 гг.

Примечание: * – за 2009 и 2014 гг. приведены сведения о бюджетных ассигнованиях, утвержденные сводной бюджетной росписью с учетом изменений; ** – за 2021 г. – с учетом дополнительно выделенных ФКУ «ФЦПило» 8,90 млрд руб.; *** – за 2022 и 2023 гг. данные о численности пациентов в ФР ВЗН приведены на октябрь соответствующего года. Представленный рисунок составлен авторами по данным^{28,29,30,31} и собственным результатам.

²⁷ Отчеты о реализации программы 14 ВЗН // Министерство Здравоохранения Удмуртской Республики.

²⁸ Федеральное казначейство официальный сайт Казначейства России. Отчетность по исполнению бюджет.

²⁹ Катренко В.С. Отчет о результатах экспертно-аналитического мероприятия «Анализ эффективности использования государственных средств, направляемых на реализацию обязательств государства по лекарственному обеспечению отдельных категорий граждан в 2011–2012 годах» // Счетная Палата РФ. – [Электронный ресурс].

³⁰ Отчеты о выполнении показателей эффективности деятельности учреждения // ФКУ «Федеральный центр планирования и организации лекарственного обеспечения граждан» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

³¹ Отчеты о реализации программы 14 ВЗН // Министерство Здравоохранения Удмуртской Республики.

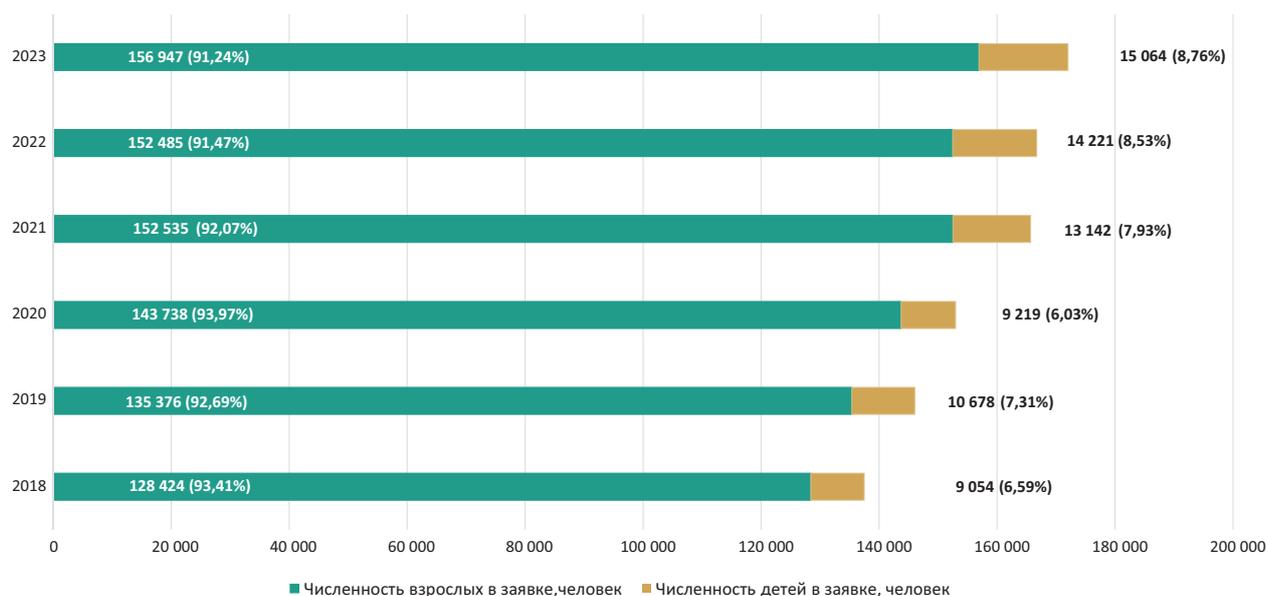


Рисунок 2 – Численность взрослых и детей в абсолютных значениях и процентном соотношении в заявке на ЛО в 2018 г. и после включения в программу новых нозологий



Рисунок 3 – Объем лекарственного обеспечения на 1 пациента с 2011 по 2023 гг.

Примечание: * – с учётом средств Фонда «Круг Добра»; ** – объем ЛО в расчёте на 1 пациента рассчитан в ценах 2023 г. с учётом ставки дисконтирования 13,9% [20].

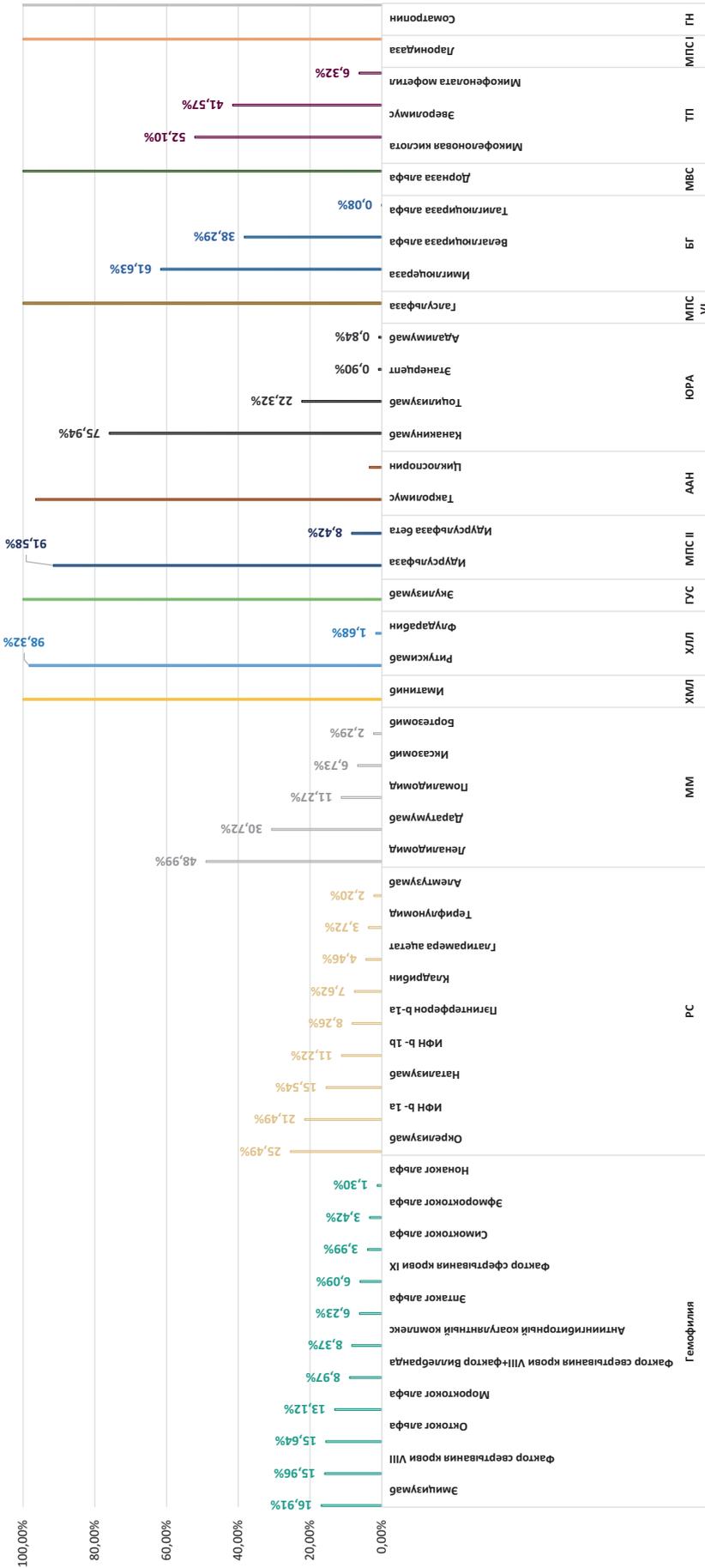


Рисунок 4 – Долевая структура расходов на ЛО пациентов в рамках программы ВЗН в разрезе МКБ-10 и Доли в закупках в рамках соответствующих МНН внутри каждой нозологии в 2021–2022 гг.

Примечание: РС – рассеянный склероз; ММ – множественная миелома; ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз; ХЛЛ – хронический лимфолейкоз; ГС – гемолитико-уремический синдром; МПС II – мукополисахаридоз II типа; ААН – апластическая анемия неуточненная; ЮРА – юношеский артрит с системным началом; МПС IV – мукополисахаридоз IV типа; БГ – болезнь Гоше; МВС – муковисцидоз; ТП – трансплантация; МПС I – мукополисахаридоз I типа; ГН – гипоплазия нанизм. Информация адаптирована из источника³².

³² Орфан-зона: как и почему госпрограмма «14 ВЗН» делится подопечными с госфондом «Круг добра». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://vademec.ru/article/orfan-zona_kak_i_pochemu_gosprogramma_14_vzn_delitsya_podopечными_s_gosfondom_krug_dobra/

Численность пациентов и объем бюджетных ассигнований на лекарственное обеспечение пациентов с редкими и жизнеугрожающими заболеваниями в рамках программы 14 ВЗН

В 2008 г. на ЛО 19,41 тыс. пациентов объемом выделенных бюджетных средств составлял 32 млрд руб.³³ [14], к 2021 г. объем финансирования увеличился в 2 раза – до 64,3 млрд руб., а общая численность пациентов в ФР ВЗН достигла 239,09 тыс. человек. К 01.10.2022 г. в ФР ВЗН насчитывалось уже 244,60 тыс. человек, к 01.10.2023 г. их численность увеличилась до 263,72 тыс. человек (+9,33%) с учетом сочетанных нозологий³⁴. С 2022 по 2024 гг. на финансирование программы ВЗН в бюджете заложено по 66,96 млрд руб. ежегодно³⁵. Динамика численности пациентов, объема бюджетных ассигнований из федерального бюджета и исполнение бюджета программы ВЗН приведены на рисунке 1.

Программа 14 ВЗН в разрезе нозологий: динамика численности, распределение пациентов по возрасту

Совокупный среднегодовой темп роста численности пациентов для 7 нозологий, которые изначально были включены в программу ВЗН, в период с 2010 по 2023 гг. составил 10,54% и варьировал от 6,85% при гипопизарном нанизме и до 12,22% при трансплантации. К основным нозологиям, за счет которых произошел прирост численности пациентов, относятся онкогематология и РС – на их долю приходится более 80% пациентов в ФР ВЗН. Совокупный среднегодовой темп роста численности пациентов с ОЗ составил 8,16% с 2010 по 2023 гг. В 2022 г. в структуре общей численности пациентов с ОЗ 83,32% приходилось на гемофилию (41,39%), гипопизарный нанизм (26,25%) и муковисцидоз (15,69%). В 2023 г. также более 80% (82,85%) пациентов с ОЗ приходилось на пациентов с этими редкими патологиями. Соотношение орфанных и неорфанных заболеваний в 2022 г. составляло 11,54 и 88,46%, в 2023 г. – 11,39 и 88,61% соответственно, что свидетельствует о сохранении данной тенденции и в текущем году. В таблице 2 приведена динамика численности пациентов в разрезе нозологий, которые включены в ФР ВЗН.

В 2018 г. численность детей, включенных в ФР ВЗН составляла 9,05 тыс. человек или 6,59%. За счёт включения в программу ВЗН в 2019 и 2020 гг. нозологий с высокой долей распространённости

³³ Максимкина Е.А. Лекарственное обеспечение пациентов, страдающих редкими (орфанными) заболеваниями, в рамках исполнения программы высокотратных нозологий (ВЗН) и деятельности Фонда «Круга добра». Материалы Круглого стола на тему: «Итоги и перспективы развития организации медико-социальной помощи пациентам, страдающим редкими (орфанными) заболеваниями, в Российской Федерации».

³⁴ Там же.

³⁵ Федеральное казначейство официальный сайт Казначейства России. Отчетность по исполнению бюджета.

в детской популяции, их численность в 2023 г. увеличилась до 15,06 тыс. человек (8,76%). Прирост численности детей составил 6,01 тыс. человек в абс. показателях и в процентном соотношении +66,38%.

Общее число детей без сочетанных патологий, включенных в ФР ВЗН, на 01.10.2023 г. составила 18,94 тыс. человек, из них доля пациентов с ОЗ составила 81,43% или 15 428 человек. Среди взрослых, наоборот, доля пациентов без сочетанных патологий, включенных в ФР ВЗН, с неорфанными заболеваниями составляет 94%. Для большинства нозологий характерна высокая доля взрослых пациентов, получающих ЛО за счет средств федерального бюджета. В таблице 3 приведена численность пациентов без сочетанных нозологий, включенных в ФР ВЗН в 2023 г., в разрезе нозологических групп и возраста льготополучателей.

Численность взрослых и детей в абсолютных значениях и процентном соотношении в заявке на ЛО в 2018 г. и после включения в программу новых нозологий приведена на рисунке 2.

С 2018 по 2023 гг. соотношение взрослых и детей в программе в среднем составило 92,41% (144 924±11 184) и 7,59% (11 897±2 598) соответственно.

С учетом возрастной структуры пациентов, включенных в заявку на ЛО, нозологические группы, включенные в программу ЛО, можно классифицировать следующим образом:

- нозологии с долей взрослых пациентов, получающих терапию от 10 до 20% от общей численности пациентов, получающих ЛО – мукополисахаридоз II тип (1);
- нозологии с долей взрослых пациентов, получающих терапию от 20 до 40% от общей численности пациентов, получающих ЛО – гипопизарный нанизм, мукополисахаридоз I типа, муковисцидоз юношеский артрит с системным началом (4);
- нозологии с долей взрослых пациентов, получающих терапию, от 40 до 70% от общей численности пациентов на льготном ЛО – гемофилия, мукополисахаридоз VI тип, наследственный дефицит факторов II (фибриногена), VII (лабильного), X (Стюарта–Прауэра) (3);
- нозологии с долей взрослых пациентов, свыше 70% от общей численности пациентов, получающих ЛО – РС, онкогематология, болезнь Гоше, апластическая анемия неуточненная, трансплантация (6).

Потребность в лекарственном обеспечении и структура централизованных закупок в рамках программы 14 ВЗН

До 2021 г. закупки ЛП по программе ВЗН осуществлялись централизованно Минздравом России за счёт средств федерального бюджета на

основании региональных заявок. Распоряжением Правительства РФ с 2021 г. эта функция возложена на ФКУ «ФЦПиЛО»³⁶. Лимит бюджетных обязательств (ЛБО) на 2021 г. составил 64,31 млрд руб. до ФКУ «ФЦПиЛО» было доведено 7,129 млрд руб. и дополнительно выделено 8,90 млрд руб. ЛБО на 2022 г. увеличился до 66,96 млрд руб. ФКУ «ФЦПиЛО» было заключено 147 государственных контрактов (ГК) на сумму 58,68 млрд руб. и 6 дополнительных соглашений по многолетним ГК от 2021 г. на поставку в 2022 г. ЛП по 3 МНН на сумму 8,28 млрд руб. В целях бесперебойного ЛО пациентов, страдающих ВЗН, в IV квартале 2021 года ФКУ «ФЦПиЛО» произвело закупку ЛП за счёт средств и согласно потребности 2022 года. Как и в 2022 г. для бесперебойного ЛО и формирования переходящего остатка ЛП на 2023 год, во II квартале 2022 года ФКУ «ФЦПиЛО» были закуплены медикаменты за счёт средств бюджета, выделенного на 2023 г., согласно части утвержденной потребности 2022 года. ЛБО на 2023 год составил 87,96 млрд руб., в том числе ЛБО на обеспечение взрослого населения – 66,96 млрд руб. и на обеспечение детей в рамках передачи полномочий фонду «Круг добра» 21 млрд руб.^{37,38}. Проведение опережающих закупок, с одной стороны, связано с дефицитом выделяемых средств на реализацию программы ВЗН, с другой – обусловлено внедрением в практику закупки ЛП через ФКУ «ФЦПиЛО» в рамках долгосрочных контрактов. С 1 января 2023 года ЛО детей с ОЗ финансируется из средств, полученных от повышенной ставки налогообложения и выделенных Фонду «Круг добра». Высвобождение ресурсов федерального бюджета прежде всего осуществляется за счёт нозологий с высокой численностью детей, к которым относятся гипопизарный нанизм, гемофилия, муковисцидоз, наследственный дефицит факторов крови.

За период с 2008 по 2023 гг. прирост численности лиц, участвующих в программе ВЗН, составил 244,31 тыс. человек (+1258%), одновременно с этим объём выделенных ЛБО на 1 пациента в месяц практически не изменился: в ценах 2023 г. прирост составил +6,10% или 1,29 тыс. руб. Медиана расходов на 1 пациента в месяц за анализируемый период составила 10 446,12 руб. [Q1 8 846,29;

³⁶ Распоряжение Правительства РФ от 28.10.2020 № 2798-р «О создании федерального казенного учреждения «Федеральный центр планирования и организации лекарственного обеспечения граждан»».

³⁷ Отчеты о выполнении показателей эффективности деятельности учреждения // ФКУ «Федеральный центр планирования и организации лекарственного обеспечения граждан» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

³⁸ Максимкина Е.А. Лекарственное обеспечение пациентов, страдающих редкими (орфанными) заболеваниями, в рамках исполнения программы высокотратных нозологий (ВЗН) и деятельности Фонда «Круга добра». Материалы Круглого стола на тему: «Итоги и перспективы развития организации медико-социальной помощи пациентам, страдающим редкими (орфанными) заболеваниями, в Российской Федерации» // Комитет Государственной Думы по охране здоровья.

Q3 16 442,29], в год – 125 353,46 руб. [Q1 106 155,47; Q3 197 307,47] (Рис. 3). Средняя стоимость 1 пациента с ОЗ на год относительно ЛБО составляет 0,62 млн руб.

К наиболее финансово ёмким в программе ВЗН относятся 3 нозологии: гемофилия, РС и онкогематология. В 2023 г. стоимость заявки на ЛО для пациентов с гемофилией составила 25,45 млрд руб., РС – 24,18 млрд руб., онкогематологией – 18,09 млрд руб., или 77% от общей стоимости заявки (табл. 4).

В 2022 г. более 98% диагнозов по МКБ -10 среди пациентов с онкогематологией, получающих ЛО в рамках программы ВЗН, приходилось на 6 нозологий: диффузные неходжкинские лимфомы (С83) – 30,85%; лимфоидный лейкоз [лимфолейкоз] (С91) – 20,45%; множественная миелома и злокачественные плазмоклеточные новообразования (С90) – 19,30%; миелоидный лейкоз [миелолейкоз] (С92) – 12,20%; другие и неуточненные типы неходжкинской лимфомы (С85) – 8,02%; фолликулярная [нодулярная] неходжкинская лимфома (С82) – 7,48%. Из числа пациентов с гемофилией 60,34% составляли пациенты с гемофилией А, 11,11% – с гемофилией В, и 27,59% – пациенты с болезнью Виллебранда. Среди лиц, перенёвших трансплантацию, ЛО за счёт средств федерального бюджета получают 63,58% пациентов с трансплантацией почки, 20,14% – с трансплантацией печени, 8,25% – с трансплантацией сердца. Общий объём финансирования закупок в 2021–2022 гг. в том числе за счёт бюджета, выделенного на 2022–2024 гг., составил 138,91 млрд руб. Более 45% средств было израсходовано на закупку ЛП для лечения онкогематологии – леналидомид (9,02%) и даратумумаб (5,67%), РС – окрелизумаб (6,92%) и натализумаб (4,22%), гемофилии – эмицизумаб (4,62%), фактор свертывания крови VIII (4,36%), октоког альфа (4,27%), и гемолитико-уремического синдрома – экулизумаб (6,16%)³⁹. На рисунке 4 приведена долевая структура расходов на ЛО пациентов в рамках программы ВЗН в разрезе МКБ-10 и доли в закупках в рамках соответствующих МНН внутри каждой нозологии в 2021–2022 гг.

С точки зрения численности пациентов, включенных в ФР ВЗН, численности пациентов в заявке на ЛО, и объемов необходимого финансирования к наиболее ресурсозатратным нозологиям относятся РС, гемофилия, онкогематология. В таблице 5 приведено ранжирование нозологий, включённых в программу ВЗН по 4 параметрам: численность пациентов, включенных в ФР ВЗН и заявку на ЛО; объёму финансирования ЛО; доля взрослых пациентов в структуре заболеваемости.

Руководствуясь нормами Постановления Правительства № 1416, ФКУ «ФЦПиЛО» проводит

³⁹ Федеральное казначейство официальный сайт Казначейства России. Отчетность по исполнению бюджета.

заявочную кампанию по организации закупки ЛП по перечню дорогостоящих ЛП, исходя из потребностей субъектов РФ. На уровне субъекта заявка формируется на основании клинических рекомендаций с учётом действующих стандартов оказания медицинской помощи, средней курсовой дозы и ежемесячной фактической потребности пациента в ЛП, в соответствие с данными регионального сегмента ФР ВЗН и необходимости формирования запаса на 15 мес (1 год плюс переходящий остаток на 3 мес). Таким образом, потребность в ЛО определяется с учётом прогнозируемых остатков. Согласованная с кураторами ФКУ «ФЦПиЛО», главными внештатными специалистами по профилю и экспертами федеральных центров заявка, проходит защиту и утверждается комиссией Минздрава России.

Основными факторами, влияющим на объём финансирования для обеспечения потребности в ЛО и средние расходы на 1 пациента, является состав нозологий в субъекте, непосредственное число пациентов и схема терапии, которая используется для лечения конкретного пациента. Например, по данным отчётов реализации программы 14 ВЗН в Республике Удмуртия в 2020 г. было обеспечено 1 161 льготополучателем, число обслуженных рецептов составило 6 550 единиц, средняя стоимость 1 рецепта – 90 135,52 руб., а средняя сумма, затраченная на 1 льготополучателя – 511 601,11 руб. По данным за 2021 г. на обеспечении находилось 1 166 льготополучателей, число обслуженных рецептов – 5 701, средняя стоимость 1 рецепта увеличилась до 114 321,52 руб., средняя сумма, затраченная на 1 льготополучателя, возросла до 566 764,52 руб. В 2022 г. ЛО получали 1 165 пациентов, общее число отпущенных рецептов составило 5 432, средняя стоимость 1 рецепта достигла 131 950,35 руб., средняя сумма, затраченная на 1 льготополучателя – 616 828,15 руб. В таблице 6 приведена динамика расходов на 1 льготополучателя в разрезе нозологий на уровне субъекта РФ в 2020–2022 гг. на примере данных о реализации программы 14 ВЗН в Республике Удмуртия⁴⁰.

Итоги исследования и их обсуждение

В 2008 г. в рамках программы ВЗН ЛО осуществлялось по 7 нозологиям по перечню из 18 МНН, в настоящее время ЛО осуществляется по 14 нозологиям по перечню из 47 МНН. Численность пациентов в ФР ВЗН на 01.10.2023 г. составила 263 721 пациента, по сравнению с 2008 г. их число увеличилось в 13,58 раз, что нельзя сказать о финансировании программы. Данные ранее проведенных аналитических исследований реализации программы ВЗН [22] и результаты настоящего исследования показывают

относительную стабильность структуры закупок по основным нозологическим сегментам. К наиболее ресурсоёмким нозологиям в программе ВЗН, до и после её расширения, относятся онкогематология, РС и гемофилия. В связи с этим для принятия управленческих решений необходимо проводить анализ реализации программы ВЗН внутри нозологий и нозологических групп. Очевидно, что тенденции роста численности пациентов в программе ВЗН, и, соответственно, рост расходов на закупку ЛП сохраняются и в дальнейшем. Это связано как с увеличением общей продолжительности жизни, так и с улучшением методов диагностики и подходов к лечению пациентов, включая применение инновационных схем терапии. Эксперты и сообщество пациентов отмечают положительные результаты реализации государственной программы с клинической точки зрения и с позиции улучшения качества жизни пациентов, что обуславливает необходимость дальнейшей реализации программы ВЗН. Увеличение числа льготополучателей, расширение перечня ВЗН и перечня ЛП для их лечения требует пересмотра не только объёмов финансирования, но и иных институциональных механизмов для повышения эффективности программы.

Определённые трудности в расширении перечня дорогостоящих ЛП связаны с унифицированными правилами формирования перечней ЛП для медицинского применения. Поскольку в перечень включаются ЛП для лечения заболеваний с высокой медико-социальной значимостью, необходимо разрабатывать критерии, учитывающие специфику нозологий, включённых в программу ВЗН, и новых технологий для их терапии. Во многих зарубежных странах процесс формирования возмещаемых перечней предваряет так называемый этап «сканирования горизонтов» [23–25]. При этом под горизонтом сканирования подразумевается не только процесс систематического выявления новых и новейших технологий, но и разработка новых и/или адаптация существующих инструментов для их последующей оценки. В зарубежной литературе используется следующее определение понятия «сканирования горизонтов» – «early awareness and alert» (ЕАА), что в русскоязычной версии можно рассматривать в качестве системы раннего выявления и информирования (СРВИ). СРВИ направлена на поиск и определение перспективных технологий в сфере здравоохранения или новые возможности использования уже применяющихся в клинической практике медицинских технологий; оценку или прогноз их влияния на здоровье, систему здравоохранения и/или общество в целом; и последующее распространение полученных результатов. Внедрение СРВИ позволит прогнозировать эпидемиологические и экономические последствия применения новых ЛП в рамках программы ВЗН [26].

⁴⁰ Отчеты о реализации программы 14 ВЗН // Министерство Здравоохранения Удмуртской Республики.

После выхода ЛП на рынок исследования их эффективности и безопасности продолжают, в том числе с целью расширения показаний к применению в новых группах пациентов и линиях терапии. Обновленный пул данных о ЛП с учётом данных реальной клинической практики целесообразно использовать для оптимизации терапии пациентов: выделения целевых групп (подгрупп) пациентов, где использование ЛП приносит наибольший клинико-экономический эффект.

При отсутствии системы мониторинга реализации программы ВЗН, учитывающий исходы проводимого лечения, в качестве доступных инновационных методов оплаты могут быть использованы соглашения о разделении рисков, не связанные с результатами лечения: соглашения «цена–объём», оплата за счёт средств фондов [27–29]. В настоящее время ФКУ «ФЦПиЛО» уже активно использует инструмент долгосрочных контактов (соглашения «цена–объём») с производителями оригинальных молекул. Финансирование ЛО детей по программе 14 ВЗН за счёт средств Фонда «Круг Добра» также относится к новым формам финансирования. Внедрение различных механизмов «соглашений о разделении рисков» позволит и в дальнейшем оптимизировать расходование бюджетных средств для улучшения ЛО пациентов.

Ограничения исследования

В рамках настоящего исследования были изучены только основные качественные и количественные показатели реализации программы ВЗН в целом. Анализ в нозологических сегментах программы с учётом региональных особенностей не проводился. Также не оценивалась клинико-экономическая эффективность в условиях реальной клинической практики ЛП, которые уже включены в программу. Данные направления являются перспективными для дальнейшего анализа и прогнозирования потребности в расширении и финансовом обеспечении программы ВЗН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании определены основные количественные характеристики реализации ЛО по программе ВЗН. Полученные результаты могут быть использованы для проведения дальнейших аналитических исследований, в том числе внутри нозологий и нозологических групп, включенных в программу. К основным векторам совершенствования реализации программы ВЗН можно отнести: совершенствование правового поля, оптимизацию лекарственной терапии, применение новых форм финансирования программы.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

О.И. Ивахненко – разработка дизайна исследования, сбор и критический анализ научной литературы и нормативных правовых документов, сбор и анализ данных, интерпретация результатов, написание, редактирование и оформление статьи, финальное утверждение рукописи; В.В. Ряженков – критический анализ научной и методической литературы, внесение замечаний интеллектуального содержания, редактирование статьи; Е.А. Максимкина – сбор научной и методической литературы, критический анализ научной и методической литературы, внесение замечаний интеллектуального содержания, редактирование статьи; В.С. Фисенко – сбор и критический анализ научной литературы и нормативных правовых документов, внесение замечаний интеллектуального содержания, редактирование статьи; О.В. Савоськин – сбор, анализ и интерпретация данных, редактирование статьи; М.М. Кузнецова – сбор и анализ данных, редактирование и оформление статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Miladinov G. Socioeconomic development and life expectancy relationship: evidence from the EU accession candidate countries // *Genus*. – 2020. – Vol. 76, No. 2. DOI: 10.1186/s41118-019-0071-0
2. Collin M.E., Weil D.N. The effect of increasing human capital investment on economic growth and poverty: A simulation exercise (September 25, 2018) // *World Bank Policy Research Working Paper No. 8590*.
3. Романова А.С. Человеческий капитал в системе устойчивого развития // *Труды БГТУ. Экономика и управление*. – 2015. – № 7(180). – С. 310–315.
4. Безруков Н.С., Полянская Е.В. Экономическая оценка потерь общественного здоровья как фактора развития человеческого капитала // *Вестник Тихоокеанского государственного университета*. – 2009. – № 1(12). – С. 57–64.
5. Shafi R., Fatima S. Relationship between GDP, life expectancy, and growth rate of G7 countries. *Int J Sci.* – 2019. – Vol. 8, No. 6. – P. 74–79. DOI: 10.18483/ijSci.2085

6. Ивахненко О.И., Авксентьева М.В., Максимова Л.В. Методы учета непрямых затрат в оценке технологий здравоохранения // Медицинские технологии. Оценка и выбор. – 2013. – № 1(11). – С. 29–35.
7. Авксентьева М.В., Герасимова К.В., Железнякова И.А., Зуев А.В., Ивахненко О.И., Игнатъева В.И., Лазарева М.Л., Лемешко В.А., Лукьянцева Д.В., Мельникова Л.С., Мусина Н.З., Сура М.В., Сухоруких О.А., Федяев Д.В. Система оказания медицинской помощи в Российской Федерации: информационный бюллетень / Под ред. В.В. Омеляновского. – Москва: ФГУП «Академический научно-издательский, производственно-полиграфический и книгораспространительский центр «Наука», 2019. – 181 с.
8. Цомартова Ф.В. Охрана здоровья в фокусе медицинского законодательства // Журнал российского права. – 2021. – Т. 25, № 8. – С. 156–160. DOI: 10.12737/jrl.2021.106
9. Шаманина Э.А., Полозова Д.В. Основные принципы оценки эффективности социально экономической политики на примере системы здравоохранения Российской Федерации // Вестник Академии. – 2019. – № 4. – С. 96–104.
10. Цомартова Ф.В. Государственные гарантии доступности лекарственных средств в России и за рубежом // Журнал зарубежного законодательства и сравнительного правоведения. – 2018. – № 4(71). – С. 161–170. DOI 10.12737/art.2018.4.21
11. Бессараб Н.С. Право на лекарственную помощь и лекарственное обеспечение // Известия Тульского государственного университета. Экономические и юридические науки. – 2019. – № 2. – С. 90–94.
12. Казарина О.Н. О реализации экономической политики в области льготного лекарственного обеспечения населения на территории Российской Федерации // Вестник РУК. – 2023. – № 1 (51). – С. 38–43.
13. Воробьев П.А., Краснова Л.С., Воробьев А.П., Зыкова А.Б., Жулев Ю.А., Зозуля Н.И. Эпидемиология, экономика и качество жизни больных с гемофилией в России в 2007–2017 гг.: результаты применения стандартизации в терапии // Проблемы стандартизации в здравоохранении. – 2018. – № 9–10. С. 15–34.
14. Тельнова Е.А., Загоруйченко А.А. О состоянии льготного лекарственного обеспечения // Бюллетень Национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н.А. Семашко. – 2021. – № 2. – С. 72–81. DOI 10.25742/NRIPH.2021.02.009
15. Тельнова Е.А. Программе ДЛО-ОНЛС 10 лет // Вестник Росздравнадзора. – 2016. – № 5. – С. 143–147.
16. Рейхтман Т.В., Мошкова Л.В. О подходах к сохранению доступности лекарственной помощи отдельным категориям граждан Российской Федерации // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2014. – № 2. – С. 26–37. DOI: 10.18413 / 2313-8955-2014-1-2-26-37
17. Толкушин А.Г., Фёдоров А.А., Жулёв Ю.А., Погудина Н.Л., Ермолаева Т.Н. Направления развития программы лекарственного обеспечения высокотратных нозологий. Здравоохранение Российской Федерации. – 2019. – Т. 63, № 5. – С. 237–244. DOI: 10.18821/0044-197X-2019-63-5-237-244
18. Затравкин С.Н., Вишленкова Е.А., Игнатъев В.Г. Российская фармацевтическая отрасль в 1990-е годы. Сообщение 1. От советского к рыночному. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2022. – Т. 30, № 1. – С. 160–166. DOI: 10.32687/0869-866X-2022-30-1-160-166
19. Затравкин С.Н., Вишленкова Е.А., Игнатъев В.Г. Российская фармацевтическая отрасль в 1990-е годы. Сообщение 2. Оптика внешних наблюдателей // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2022. – Т. 30, № 2. – С. 322–328. DOI: 10.32687/0869-866X-2022-30-2-322-328
20. Омеляновский В.В., Максимкина Е.А., Ивахненко О.И., Авксентьева М.В., Сура М.В., Хачатрян Г.Р. Совершенствование системы формирования перечней лекарственных препаратов для медицинского применения: анализ изменений Постановления Правительства РФ № 871 // ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная Фармакоэкономика и Фармакоэпидемиология. – 2020. – Т. 13, № 2. – С. 113–123. DOI: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.032
21. Воронов Д.С., Раменская Л.А. Оценка стоимости капитала и ставки дисконтирования на базе российской финансовой статистики // Journal of New Economy. – 2023. – Т. 24, № 1. – С. 50–80. DOI: 10.29141/2658-5081-2023-24-1-3
22. Трофимова Е.О., Денисова М.Н., Утёмова А.С. Структурные изменения и процессы импортозамещения в сегменте ВЗН в 2008-2018 годах // Ремедиум. – 2019. – № 6. – С. 14–19. DOI: 10.21518/1561-5936-2019-6-14-19
23. Grössmann N., Wolf S., Rosian K., Wild C. Pre-reimbursement: early assessment for coverage decisions. Wien Med Wochenschr. – 2019. – Vol. 169, No. 11–12. – P. 254–262. DOI: 10.1007/s10354-019-0683-1
24. Eriksson I., von Euler M., Malmström R.E., Godman B., Wettermark B. Did we see it Coming? An evaluation of the swedish early awareness and alert system. Appl Health Econ Health Policy. – 2019. – Vol. 17:93–101. DOI: 10.1007/s40258-018-0434-2
25. Simpson S., Cook A., Miles K. Patient and public involvement in early awareness and alert activities: An example from the United Kingdom. Int J Technol Assess Health Care. – 2018. – Vol. 34, No. 1. – P. 10–17. DOI: 10.1017/S0266462317004421
26. Gutierrez-Ibarluzea I., Simpson S., Benguria-Arrate G.; Members of EuroScan International Network. Early awareness and alert systems: an overview of EuroScan methods. Int J Technol Assess Health Care. – 2012. – Vol. 28, No. 3. – P. 301–307. DOI: 10.1017/S0266462312000360
27. Wenzl M., Chapman S. Performance-based managed entry agreements for new medicines in OECD countries and EU member states: How they work and possible improvements going forward // OECD Health Working Papers. 2019. – No. 115. DOI: 10.1787/6e5e4c0f-en
28. Rotar A.M., Preda A., Löblová O., Benkovic V., Zawodnik S., Gulacsi L., Niewada M., Boncz I., Petrova G., Dimitrova M., Klazinga N. Rationalizing the introduction and use of pharmaceutical products: The role of managed entry agreements in Central and Eastern European countries. Health Policy. 2018. – Vol. 122, No. 3. – P. 230–236. DOI: 10.1016/j.healthpol.2018.01.006
29. Zampirolli Dias C., Godman B., Gargano L.P., Azevedo P.S., Garcia M.M., Souza Cazarim M., Pantuzza L.L.N, Ribeiro-Junior N.G., Pereira A.L., Borin M.C., de Figueiredo Zuppo I., Iunes R., Pippo T., Hauengen R.C., Vassalo C., Laba T.L., Simoens S., Márquez S., Gomez C., Voncina L., Selke G.W., Garattini L., Kwon H.Y., Gulbinovic J., Lipinska A., Pomorski M., McClure L., Fürst J., Gambogi R., Ortiz C.H., Canuto Santos V.C., Araújo D.V., Araujo V.E., Acurcio F.A., Alvares-Teodoro J., Guerra-Junior A.A. Integrative Review of Managed Entry Agreements: Chances and Limitations. PharmacoEconomics. 2020. – Vol. 38, No. 11. – P. 1165–1185. DOI: 10.1007/s40273-020-00943-1

АВТОРЫ

Ивахненко Оксана Игоревна – ассистент кафедры регуляторных отношений в области обращения лекарственных средств и медицинских изделий ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); магистр права. ORCID ID: 0000-0002-9483-3171. E-mail: oii@hta-expert.ru

Ряженев Василий Вячеславович – доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой регуляторных отношений в области обращения лекарственных средств и медицинских изделий, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0002-1278-5883. E-mail: 5052568@mail.ru

Максимкина Елена Анатольевна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры регуляторных отношений в области обращения лекарственных средств и медицинских изделий, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0003-1802-8928. E-mail: maksimkina.e@mail.ru

Фисенко Виктор Сергеевич – кандидат фармацевтических наук, докторант кафедры регуляторных отношений в области обращения лекарственных средств и медицинских изделий, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0009-0002-0918-737X. E-mail: fisenkovs@minzdrav.gov.ru

Савоськин Олег Васильевич – аспирант кафедры регуляторных отношений в области обращения лекарственных средств и медицинских изделий, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0009-0003-8657-8881. E-mail: savoskinov@yandex.ru

Кузнецова Мария Максимовна – студентка 5-го курса Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0001-9411-9472. E-mail: mariakuznetcova01@gmail.com

УДК 575.174.015



Ассоциация носительства полиморфизмов CYP3A4*1B, CYP3A4*22 и CYP3A5*3 с эффективностью и безопасностью тамсулозина у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы

Ш.П. Абдуллаев^{1,2}, М.Н. Шатохин^{1,3}, О.Л. Сигаило¹, Ш.П. Абдуллаев¹, П.О. Бочков¹,
С.Н. Тучкова¹, О.В. Теодорович^{1,3}, О.Б. Лоран¹, Д.А. Сычев¹

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

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Россия, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1

³ Частное учреждение здравоохранения «Центральная клиническая больница “РЖД-медицина”», 125310, Россия, г. Москва, ул. Волоколамское шоссе, д. 84

E-mail: abdullaevsp@gmail.com

Получена 25.12.2023

После рецензирования 15.03.2024

Принята к печати 16.04.2024

Тамсулозин является препаратом первой линии в лечении симптомов нижних мочевых путей (СНМП) при доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ). Несмотря на высокие оценки эффективности и безопасности, показатели могут варьироваться из-за генетических полиморфизмов генов ферментов, участвующих в метаболизме препарата.

Цель. Оценка влияния носительства полиморфизмов генов ферментов группы CYP3A метаболизаторов тамсулозина на эффективность и безопасность терапии у пациентов с СНМП при ДГПЖ.

Материалы и методы. В исследование было включено и прошли все этапы 142 пациента с СНМП при установленном диагнозе ДГПЖ (N40 по МКБ-10). Все пациенты получали монотерапию тамсулозином 0,4 мг/сут на протяжении как минимум 8 недель. Для оценки результатов лечения использовали опросник IPSS с определением качества жизни, ультразвуковое исследование предстательной железы с определением объема простаты и остаточной мочи, а также урофлоуметрию. Контроль осуществляли в сроки 2, 4 и 8 недель от начала терапии. У пациентов определялось носительство полиморфных маркеров CYP3A4 (*1B, *22) и CYP3A5*3, с помощью ВЭЖХ определяли концентрации препарата в плазме крови и уровни кортизола и его метаболита 6-бета-гидрокортизола в моче для оценки фенотипической активности CYP3A.

Результаты. Статистически значимых ассоциаций между фенотипом CYP3A (определяемого по генотипам CYP3A4 и CYP3A5) и клиническими параметрами оценки эффективности и безопасности терапии тамсулозином в исследованной выборке пациентов установлено не было ($p > 0,05$). Аналогичные данные были получены для отдельных вариантов CYP3A4*1B, CYP3A4*22, CYP3A5*3 ($p > 0,05$). Сравнение значений остаточной равновесной концентрации тамсулозина у пациентов в исследуемой выборке относительно носительства вариантов генов CYP3A4 и CYP3A5 не выявил наличия значимых различий как между фенотипами по CYP3A, так и носителями и неносителями отдельных вариантов CYP3A4*1B ($p=0,57$), CYP3A4*22 ($p=0,37$) и CYP3A5*3 ($p=0,76$). Не было обнаружено связи между метаболическим отношением 6-бета-гидрокортизол / кортизол в моче и фенотипом CYP3A, кодируемым по сочетанию генотипов вариантов генов CYP3A4 и CYP3A5 ($p > 0,05$).

Заключение. Возможная связь между носительством вариантов CYP3A4*1B, CYP3A4*22, CYP3A5*3, активностью CYP3A, оцениваемой по содержанию в моче эндогенного субстрата данного изофермента и его метаболита, уровнем плазменной концентрации препарата, эффективностью и безопасностью тамсулозина не подтверждена. Вопрос о вкладе генетических полиморфизмов CYP3A4 и CYP3A5 на клинические параметры терапии тамсулозином требует дальнейшего изучения.

Для цитирования: Ш.П. Абдуллаев, М.Н. Шатохин, О.Л. Сигаило, Ш.П. Абдуллаев, П.О. Бочков, С.Н. Тучкова, О.В. Теодорович, О.Б. Лоран, Д.А. Сычев. Ассоциация носительства полиморфизмов CYP3A4*1B, CYP3A4*22 и CYP3A5*3 с эффективностью и безопасностью тамсулозина у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы. *Фармация и фармакология*. 2024;12(1):32-48. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-32-48

© Ш.П. Абдуллаев, М.Н. Шатохин, О.Л. Сигаило, Ш.П. Абдуллаев, П.О. Бочков, С.Н. Тучкова, О.В. Теодорович, О.Б. Лоран, Д.А. Сычев, 2024

For citation: Sh.P. Abdullaev, M.N. Shatokhin, O.L. Sigailo, Sh.P. Abdullaev, P.O. Bochkov, S.N. Tuchkova, O.V. Teodorovich, O.B. Loran, D.A. Sychev. Association of CYP3A4*1B, CYP3A4*22 and CYP3A5*3 polymorphisms carriage with efficacy and safety of tamsulosin in patients with benign prostatic hyperplasia. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(1):32-48. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-32-48

Ключевые слова: тамсулозин; фармакогенетика; CYP3A4; CYP3A5; концентрация тамсулозина

Список сокращений: СНМП – симптомы нижних мочевых путей; ДГПЖ – доброкачественная гиперплазия предстательной железы; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; НПР – нежелательные побочные реакции; ОАМ – общий анализ мочи; ОАК – общий анализ крови; БХ – биохимический анализ крови; ПСА – анализ на простат-специфический антиген; ТРУЗИ ПЖ – трансректальное ультразвуковое исследование предстательной железы; ООМ – объем остаточной мочи; УФМ – урофлоуметрия; IPSS – Международная система суммарной оценки симптомов болезней предстательной железы (International Prostate Symptom Score); QoL – шкала IPSS по оценке качества жизни (Quality of Life); EM – «быстрые» метаболиты; IM – «промежуточные метаболиты»; PM – «медленные» метаболиты; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты; иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента; ОС – субшкала IPSS по оценке тяжести обструктивных симптомов; ИС – субшкала IPSS по оценке тяжести ирритативных симптомов.

Association of CYP3A4*1B, CYP3A4*22 and CYP3A5*3 polymorphisms carriage with efficacy and safety of tamsulosin in patients with benign prostatic hyperplasia

Sh.P. Abdullaev^{1,2}, M.N. Shatokhin^{1,3}, O.L. Sigailo¹, Sh.P. Abdullaev¹, P.O. Bochkov¹, S.N. Tuchkova¹, O.V. Teodorovich^{1,3}, O.B. Loran¹, D.A. Sychev¹

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (RMACPE), Bld. 1, 2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, Russia, 125993

² Kurchatov Institute,

1, Akademika Kurchatova Sq., Moscow, Russia, 123182

³ Central Hospital «Russian Railways-Medicine», 84, Volokolamskoye Hwy, Moscow, Russia, 125310

E-mail: abdullaevsp@gmail.com

Received 25 Dec 2023

After peer review 15 March 2024

Accepted 16 April 2024

Tamsulosin is a first-line drug in the treatment of lower urinary tract symptoms (LUTS) in benign prostatic hyperplasia (BPH). Despite high estimates of its efficacy and safety, its rates may vary due to genetic polymorphisms of genes for the enzymes involved in the drugs metabolism.

The aim of the work was to evaluate the carriage influence of genes polymorphisms of the CYP3A enzymes group of tamsulosin metabolizers on the efficacy and safety of therapy in patients with LUTS in BPH.

Materials and methods. A total of 142 patients with LUTS, with an established BPH diagnosis (N40 according to ICD-10) were included in the study and underwent all stages. All patients received monotherapy with tamsulosin 0.4 mg/day for at least 8 weeks. An IPSS questionnaire with the definition of quality of life, a prostate ultrasound with the determination of the prostate volume and residual urine, as well as uroflowmetry, were used to evaluate the results of the treatment. Controls were performed at 2, 4 and 8 weeks from the start of the therapy. The carriage of polymorphic markers CYP3A4 (*1B, *22) and CYP3A5*3 was determined in patients; HPLC was used to determine drug concentrations in blood plasma and levels of cortisol and its metabolite 6-beta-hydroxycortisol in urine to assess the phenotypic activity of CYP3A.

Results. No statistically significant associations between CYP3A phenotype (defined by CYP3A4 and CYP3A5 genotypes) and clinical parameters of the tamsulosin therapy efficacy and the safety assessment in the studied sample of patients were found ($p > 0.05$). Similar data were obtained for individual variants of CYP3A4*1B, CYP3A4*22, CYP3A5*3 ($p > 0.05$). The comparison of the tamsulosin residual equilibrium concentration values in patients in the study sample with respect to the carriers of CYP3A4 and CYP3A5 gene variants did not reveal the presence of significant differences in either CYP3A phenotypes and carriers and non-carriers of individual CYP3A4*1B ($p=0.57$), CYP3A4*22 ($p=0.37$) and CYP3A5*3 ($p=0.76$) variants. No association was found between the metabolic ratio of 6-beta-hydroxycortisol / cortisol in urine and the CYP3A phenotype encoded by a combination of genotypes of CYP3A4 and CYP3A5 gene variants ($p > 0.05$).

Conclusion. A possible association between the carriage of CYP3A4*1B, CYP3A4*22, CYP3A5*3 variants, a CYP3A activity assessed by the content of an endogenous substrate of this isoenzyme and its metabolite in urine, the level of plasma concentration of the drug, and the efficacy and safety of tamsulosin, has not been confirmed. The contribution of CYP3A4 and CYP3A5 genetic polymorphisms to clinical parameters of the tamsulosin therapy requires a further study.

Keywords: tamsulosin; pharmacogenetics; CYP3A4; CYP3A5; tamsulosin concentration

Abbreviations: LUTS – lower urinary tract symptoms; BPH – benign prostatic hyperplasia; HPLC – high-performance liquid chromatography; ARs – adverse reaction; BPH – benign prostatic hyperplasia; CUA – common urine analysis; GBA – general blood analysis; BBA – biochemical blood analysis; PSA – prostate-specific antigen test; TRUS – transrectal ultrasound; RUV – residual urine volume UFM – uroflowmetry; IPSS – International Prostate Symptom Score; QoLs – Quality of Life scale; EM – “extensive” metabolizers; IM – “intermediate” metabolizers; PM – “poor” metabolizers; NSAIDs – non-steroidal anti-inflammatory drugs; iACEs – angiotensin-converting enzyme inhibitors; OS – IPSS subscale to assess the severity of obstructive symptoms; IS – IPSS subscale to assess the severity of irritative symptoms.

ВВЕДЕНИЕ

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) одно из самых распространенных урологических заболеваний среди мужчин [1]. Классическими клиническими проявлениями ДГПЖ являются симптомы нижних мочевых путей (СНМП), такие как: поллакиурия, urgency, nocturia и чувство неполного опорожнения мочевого пузыря [2].

Согласно рекомендациям Европейской ассоциации урологов¹ α 1-адреноблокаторы являются препаратами первой линии в лечении СНМП при ДГПЖ, а тамсулозин является одним из наиболее часто применяемых препаратов этой группы. У некоторых пациентов могут возникать нежелательные побочные реакции (НПР) при использовании тамсулозина, причем наиболее опасными являются сосудистые реакции [3]. Кроме того, эффективность консервативной терапии тамсулозином у пациентов с СНМП при ДГПЖ неоднородна, и до одной трети пациентов могут заявлять о её неэффективности [4]. Таким образом, проблема повышения эффективности и безопасности лечения СНМП при ДГПЖ тамсулозином остается актуальной.

Тамсулозин подвергается метаболизму при участии ферментов суперсемейства цитохрома P450, в основном под действием CYP3A4 и CYP2D6, а также при незначительном участии других изоферментов CYP [5]. Активность ферментов CYP генетически детерминирована и может различаться у разных людей. В настоящее время активно изучается вклад носительства различных генетических вариантов генов ферментов суперсемейства цитохрома P450, участвующих в метаболизме огромного числа лекарственных препаратов, на их эффективность и переносимость.

Подсемейство CYP3A состоит из четырех изоформ ферментов CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 и CYP3A43 [6]. Среди ферментов CYP3A человека CYP3A4 и CYP3A5 считаются наиболее важными в метаболизме лекарств [7]. Оба фермента в большом количестве представлены в печени и кишечнике [8, 9]. Исследования ранее характеризовали ген CYP3A4 как высокополиморфный. Однако большинство из вариантных аллелей гена не могут объяснить 10–100 кратные различия в активности фермента в различных популяциях [10, 11]. Последнее может быть связано либо с ограниченным влиянием явления полиморфизма гена CYP3A4 на активность фермента, либо с их очень низкой частотой в популяции (<0,1%). Другое дело обстоит с вариантом CYP3A4*22 (rs35599367), который кодирует фермент со сниженной функциональной активностью и для которого показано наличие значимых ассоциаций со снижением клиренса ряда препаратов (клопидогрел,

такролимус, циклоспорин, трициклических антипсихотиков, симвастатин и др.), что требует корректировки режима их дозирования [12]. Голландская рабочая группа по фармакогенетике (Dutch Pharmacogenetics Working Group, DPWG) разработала рекомендации по назначению и дозированию кветиапина в зависимости от типа метаболитов по CYP3A4 [13].

Другим интересным для исследователей вариантом является вариант CYP3A4*1B (rs2740574). Так, в фармакокинетических исследованиях носительство CYP3A4*1B требовало повышение доз такролимуса и циклоспорина у пациентов после трансплантации ввиду того, что данный вариант ассоциировался со снижением концентрации препаратов, скорректированных на дозу [14]. У пациентов, принимающих симвастатин, наоборот, носительство варианта CYP3A4*1B ассоциировалось с меньшей частотой снижения дозы препарата или необходимости смены препарата [14]. Однако по данному варианту остаются споры относительно кодируемого эффекта (функциональной активности) фермента у носителей маркера [12–14].

CYP3A4 является основной изоформой, экспрессируемой у большинства людей. Вместе с тем, другая изоформа CYP3A5 может вносить вклад в общую активность CYP3A, поскольку эти две изоформы имеют перекрывающуюся субстратную специфичность. Носительство варианта CYP3A5*3 (rs776756, 6986 A >G) ассоциируется со сниженной экспрессией фермента, что выражается снижением его функциональной активности [15]. Частота носительства данного аллельного варианта составляет до 90% в европейских популяциях и широко варьируется в других популяциях: от 67 до 75% в азиатских группах и 24–32% в африканских [16, 17]. Два других аллеля CYP3A5*6 и CYP3A5*7, кодирующих нефункциональный вариант фермента, менее распространены в европейских и азиатских популяциях с частой встречаемостью <0,5% и более характерны для африканских групп [15]. В научной литературе широко представлены данные о влиянии аллельных вариантов CYP3A5 на изменение параметров фармакокинетики, метаболизма, эффективности и безопасности препаратов разных групп: тамоксифен, аторвастатин, симвастатин, апиксабан, дабигатран и другие [18]. По CYP3A5 разработаны профессиональные рекомендации Консорциума по внедрению клинической фармакогенетики (The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, CPIC) по дозированию такролимуса [19].

Несмотря на широкую распространенность и популярность препаратов тамсулозина в практике, в настоящее время нет точной информации о влиянии генетических полиморфизмов CYP3A на эффективность и безопасность терапии тамсулозином. Основываясь на данных, что ферменты CYP3A участвуют в метаболизме

¹ EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Paris April 2024. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://uroweb.org/guidelines/management-of-non-neurogenic-male-luts>

тамсулозина, мы предположили, что полиморфизмы этих ферментов могут влиять на лекарственный ответ на прием препарата.

В связи с этим, **ЦЕЛЬЮ** настоящего исследования было оценить вклад носительства маркеров генов CYP3A4 и CYP3A5 на эффективность и безопасность терапии тамсулозином у пациентов с СНМП при ДГПЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено в период с декабря 2021 по май 2023 г. на базе кафедры эндоскопической урологии, ГАУЗ «Городская поликлиника № 7» (г. Набережные Челны, Республика Татарстан) и НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России).

Этическое одобрение

Исследование было одобрено этическим комитетом научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № 13 от 27.12.2021 г.) и проводилось в соответствии с законодательством РФ и международными нормативно-правовыми документами (Хельсинкская Декларация Всемирной Медицинской Ассоциации, 2013 год; Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 52379-2005).

Дизайн исследования

Авторами проведено одноцентровое проспективное обсервационное открытое нерандомизированное исследование. Всего в исследование было включено 148 пациентов мужского пола (средний возраст – 65,4) с жалобами на СНМП и установленным диагнозом ДГПЖ (N40 по МКБ-10). Пациенты находились под наблюдением на протяжении как минимум 8 недель и были обследованы 4 раза (0 день, 2, 4 и 8 неделя) в динамике согласно дизайну исследования (Рис. 1).

Все пациенты принимали препарат тамсулозин (Омник®, капсулы 0,4 мг, Нидерланды) в дозе 0,4 мг 1 р/сут. Других лекарственных препаратов для терапии СНМП при ДГПЖ пациенты в процессе терапии тамсулозином не получали.

Основная часть исследования включала 8-недельное лечение и наблюдение, включавшее визит 1 (скрининг и включение) и три последующих визита через 2, 4 и 8 недель. На визите 1 (1-е сут) – в момент включения пациента в исследования при первичном обращении собирался анамнез заболевания, проводилось обследование с помощью комплекса клинических (оценка проявления СНМП по международной системе IPSS и QoL), инструментальных (уродинамические показатели: максимальная скорость потока мочи (Q_{max}), определение остаточной мочи и объема простаты,

по данным УЗИ) методов, были проведены рутинные анализы: общий анализ крови, биохимический анализ крови (креатинин, мочевины), анализ на простат-специфический антиген (ПСА), общий анализ мочи, назначение терапии тамсулозином в дозе 0,4 мг/сут, сдача анализа крови для генотипирования. Не ранее чем на 6 сут исследования, после достижения 5 периодов полувыведения препарата и достижения равновесной остаточной концентрации (Css_{min}), пациент направлялся на сдачу плазмы крови до приема тамсулозина для определения Css_{min} и сдачу утренней порции мочи для определения активности CYP3A4. На визите 2 (14-е сут) и 3 (28-е сут) оценивалась динамика назначенной терапии с помощью валидного опросника IPSS и QoL. На заключительном визите 4 (56-е сут) оценивалась динамика проводимой терапии, по данным опросника IPSS и QoL и инструментальных методов (повторная оценка Q_{max} , определение объема остаточной мочи и объема простаты, по данным УЗИ). В анализ результатов были включены данные 142 пациентов – только тех, которые прошли все 4 визита. Данные 6 пациентов были исключены ввиду отказа от участия в исследовании.

Критерии соответствия

Критериями включения в исследование были: мужской пол; возраст старше 18 лет; письменное информированное согласие на участие в исследовании; подтвержденный диагноз «доброкачественная гиперплазия предстательной железы (N40 МКБ-10)»; жалобы на СНМП умеренно или тяжело выраженные, оцениваемые по шкале IPSS более 7 баллов; объем остаточной мочи (ОМ) менее 100 мл по данным ультразвукового исследования (УЗИ) мочевого пузыря; объем предстательной железы от 25 до 100 см³ по данным трансректального ультразвукового исследования (ТРУЗИ) предстательной железы; отсутствие рака предстательной железы, в том числе клинически незначимого (в случаях повышения ПСА более 4 нг/мл, в соответствии с клиническими рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации по ведению пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (утв. 2020 г.)² проводилась мультифокальная биопсия предстательной железы).

Критериями невключения были: осложненное течение ДГПЖ; любые другие причины, кроме ДГПЖ, которые могут, по мнению исследователя, привести к дизурии или изменению скорости потока мочи (например, нейрогенный мочевой пузырь, стриктура шейки мочевого пузыря, стриктура уретры, острый или хронический простатит, острые или хронические инфекции мочевыводящих путей); сопутствующие

² Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы, 2020 г. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/6_1

онкологические заболевания; сопутствующие тяжелые сердечно-сосудистые (например, нестабильная стенокардия, недавний инфаркт миокарда или плохо контролируемая артериальная гипертензия) и цереброваскулярные заболевания (недавний инсульт или травмы спинного мозга); почечная и печеночная недостаточность.

Критериями исключения были: выявление лекарственной непереносимости; отказ пациента от приема назначаемой терапии; отказ пациента от участия в исследовании.

Генотипирование

Материалом для определения полиморфизмов генов послужили 4 мл крови из вен локтевого сгиба, собранные с помощью вакуумной системы для взятия венозной крови VACUETTE (Greiner Bio-One, Австрия) в пробирки с K3-этилендиаминтетраацетата (ЭДТА). Выделение ДНК осуществляли с помощью набора реагентов «ДНК-Экстран-1» для выделения геномной ДНК из цельной крови (ЗАО «Синтол», Москва, Россия).

Генотипирование пациентов проводилось на базе НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Для всех 142 пациентов было определено носительство полиморфных маркеров CYP3A4*1B (с.-392G >A, rs2740574), CYP3A4*22 (с.522-191C >T, rs35599367) и CYP3A5*3 (с.6986A >G, rs776746).

Для генотипирования по аллельным вариантам CYP3A4*1B и CYP3A5*3 использовали наборы реагентов «SNP-Скрин» (ЗАО «Синтол», Москва, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Генотипирование по аллельному варианту CYP3A4*22 осуществлялось с помощью наборов реагентов «TaqMan® SNP Genotyping Assays» и TaqMan Universal Master Mix II, без UNG (Applied Biosystems, Foster City, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Носительство полиморфных маркеров определялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

У всех пациентов после включения в исследование производился забор крови для генетического исследования. В зависимости от результатов генотипирования пациенты разделялись на группы по фенотипам «быстрых» (extensive metabolizers, EM), «промежуточных» (intermediate metabolizers, IM) и «медленных» (poor metabolizers, PM) метаболизаторов в зависимости от носительства вариантов CYP3A4*22 и CYP3A5*3 [12, 16].

Фенотипирование CYP3A

Активность CYP3A4 определялась методом оценки соотношения концентрации 6-бета-гидрокортизола (6б-НС) и кортизола в моче пациента, собранной утром.

Кортизол является специфическим субстратом

CYP3A4. Посредством расчета метаболического отношения концентраций кортизола и его метаболита 6б-НС устанавливалась активность CYP3A4: высокие значения показателя отношения означают высокую активность изофермента, низкие – низкую активность. Методика определения активности CYP3A4 является общепринятой [20].

Кортизол и его метаболит определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с масс-спектрометрическим детектированием. В работе использовали жидкостной хроматограф Agilent 1200 (Agilent Technologies Inc., США, 2008) и масс-спектрометр Agilent TripleQuad LC/MS 6410. Обработку результатов осуществляли с использованием ПО Agilent MassHunter Workstation Software LC/MS Data Acquisition for 6400 Series Triple Quadrupole (Версия В.08.02). Для выполнения хроматографического определения использовали методику пробоподготовки и условия хроматографического анализа, представленные в работе Смирнова В.В. и соавт [20].

Определение плазменной концентрации тамсулозина

Концентрацию тамсулозина в плазме определяли методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies Inc., США, 2008). В работе использовали колонку Agilent Polaris 3 C18-A (длина 50 мм; внутренний диаметр 3,0 мм; зернение 3,0 мкм). Разделение проводили при температуре колонки 40°C. Подвижная фаза состояла из двух компонентов: раствор «А» (1 мл концентрированной муравьиной кислоты разбавляли водой деионизованной до общего объема 1 л) и раствор «Б» (1 мл концентрированной муравьиной кислоты разбавляли ацетонитрилом до общего объема 1 л). Хроматографическое разделение проводили в режиме градиентного элюирования.

Пробоподготовку проводили методом осаждения белков плазмы крови. Образцы плазмы размораживали при комнатной температуре. Далее 100 мкл плазмы переносили в пластиковые пробирки типа Eppendorf, добавляли 250 мкл смеси метанола с 0,1% кислотой хлористоводородной (в соотношении компонентов 9:1), перемешивали на встряхивателе Vortex (Elmi Ltd., Латвия) и оставляли на 10 мин. Затем образцы перемешивали еще раз. Далее полученные образцы центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 мин. Надосадочный слой переносили в хроматографические флаконы и помещали на автосемплер хроматографа для проведения анализа.

Для детектирования спектров тамсулозина использовали масс-спектрометр Agilent TripleQuad LC/MS 6410 с ионизацией электроспреем в режиме положительной ионизации. Регистрацию спектров тамсулозина проводили в режиме множественных

молекулярных реакций. Давление газа распылителя 35 *psi*. Объемная скорость осушающего газа составила 10 л/мин, температура ионного источника 350°C. Значение напряжения фрагментации составляло 135 В, напряжения на ячейке соударений –30 В. В этих условиях предел количественного определения тамсулозина составил 1 нг/мл.

Обработку результатов осуществляли с использованием ПО Agilent MassHunter Workstation Software LC/MS Data Acquisition for 6400 Series Triple Quadrupole (Версия В.08.02).

Анализ в группах

В рамках анализа из общей исследуемой выборки 142 пациентов были сформированы группы сравнения относительно (1) фенотипа СYP3A, определяемого по генотипу СYP3A4*22 и СYP3A5*3 и (2) носительства отдельных аллельных вариантов СYP3A4*1В, СYP3A4*22 и СYP3A5*3.

Сравнения в (1) проводили между группами «быстрых» (extensive metabolizers, EM) ($n=17$), «промежуточных» (intermediate metabolizers, IM) ($n=117$) и «медленных» (poor metabolizers, PM) ($n=8$) метаболиторов (EM vs IM vs PM).

Сравнения в (2) проводили в группах в зависимости от носительства генотипов по СYP3A4*1В (AA ($n=128$) vs AG ($n=14$)), СYP3A4*22 (CC ($n=133$) vs CT ($n=9$)) и СYP3A5*3 (AA+AG ($n=18$) vs GG ($n=124$)). Для СYP3A5*3 объединение группы AA+AG было сделано, учитывая низкую частоту для генотипа AA ($n=1$).

Статистическая обработка

Для статистической обработки данных исследования использовались методы параметрической и непараметрической статистики с помощью пакета прикладных программ STATISTICA v10.0 («StatSoft Inc.», США) и программы Microsoft Excel 2010 для Windows. При выборе метода брали во внимание нормальность распределения выборок, которую оценивали с помощью *W*-теста Шапиро–Уилка (Shapiro-Wilk's *W*-test) и критерия Колмогорова–Смирнова.

Описание выборки для ненормально распределенных параметров производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (Q1 и Q3), для нормально распределенных параметров – путем определения среднего значения (M) со стандартным отклонением (Standart Deviation, SD).

Для сравнения количественных показателей применялись *t*-критерий Стьюдента либо критерий Манна–Уитни (в зависимости от характера распределения количественных показателей).

В зависимости от характера распределения сравнение нескольких выборок непрерывных данных производили с помощью одно- или многофакторного дисперсионного анализа (для нормально распределенных данных) или *H*-теста Крускала–Уоллиса (для данных, не подчиняющихся

закону нормального распределения). Поправку на множественное сравнение осуществляли с помощью теста Бонферрони.

Частотные характеристики качественных показателей сравнивали с помощью тестов χ^2 Пирсона.

Для установления характера и силы взаимосвязи между признаками применяли корреляционный анализ, предварительно проверяя нормальность распределения переменных при помощи критерия Шапиро–Уилка. В случае количественных переменных и соответствия их закону нормального распределения рассчитывали коэффициент линейной корреляции Пирсона (*r*), в противном случае использовали коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (ρ) или Кендалла (τ). За критический уровень значимости принимали $p < 0,05$. Коэффициент корреляции *r* от 0,3 до 0,7 при $p < 0,05$ означал положительную умеренную, но достоверную корреляцию между признаками; $r > 0,7$ при $p < 0,05$ – сильную и достоверную связь; отрицательное значение *r* соответствовало обратной корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Участники исследования

Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов, включенных и прошедших все этапы исследования, представлена в таблице 1.

В части данных о сопутствующих заболеваниях у пациентов, участвовавших в исследовании, важной представляется следующая информация. В группу исследования были включены 108 человек, что составило 76,1%, у которых помимо ДГПЖ было диагностировано по крайней мере одно сопутствующее заболевание. В свою очередь, среди этих пациентов множественными сопутствующими заболеваниями по разным классам болезней страдали 51 человек (35,9% когорты). Наконец, без сопутствующей патологии (помимо ДГПЖ) в выборку включены 34 человека, что составило 23,9% от общего числа выборки.

Список групп препаратов, принимаемых пациентами по поводу сопутствующей нозологии, представлен в таблице 2.

Следует отметить, что только 1 пациент из выборки принимал препарат ингибитор СYP3A в качестве сопутствующей фармакотерапии при лечении СНМП, ассоциированного с ДГПЖ.

Основной результат исследования

Оценка эффективности

В исследуемой выборке из 142 пациентов с СНМП при ДГПЖ, принимавших тамсулозин, распределение генотипов по изучаемым аллельным вариантам соответствовало ожидаемым и согласовывалось с распределением по закону Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Это свидетельствовало о том, что распределение частоты генотипов в данной выборке пациентов отражало их распределение в популяции в целом (табл. 3).

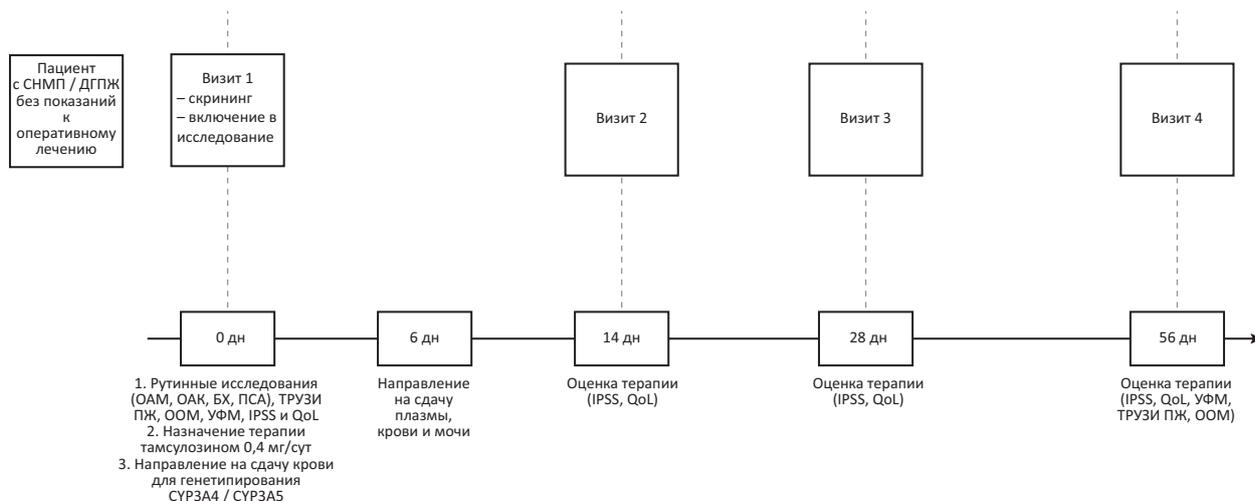


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Примечание: СНМП – симптомы нижних мочевых путей; ДГПЖ – доброкачественная гиперплазия предстательной железы; ОАМ – общий анализ мочи; ОАК – общий анализ крови; БХ – биохимический анализ крови; ПСА – анализ на простат-специфический антиген; ТРУЗИ ПЖ – трансректальное ультразвуковое исследование предстательной железы; ООМ – объем остаточной мочи; УФМ – урофлоуметрия; IPSS – Международная система суммарной оценки симптомов болезней предстательной железы (International Prostate Symptom Score); QoL – шкала IPSS по оценке качества жизни (Quality of Life).

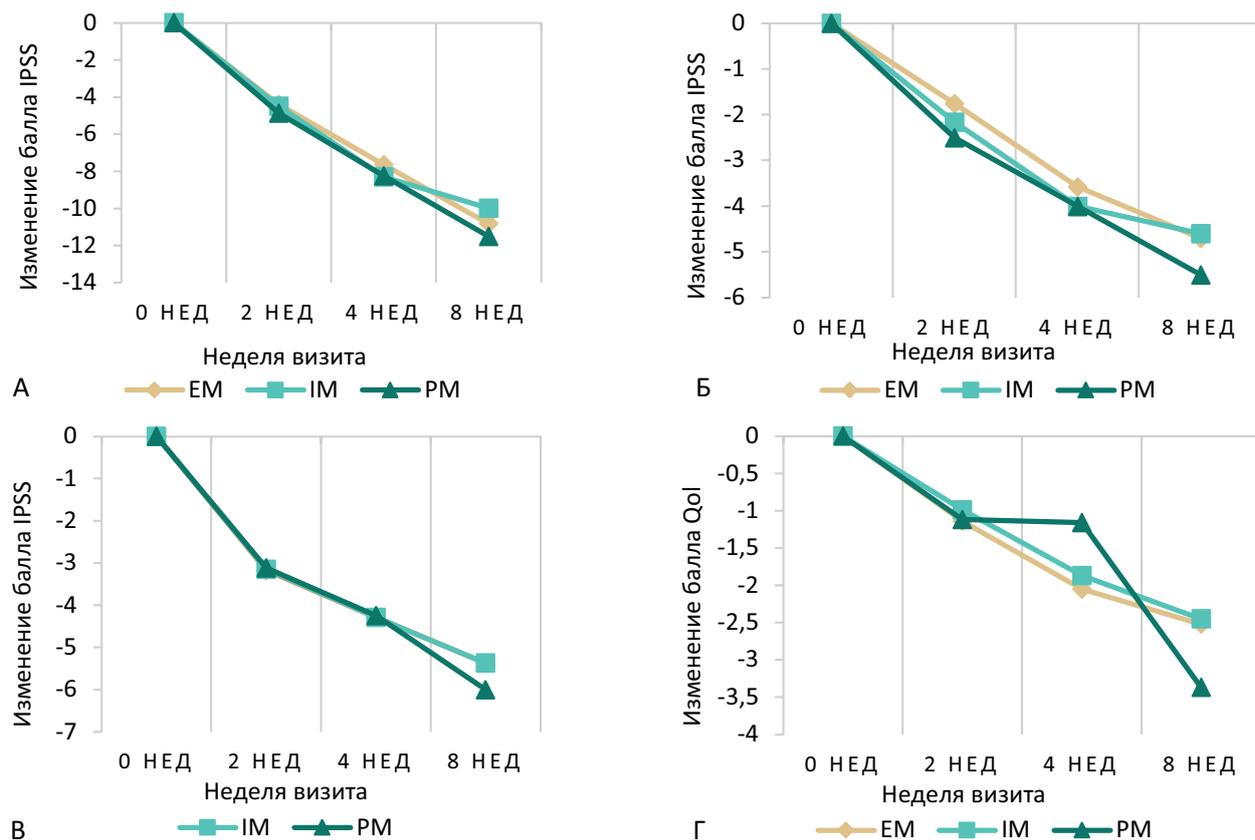


Рисунок 2 – Динамика изменений суммы баллов по шкале IPSS

Примечание: А – общий балл по опроснику IPSS; Б – субшкала обструктивных симптомов; В – субшкала ирритативных симптомов; Г – шкала IPSS по оценке качества жизни (Quality of life). EM – «быстрые» метаболизаторы; IM – «промежуточные» метаболизаторы; PM – «медленные» метаболизаторы.

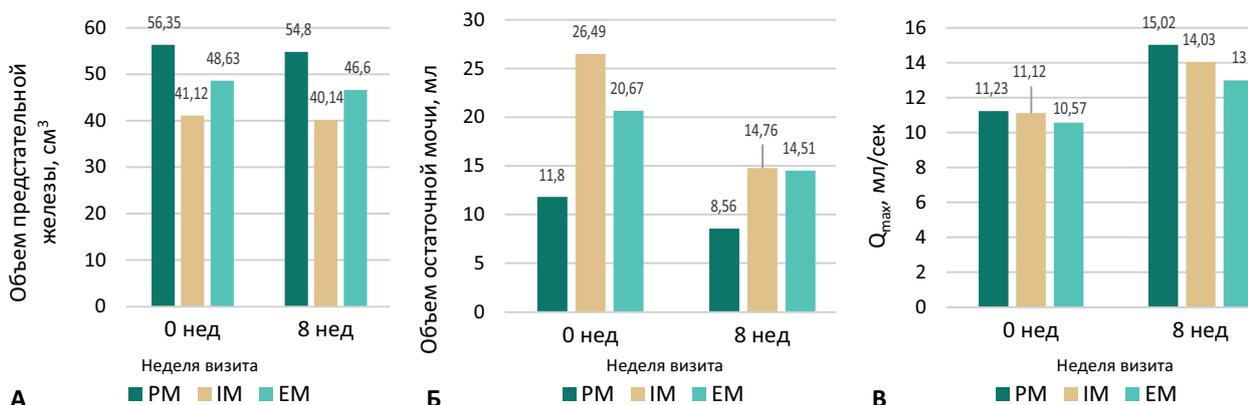


Рисунок 3 – Сравнение данных инструментальной оценки эффективности терапии
 Примечание: А – объем предстательной железы; Б – объем остаточной мочи; В – максимальная скорость струи мочи;
 EM – «быстрые» метаболизаторы; IM – «промежуточные» метаболизаторы; PM – «медленные» метаболизаторы.

Таблица 1 – Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов

Показатель	Значение	n
Средний возраст (Me [Мин; Макс]), лет	68 [37; 86]	142
Индекс массы тела, кг/м ² (M±SD)	26,83±4,31	142
Курение, n (%)	25 (17,6)	142
Алкоголь, n (%)	77 (54,22)	142
Креатинин, ммоль/л (M±SD)	85,4±13,78	142
Мочевина, ммоль/л (M±SD)	5,8±1,41	142
Относительная плотность, г/л (M±SD)	1015,5±8,58	142
pH мочи	5,72±0,7	142
Гемоглобин, г/л (M±SD)	148,5±13,46	142
Эритроциты, 10 ⁹ /л (M±SD)	5,34±3,63	142
Лейкоциты, 10 ⁹ /л (M±SD)	7,8±2,32	142
Тромбоциты, 10 ⁹ /л (M±SD)	258,1±69,88	142
СОЭ, мм/час (M±SD)	12,02±10,42	142
ПСА, нг/мл (M±SD)	2,59±1,73	142
Сопутствующие заболевания, n (%):		
1. Сердечно-сосудистые:		
– Гипертоническая болезнь	98 (69,0)	
– Ишемическая болезнь сердца	68 (47,8)	
– Другие	21 (14,7)	
2. Эндокринологические (сахарный диабет 2 типа – инсулиннезависимый)		
3. Пульмонологические (хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма)		
4. Гастроэнтерологические		
5. Урологические (мочекаменная болезнь, киста почки, эректильная дисфункция)		
6. Неврологические (дегенеративно дистрофические заболевания позвоночника, межпозвонковые грыжи)		
Итого, n (%):	108 (76,0)	
Коморбидные пациенты	51 (35,9)	
Без сопутствующей патологии	34 (23,9)	

Примечание: СОЭ – скорость оседания эритроцитов; ПСА – анализ на простат-специфический антиген.

Таблица 2 – Сопутствующая медикаментозная терапия у пациентов в период наблюдения

Лекарственная группа	n	Препараты	Ингибиторы СУРЗА	Индукторы СУРЗА	Субстраты СУРЗА
Диуретики	10	индапамид спиронолактон	–	–	–
Блокаторы кальциевых каналов	10	амлодипин лерканидипин	нифедипин (n=1)	–	–
Антагонист ангиотензиновых рецепторов	3	кандесартан телмисартан валсартан	–	–	–
Диабетические	6	метформин гликлазид эмпаглифлозин маннинил инсулин	–	–	–
иАПФ	14	периндоприл лизиноприл эналаприл	–	–	эналаприл (n=4)
Антикоагулянты	1	апиксабан	–	–	апиксабан
β-адреноблокаторы	15	бисопролол небиволол метопролол	–	–	–
Статины	11	аторвостатин розувостатин симвостатин	–	–	аторвостатин розувостатин симвостатин
НПВП	1	парацетамол	–	–	–
Антиагреганты	23	ацетилсалициловая кислота клопидогрел тикагрелол	–	–	–
Другие	10	месалазин изосорбит динитрит тербинафин формотерол метотрексат тофизопам фенибут фосфоглиф ребагит	–	–	симбекорд ингаляционные глюкокортикостероиды (n=3)
Без сопутствующей медикаментозной терапии, n (%)	73 (51,4)	–	–	–	–

Примечание: НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты, иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента.

Таблица 3 – Распределение генотипов по изучаемым полиморфизмам по частоте, соответствие распределения закону Харди–Вайнберга

Аллельный вариант	Алели	n (%)	Генотипы	n (%)	χ^2	Значение p
СУРЗА4*1В (с.-392G >A, rs2740574)	A	270 (95,1)	AA	128 (90,1)	0,3817	0,8262
	G	14 (4,9)	AG	14 (9,9)		
			GG	0 (0)		
СУРЗА4*22 (с.522-191C >T, rs35599367)	C	275 (96,8)	CC	133 (93,7)	0,1520	0,9267
	T	9 (3,2)	CT	9 (6,3)		
			TT	0 (0)		
СУРЗА5*3 (с.6986A >G, rs776746)	A	19 (6,7)	AA	1 (0,7)	0,2400	0,8869
	G	265 (93,3)	AG	17 (11,9)		
			GG	124 (87,4)		

Таблица 4 – Распределение фенотипических вариантов по CYP3A в исследуемой выборке

Фермент	Фенотип	Частота, n (%)	Генотипы
CYP3A	«Медленные» метаболизаторы (PM)	8 (5,6)	CYP3A4*22/*22 и CYP3A5*3*3
	«Промежуточные» метаболизаторы (IM)	117 (82,4)	CYP3A4*1/*1 и CYP3A5*3/*3, CYP3A4*1/*22 и CYP3A5*1/*3
	«Быстрые» метаболизаторы (EM)	17 (12,0)	CYP3A4*1/*1 и CYP3A5*1/*3, CYP3A4*1/*1 и CYP3A5*1/*1

Таблица 5 – Данные показателей оценки эффективности фармакотерапии тамсулозином у пациентов в выборке

Визит	Параметр	Генотип CYP3A4*1B			Генотип CYP3A4*22			Генотип CYP3A5*3		
		AA (n=128)	AG (n=14)	p	CC (n=133)	CT (n=9)	p	AA+AG (n=18)	GG (n=124)	p
1 (0 день)	IPSS, балл	19,06±7,22	20,71±6,04	0,41	19,18±7,06	19,77±8,25	0,81	20,05±7,22	19,10±7,12	0,59
	Субшкала ирритативных симптомов	10,54±4,7	10,78 ±4,02	0,83	10,51±4,65	11,33 ±4,44	0,61	10,94 ±4,41	10,51±4,67	0,71
	Субшкала обструктивных симптомов	8,0 [5,5; 11,0]	9,0 [7,0; 13,0]	0,30	8,0 [6,0; 11,0]	8,0 [5,0; 13,0]	0,78	8,0 [6,0; 14,0]	8,0 [6,0; 11,0]	0,7
	QoL	5,12 ±0,80	5,5 ±0,75	0,09	5,15 ±0,80	5,33 ±0,86	0,51	5,16 ±0,78	5,16 ±0,81	0,97
	Объем предстательной железы, см ³	35,25 [29,69; 47,3]	48,5 [30,32; 70,0]	0,10	35,66 [30,0; 48,5]	40,0 [33,2; 63,6]	0,92	42,6 [29,08; 63,5]	35,25 [30,0; 48,05]	0,43
	ООМ, мл	15,0 [2,5; 31,75]	18,5 [5,0; 40,0]	0,46	15,0 [2,0; 35,79]	9,0 [5,0; 20,14]	0,87	12,5 [0,0; 38,07]	15,0 [3,5; 33,75]	0,65
	Q _{max} , мл/сек	10,9 [8,1; 13,8]	9,45 [7,7; 12,3]	0,30	11,0 [8,5; 13,3]	10,9 [8,8; 14,0]	0,78	10,8 [8,3; 12,7]	10,95 [8,65; 13,45]	0,83
2 (2 недели)	IPSS, балл	-4,42±4,57	-5,28±5,29	0,51	-4,48±4,62	-4,88±5,03	0,79	-4,44±4,0	-4,51±4,73	0,95
	Субшкала ирритативных симптомов	-3,17±3,35	-2,92 ±3,12	0,84	-3,14±3,36	-3,33 ±2,73	0,86	-3,27±3,12	-3,13±3,36	0,86
	Субшкала обструктивных симптомов	-2,0 [-3,0; 0,0]	-2,5 [-4,0; 0,0]	0,92	-2,0 [-3,0; 0,0]	-2,0 [-4,0; -1,0]	0,80	-1,0 [-3,0; 0,0]	-2,0 [-3,0; -0,5]	0,37
	QoL	-1,03 ±1,11	-1,21 ±0,97	0,55	-1,04 ±1,11	-1,11 ±0,92	0,86	-1,38 ±1,37	-1,0 ±1,05	0,16
3 (4 недели)	IPSS, балл	-8,10±6,21	-9,35±5,56	0,47	-8,20±6,13	-8,55±6,69	0,86	-7,83±4,21	-8,28±6,39	0,77
	Субшкала ирритативных симптомов	-4,25±3,83	-4,35 ±2,89	0,94	-4,24±3,80	-4,55 ±2,83	0,81	-4,22±2,34	-4,27±3,91	0,95
	Субшкала обструктивных симптомов	-4,0 [-6,0; -2,0]	-4,0 [-9,0; -2,0]	0,44	-4,0 [-6,0; -2,0]	-3,0 [-6,0; -1,0]	0,76	-3,5 [-5,0; -2,0]	-4,0 [-6,0; -2,5]	0,69
	QoL	-1,84 ±1,25	-2,21 ±1,36	0,29	-1,66 ±1,11	-1,89 ±1,27	0,60	-2,05 ±1,55	-1,85 ±1,22	0,53
4 (8 недель)	IPSS, балл	-9,93±7,14	-12,28±6,26	0,24	-10,08±7,11	-11,44±6,87	0,57	-10,83±5,42	-10,07±7,30	0,67
	Субшкала ирритативных симптомов	-5,40±4,35	-6,35 ±2,70	0,49	-5,45±4,30	-6,11 ±2,80	0,65	-6,16±2,74	-5,40±4,39	0,47
	Субшкала обструктивных симптомов	-4,0 [-7,0; -2,0]	-6,0 [-10,0; -3,0]	0,29	-4,0 [-7,0; -2,0]	-4,0 [-8,0; -2,0]	0,71	-4,0 [-8,0; -2,0]	-4,0 [-7,0; -2,0]	0,88
	QoL	-2,47 ±1,38	-2,85 ±1,74	0,34	-3,22 ±1,64	-2,46 ±1,39	0,12	-2,5 ±1,65	-2,51 ±1,38	0,96
	Объем предстательной железы, см ³	36,1 [29,12; 46,9]	37,75 [31,2; 64,0]	0,31	36,5 [29,0; 47,21]	37,9 [32,0; 62,05]	0,48	37,75 [28,09; 59,0]	36,1 [29,62; 47,6]	0,77
	ООМ, мл	7,0 [2,5; 19,0]	9,0 [5,0; 20,0]	0,33	7,0 [3,0; 20,0]	7,0 [5,0; 10,0]	0,86	8,0 [3,0; 15,0]	7,0 [2,5; 19,35]	0,77
Δ ООМ	-5,0 [-17,37; 1,0]	-8,39 [-23,0; 0,0]	0,61	-6,0 [-18,0; 1,0]	-2,76 [-17,14; 1,0]	0,53	-7,5 [-14,0; 3,0]	-5,0 [-19,0; 1,0]	0,55	
Q _{max} , мл/сек	13,8 [9,1; 17,2]	12,75 [7,8; 16,7]	0,52	14,0 [10,3; 17,2]	14,7 [13,2; 16,7]	0,45	14,05 [8,7; 16,2]	14,0 [11,0; 17,2]	0,42	
ΔQ _{max}	2,3 [-0,1; 5,0]	2,6 [0,9; 4,4]	0,74	2,8 [0,8; 5,0]	4,3 [2,4; 5,4]	0,40	2,65 [0,9; 3,9]	2,8 [0,8; 5,3]	0,60	

Примечание: IPSS – Международная система суммарной оценки симптомов болезней предстательной железы (International Prostate Symptom Score); QoL – шкала IPSS по оценке качества жизни (Quality of life); ООМ – объем остаточной мочи; Q_{max} – максимальная скорость струи мочи по результатам урофлоуметрии.

Таблица 6 – Распределение НПР в исследуемой выборке

Вид НПР	n (%)
Ретроградная эякуляция	8 (22,2)
Ортостатическая гипотензия	7 (19,5)
Изжога	4 (11,1)
Головокружение	4 (11,1)
Гипертония	3 (8,4)
Диспепсия	2 (5,5)
Головные боли	2 (5,5)
Помутнение зрения	2 (5,5)
Эректильная дисфункция	1 (2,8)
Диарея	1 (2,8)
Боль в спине	1 (2,8)
Ринит	1 (2,8)
Всего	36

Примечание: НПР – нежелательная побочная реакция.

Таблица 7 – Частота встречаемости НПР пациентов с учетом классификации метаболической активности CYP3A

Фермент	Фенотип	n (%)	p
CYP3A	IM	5 (20,8%)	0,168
	EM	19 (79,2%)	
	PM	0 (0%)	

Примечание: для расчетов *p*-значения использовался критерий χ^2 Пирсона. EM – «быстрые» метаболизаторы; IM – «промежуточные» метаболизаторы; PM – «медленные» метаболизаторы.

Таблица 8 – Данные описательной статистики значений Css_{min} тамсулозина в исследованной выборке

Параметр	Значение
Количество проб	75
Среднее (M), нг/мл	8,2
SD	7,78
Медиана (Me), нг/мл	5,9
Q1	2,13
Q3	11,6
Максимум, нг/мл	26,5
Минимум, нг/мл	0,0

Таблица 9 – Сравнение значений Css_{min} тамсулозина в группах EM, IM и PM по CYP3A

Показатель	EM (n=11)		IM (n=61)		PM (n=3)		<i>p</i>
	EM (n=11)	min–max	IM (n=61)	min–max	PM (n=3)	min–max	
Css_{min} (Me [25,75]), нг/мл	7,26[0,0;15,05]	0–23,4	5,88[2,4;11,6]	0–26,5	8,4[0,18;10,19]	0,18–10,19	0,9539

Примечание: для расчета *p*-значения использовался *H*-тест Крускала-Уоллиса. EM – «быстрые» метаболизаторы; IM – «промежуточные» метаболизаторы; PM – «медленные» метаболизаторы.

Таблица 10 – Сравнение значений Css_{min} тамсулозина между пациентами относительно носительства вариантов CYP3A4*1B, CYP3A4*22 и CYP3A5*3

Аллель	Генотип	n	Css_{min} (Me [25,75]), нг/мл	min–max	<i>p</i>
CYP3A4*1B	AG	8	7,21 [2,25;19,22]	0–26,5	0,57
	AA	67	5,88 [2,13;11,3]	0–26,3	
CYP3A4*22	CT	4	9,29 [4,29;18,34]	0,18–26,5	0,37
	CC	71	5,88 [2,13;11,6]	0–26,3	
CYP3A5*3	AG	11	7,26 [0,0;15,05]	0,0–23,4	0,76
	GG	64	5,89 [2,36;11,45]	0–26,5	

Примечание: для расчетов *p*-значения использовался тест Манна-Уитни.

Таблица 11 – Результаты проведенного ВЭЖХ-МС/МС по определению в моче концентрации кортизола и 6b-НС

Группы (n=131)	Значения	Концентрация Кортизола, нг/мл	Концентрация 6b-НС, нг/мл	6b-НС / кортизол (усл. ед)
EM (n=16)	Me	60,6	129,05	1,9
	Q1	43,3	106,2	1,55
	Q3	97,65	217,25	3,85
	max	175,2	325,4	5,8
	min	18,4	19,2	0,8
IM (n=108)	Me	51,65	104,75	2,4
	Q1	28,65	64,45	1,3
	Q3	84,5	178,6	4,1
	max	273,9	1075,5	8,8
	min	1,6	6,1	0,2
PM (n=7)	Me	43,12	132,72	2,97
	Q1	36,08	105,25	5,31
	Q3	50,92	289,54	2,55
	max	129,78	80,45	7,97
	min	28,09	344,02	2,23

Примечание: EM – «быстрые» метаболизаторы; IM – «промежуточные» метаболизаторы; PM – «медленные» метаболизаторы.

Таблица 12 – Разница в значениях метаболического отношения 6-НС / кортизол у пациентов с разными фенотипами по CYP3A

Группы пациентов по фенотипам по CYP3A	Результаты сравнения
EM vs IM vs PM	0,235
EM vs IM	0,902
IM vs PM	0,106467
EM vs PM	0,076627

Примечания: для расчетов *p*-значения использовались *H*-тест Крускала–Уоллиса и попарный *U*-тест Манна–Уитни.

Таблица 13 – Значения показателей коэффициентов корреляции Спирмена (r_s), отражающих взаимосвязь между концентрацией кортизола, 6b-НС и отношением 6b-НС / кортизола у пациентов и разностью величин изучаемых клинических показателей до и после терапии

Показатель	Концентрация кортизола	<i>p</i>	Концентрация 6b-НС	<i>p</i>	6b-НС / кортизол	<i>p</i>
IPSS	-0,047027	>0,05	0,073377	>0,05	-0,105449	>0,05
OC	-0,004519	>0,05	0,045193	>0,05	-0,059237	>0,05
ИС	-0,058387	>0,05	0,084310	>0,05	-0,114064	>0,05
QoL	-0,057905	>0,05	-0,048397	>0,05	-0,019504	>0,05
Δ OOM	-0,098710	>0,05	0,098710	>0,05	0,163890	>0,05
Δ Qmax	-0,103879	>0,05	-0,103879	>0,05	0,035049	>0,05

Примечание: OC – субшкала IPSS по оценке тяжести обструктивных симптомов; ИС – субшкала IPSS по оценке тяжести ирритативных симптомов; QoL – шкала IPSS по оценке качества жизни (Quality of Life), OOM – объем остаточной мочи; Q_{max} – максимальная скорость струи мочи по результатам урофлоуметрии.

По результатам генотипирования в зависимости от генотипа и кодируемой фенотипической активности CYP3A все пациенты были разделены на группы по уровню активности ферментов [16]. Распределение фенотипических вариантов активности CYP3A представлено в таблице 4.

Динамика изменения субъективной оценки симптоматики СНМП по шкале IPSS, субшкалам и QoI среди пациентов, относящихся к разным типам метаболитов по CYP3A, представлена на рисунке 2.

Таким образом, полученные данные демонстрируют отсутствие статистически значимой (при использовании ANOVA-тест) связи между фенотипом по CYP3A и клиническими параметрами оценки эффективности терапии тамсулозином в выборке обследованных пациентов с СНМП при ДГПЖ ($p > 0,05$).

На рисунке 3 представлены данные сравнения показателей объема предстательной железы, OOM и Q_{\max} у пациентов из групп PM, IM и EM на 1 и 4 визитах.

Проведенный анализ показывает отсутствие статистически значимой связи между фенотипом, определенного по генотипу CYP3A4 и CYP3A5, и клиническими параметрами оценки эффективности терапии тамсулозином в исследованной выборке пациентов ($p > 0,05$ по U -тесту Манна–Уитни).

Далее был произведен поиск взаимосвязей между клиническими параметрами оценки эффективности проводимой терапии у пациентов с СНМП при ДГПЖ и носительством отдельных полиморфных маркеров генов: CYP3A4*1B, CYP3A4*22, CYP3A5*3 (табл. 5).

При сравнении результатов лечения пациентов, вошедших в исследование между объединённой группой носителей полиморфизма CYP3A5*3 (AA+AG) и неносителями (GG) на протяжении периода наблюдения, статистически значимых данных выявлено не было. Аналогичные результаты были получены при анализе влияния носительства полиморфизмов CYP3A4*1B и CYP3A4*22 на клинические параметры терапии тамсулозином СНМП при ДГПЖ.

Анализ результатов расчета показал, что в группе из 142 пациентов статистически значимых ассоциаций ни по одному из рассматриваемых клинических параметров и носительством вариантов CYP3A4 и CYP3A5 у пациентов выявлено не было.

Оценка безопасности

На протяжении всего периода наблюдения за пациентами, принимавших тамсулозин по показанию СНМП при ДГПЖ, всего у 30 пациентов было выявлено 36 случаев развития НПР (табл. 6).

При этом 24 пациента заявляли о развитии у них одной НПР, а 6 пациентов – более 1 НПР. Среди всех пациентов, у которых развилось НПР, ни одно из них не стало причиной отмены назначенной терапии.

Распределение НПР согласно фенотипам CYP3A представлено в таблице 7.

Оценка взаимосвязи равновесной остаточной концентрации тамсулозина с фенотипом CYP3A и аллельными вариантами CYP3A4 и CYP3A5

Среди 142 пациентов с СНМП при ДГПЖ получавших терапию тамсулозином, у 88 пациентов был осуществлен забор плазмы крови для определения равновесной остаточной концентрации ($C_{ss_{\min}}$) препарата. Из 88 проб для анализа были отобраны результаты 75 образцов, а 13 было исключено ввиду завышенных абсолютных значений $C_{ss_{\min}}$, что могло быть связано с тем, что пациенты принимали очередную дозу препарата перед приемом у врача и до сдачи образца плазмы крови. Данные описательной статистики результатов образцов, включенных для анализа, представлены в таблице 8.

Проведена оценка влияния фенотипов CYP3A на $C_{ss_{\min}}$ тамсулозина у пациентов с СНМП при ДГПЖ. Статистический расчёт был произведен для групп EM ($n=11$), IM ($n=61$) и PM ($n=3$) (табл. 9).

По результатам сравнения групп каких-либо значимых ассоциаций между значениями $C_{ss_{\min}}$ тамсулозина и типом фенотипа CYP3A (EM, IM и PM) пациентов выявлено не было ($p > 0,05$).

Сравнение $C_{ss_{\min}}$ тамсулозина у пациентов в исследуемой выборке относительно носительства вариантов генов CYP3A4 и CYP3A5 не выявил наличия значимых различий между носителями и неносителями аллелей CYP3A4*1B ($p=0,57$), CYP3A4*22 ($p=0,37$) и CYP3A5*3 ($p=0,76$) (табл. 10).

Оценка влияния активности изоферментов CYP3A на эффективность и безопасность

Метаболическое отношение 6b-НС / кортизол в моче было определено у 131 пациента. Результаты генотипирования CYP3A по 6b-НС / кортизол в моче у пациентов с СНМП при ДГПЖ, генотипированных по аллельным вариантам CYP3A4 и CYP3A5, и их описательная статистика представлены в таблице 11 и на рисунке 4.

Не было обнаружено связи между метаболическим отношением 6b-НС / кортизол в моче и фенотипом CYP3A, кодируемых по сочетанию генотипов вариантов генов CYP3A4 и CYP3A5 (табл. 12).

Корреляционный анализ Спирмена показал отсутствие статистически значимой связи между концентрациями кортизола, 6b-НС, их отношением и всеми изученными показателями эффективности и безопасности терапии тамсулозином в выборке пациентов (табл. 13).

ОБСУЖДЕНИЕ

Биотрансформация тамсулозина в организме происходит под действием ферментов CYP3A4 и

CYP2D6. В инструкциях препаратов тамсулозина в разделе мер предосторожности дается информация о том, что не следует применять препарат в комбинации с сильными ингибиторами CYP3A4 (например, кетоконазол) и CYP2D6 (например, пароксетин), применять с осторожностью с умеренными ингибиторами CYP3A4 (например, эритромицин) и CYP2D6 (например, тербинафин). Очевидно, что функциональная активность ферментов метаболиторов играет ключевую роль в лекарственном ответе препарата.

Ранее рядом авторов была исследована потенциальная роль генетических маркеров, кодирующих изменение активности ферментов CYP3A4, CYP3A5 и CYP2D6, на вариабельность параметров фармакокинетики препарата у здоровых добровольцев. Так, в работе Kim K.A. и соавт. (2018) исследовали влияние аллельных вариантов генов CYP2D6 (*2, *4, *5, *10, *14, *21, *41 и *xN) и CYP3A5 (*3) на пиковую концентрацию (C_{max}) и суммарную концентрацию препарата в промежуток наблюдения (AUC) в плазме крови у 29 добровольцев. Авторы заключили, что значимый эффект на значения C_{max} и AUC оказывает носительство маркеров CYP2D6*4 и *10, тогда как генотипы по CYP3A5*3 никак не влияли на изучаемые параметры [21]. В другой работе Villapalos-García G. и соавт. (2021) в группе 79 здоровых добровольцев было показано, что у субъектов, являющихся «медленными» метаболиторами по CYP3A5, ниже показатели клиренса (Cl/F) тамсулозина, чем у «нормальных» и «быстрых» метаболиторов, но ассоциации нивелировались после коррекции поправкой на множественное сравнение. Значимые взаимосвязи обнаружены для вариантов CYP2D6: у «медленных» (*4/*4 и *4/*5) и «промежуточных» (*1/*4, *1/*5, *4/*15) метаболиторов по CYP2D6 отмечались более высокие значения AUC ($p=0,004$), более высокий $T_{1/2}$ ($p=0,008$) и более низкий показатель Cl/F ($p=0,006$) по сравнению с «нормальными» (*1/*1) и «быстрыми» (*1/*1x2) метаболиторами [22].

Стоит отметить, что абсолютное большинство работ по фармакогенетике тамсулозина исследуют вопрос влияния маркеров CYP2D6 на фармакокинетику препарата, во всех случаях исследования проведены на здоровых добровольцах относительно молодого возраста [21–24].

В нашем исследовании впервые была проведена попытка оценить вклад носительства аллельных вариантов генов CYP3A4 и CYP3A5 на эффективность и безопасность терапии тамсулозином у пациентов с СНМП при ДГПЖ. Совместная консенсусная рекомендация Ассоциации молекулярной патологии (Association for Molecular Pathology, AMP) относит варианты CYP3A4*22 (rs35599367) и CYP3A5*3 (rs776746) к маркерам первого уровня, минимуму для тестирования, если препарат метаболизируется

данными ферментами. Другие аллели, CYP3A5*6 и CYP3A5*7 также относящиеся к первому уровню, в нашей работе не изучались, в связи с их низкой распространённостью среди европейской популяции [13]. Именно этим был обусловлен выбор маркеров для нашего исследования.

Анализ результатов нашей работы показывает, что фенотип CYP3A пациентов, определяемый по генотипам CYP3A4 и CYP3A5, не играет существенной роли в модуляции значений баллов по шкале IPSS, используемой для субъективной оценки эффективности проводимой терапии, и не влияет на частоту развития НПР в ответ на прием лекарства. Даже, несмотря на то, что варианты CYP3A4*22 (rs35599367) и CYP3A5*3 (rs776746) кодируют альтернативный сплайсинг, приводят к укорочению белка и экспрессии нефункционального белка, анализ их вклада по отдельности в нашем исследовании не выявил никаких ассоциаций с параметрами оценки эффективности терапии тамсулозином (IPSS, QoL, OOM и Q_{max}).

Все больше данных свидетельствуют о том, что генетические вариации CYP3A4 и CYP3A5 вносят существенный вклад в межиндивидуальную вариабельность метаболической активности CYP3A [15, 16]. В частности, основное внимание авторов направлено на CYP3A4*22 (rs35599367) и CYP3A5*3 (rs776746), для которых многие исследования выявили влияние их носительства на активность CYP3A. В настоящей работе мы изучили совместный вклад данных полиморфных маркеров на фенотипическую активность CYP3A, который в свою очередь был оценен по уровню метаболизма эндогенного кортизола – эндогенного субстрата фермента. Суть метода определения активности CYP3A сводится к тому, что по отношению метаболита 6b-НС к исходному кортизолу можно судить об активности фермента. Мы не нашли разницы между отношениями 6-НС / кортизол при сравнении в группах «медленных», «промежуточных» и «быстрых» метаболиторов. Фенотипирование CYP3A по 6b-НС / кортизол не всегда является удобным и надежным способом определения активности фермента, что подтверждалось рядом исследований [25, 26]. В нашем случае результаты так же свидетельствуют о том, что нет связи между метаболической активностью CYP3A, определяемой по отношению эндогенного кортизола и его метаболита, и носительством аллелей, кодирующих снижение функциональной активности CYP3A. Анализ также не выявил корреляций между 6b-НС / кортизол и показателями эффективности терапии тамсулозином у пациентов с СНМП при ДГПЖ.

Исследования *in vitro* показывают, что образование метаболитов тамсулозина, AM-1, M-1 и M-2, катализируется CYP3A4, в то время как образование M-3 и M-4 катализируется

CYP2D6 [27], а основное фармакологическое действие обусловлено исходным соединением. Учитывая путь метаболизма и факт потенциального негативного влияния при совместном приеме ингибиторов CYP3A4, влияние CYP3A на фармакокинетические параметры терапии тамсулозином неоспоримы. Однако если предположить, что варианты CYP2D6 играют преимущественную роль в метаболизме препарата, то вклад вариантов CYP3A может быть замаскирован активностью CYP2D6. Это может объяснять и результаты, полученные в нашем исследовании.

Ограничения исследования

Ограничениями нашего исследования были: относительно небольшой объем выборки, поэтому некоторые возможные клинически значимые ассоциации между факторами не могли быть доказаны статистическими методами. Также стоит отметить ограниченный период наблюдения, ограниченное число генов-кандидатов и аллельных вариантов CYP3A4 и CYP3A5 в анализе. В работе не анализировался вклад генов-кандидатов и аллельных вариантов гена фермента CYP2D6, который также

участвует в метаболизме тамсулозина. Исследование проводилось в условиях амбулаторного приема в поликлинике, что не позволяет минимизировать влияние режима дня, образа жизни, диеты, возможной сопутствующей фармакотерапии и других факторов на вариабельность клинических параметров эффективности и безопасности, значений измеряемой равновесной остаточной концентрации препарата, вариабельности концентраций кортизола и его метаболита, использованных для оценки активности ферментов CYP3A.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возможная связь между носительством аллельных вариантов CYP3A4*1B, CYP3A4*22, CYP3A5*3, активностью CYP3A, оцениваемой по содержанию в моче эндогенного субстрата данного изофермента и его метаболита, уровнем плазменной концентрации, эффективностью и безопасностью тамсулозина не подтверждена. Вопрос о вкладе генетических полиморфизмов CYP3A4 и CYP3A5 на клинические параметры терапии тамсулозином требует дальнейшего изучения с увеличением выборки пациентов, с включением в анализ маркеров гена CYP2D6.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда по гранту № 23-15-00310 «Персонализированная фармакотерапия пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы на основе использования молекулярных биомаркеров ADME-процессов».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Ш.П. Абдуллаев – идея и концепция исследования, проведение исследования, систематизация данных литературы, написание и редактирование текста рукописи, формулировка выводов; М.Н. Шатохин – идея и разработка концепции рукописи, систематизация литературных данных, редактирование текста, формулировка выводов, утверждение окончательной версии рукописи для публикации; О.Л. Сигаило – анализ и интерпретация данных литературы, участие в проведении исследования, анализ и обсуждение полученных результатов; Ш.П. Абдуллаев – идея и концепция исследования, статистическая обработка данных, написание и редактирование текста рукописи, формулировка выводов; П.О. Бочков – разработка методик и проведение количественного определения концентрации препарата в плазме крови, постановка методики фенотипирования в образцах, статистическая обработка данных, редактирование текста, формулировка выводов; С.Н. Тучкова – проведение генотипирования образцов, редактирование текста рукописи; О.В. Теодорович – участие в разработке концепции рукописи, редактирование отдельных разделов рукописи; О.Б. Лоран – критический пересмотр рукописи, утверждение окончательной версии разделов рукописи для публикации; Д.А. Сычев – разработка концепции исследования, критический анализ полученных результатов, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Wei J.T., Calhoun E., Jacobsen S.J. Urologic diseases in America project: benign prostatic hyperplasia // J Urol. – 2005. – Vol. 173, No. 4. – P. 1256–1261. DOI: 10.1097/01.ju.0000155709.37840.fe
2. McVary K.T., Roehrborn C.G., Avins A.L., Barry M.J., Bruskewitz R.C., Donnell R.F., Foster H.E. Jr., Gonzalez C.M., Kaplan S.A., Penson D.F., Ulchaker J.C., Wei J.T. Update on AUA guideline on the management of benign prostatic hyperplasia // J Urol. – 2011. – Vol. 185, No. 5. – P. 1793–1803. DOI: 10.1016/j.juro.2011.01.074
3. Michel M.C., Kenny B., Schwinn D.A. Classification of

- alpha 1-adrenoceptor subtypes // *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol.* – 1995. – Vol. 352, No. 1. – P. 1–10. DOI: 10.1007/BF00169183
4. Roehrborn C.G. Efficacy of alpha-adrenergic receptor blockers in the treatment of male lower urinary tract symptoms. *Rev Urol.* – 2009. – Vol. 11, Suppl 1. – P. S1–S8.
 5. Knox C., Wilson A., Klinger C.M., Franklin M., Oler E., Wilson A., Pon A., Cox J., Chin N.E.L., Strawbridge S.A., Garcia-Patino M., Kruger R., Sivakumaran A., Sanford S., Doshi R., Khetarpal N., Fatokun O., Doucet D., Zubkowski A., Rayat D.Y., Jackson H., Harford K., Anjum A., Zakir M., Wang F., Tian S., Lee B., Liigand J., Peters H., Wang R.Q.R., Nguyen T., So D., Sharp M., da Silva R., Gabriel C., Scantlebury J., Jasinski M., Ackerman D., Jewison T., Sajed T., Gautam V., Wishart D.S. DrugBank 6.0: the Drug-Bank Knowledgebase for 2024 // *Nucleic Acids Research.* – 2024. – Vol. 52, No. D1. – P. D1265–D1275. DOI: 10.1093/nar/gkad976
 6. Domanski T.L., Finta C., Halpert J.R., Zaphiropoulos P.G. cDNA cloning and initial characterization of CYP3A43, a novel human cytochrome P450 // *Mol Pharmacol.* – 2001. – Vol. 59, No. 2. – P. 386–392. DOI: 10.1124/mol.59.2.386
 7. Huang W., Lin Y.S., McConn D.J. 2nd, Calamia J.C., Totah R.A., Isoherranen N., Glodowski M., Thummel K.E. Evidence of significant contribution from CYP3A5 to hepatic drug metabolism // *Drug Metab Dispos.* – 2004. – Vol. 32, No. 12. – P. 1434–1445. DOI: 10.1124/dmd.104.001313
 8. Kivistö K.T., Bookjans G., Fromm M.F., Griese E.U., Münzel P., Kroemer H.K. Expression of CYP3A4, CYP3A5 and CYP3A7 in human duodenal tissue // *Br J Clin Pharmacol.* – 1996. – Vol. 42, No. 3. – P. 387–389. DOI: 10.1046/j.1365-2125.1996.42615.x
 9. Shimada T., Yamazaki H., Mimura M., Inui Y., Guengerich F.P. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians // *J Pharmacol Exp Ther.* – 1994. – Vol. 270, No. 1. – P. 414–423.
 10. Lamba J.K., Lin Y.S., Schuetz E.G., Thummel K.E. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2002. – Vol. 54, No. 10. – P. 1271–1294. DOI: 10.1016/s0169-409x(02)00066-2
 11. Ozdemir V., Kalow W., Tang B.K., Paterson A.D., Walker S.E., Endrenyi L., Kashuba A.D. Evaluation of the genetic component of variability in CYP3A4 activity: a repeated drug administration method // *Pharmacogenetics.* – 2000. – Vol. 10, No. 5. – P. 373–388. DOI: 10.1097/00008571-200007000-00001
 12. Mulder T.A.M., van Eerden R.A.G., de With M., Elens L., Hesselink D.A., Matic M., Bins S., Mathijssen R.H.J., van Schaik R.H.N. CYP3A4*22 Genotyping in Clinical Practice: Ready for Implementation? // *Front Genet.* – 2021. – Vol. 12:711943. DOI: 10.3389/fgene.2021.711943
 13. Pratt V.M., Cavallari L.H., Fulmer M.L., Gaedigk A., Hachad H., Ji Y., Kalman L.V., Ly R.C., Moyer A.M., Scott S.A., van Schaik R.H.N., Whirl-Carrillo M., Weck K.E. CYP3A4 and CYP3A5 Genotyping Recommendations: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, College of American Pathologists, Dutch Pharmacogenetics Working Group of the Royal Dutch Pharmacists Association, European Society for Pharmacogenomics and Personalized Therapy, and Pharmacogenomics Knowledgebase // *J Mol Diagn.* – 2023. – Vol. 25, No. 9. – P. 619–629. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2023.06.008
 14. Saiz-Rodríguez M., Almenara S., Navares-Gómez M., Ochoa D., Román M., Zubiaur P., Koller D., Santos M., Mejía G., Borobia A.M., Rodríguez-Antona C, Abad-Santos F. Effect of the Most Relevant CYP3A4 and CYP3A5 Polymorphisms on the Pharmacokinetic Parameters of 10 CYP3A Substrates // *Biomedicines.* – 2020. – Vol. 8, No. 4. – P. 94. DOI: 10.3390/biomedicines8040094
 15. Werk A.N., Cascorbi I. Functional gene variants of CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther.* 2014. – Vol. 96, No. 3. – P. 340–348. DOI: 10.1038/clpt.2014.129
 16. Van Schaik R.H., van der Heiden I.P., van den Anker J.N., Lindemans J. CYP3A5 variant allele frequencies in Dutch Caucasians. *Clin Chem.* 2002. – Vol. 48, No. 10. – P. 1668–1671. DOI: 10.1093/clinchem/48.10.1668
 17. Bains R.K., Kovacevic M., Plaster C.A., Tarekegn A., Bekele E., Bradman N.N., Thomas M.G. Molecular diversity and population structure at the Cytochrome P450 3A5 gene in Africa // *BMC Genet.* – 2013. – Vol. 14. – Art. ID: 34. DOI: 10.1186/1471-2156-14-34
 18. Whirl-Carrillo M., Huddart R., Gong L., Sangkuhl K., Thorn C.F., Whaley R., Klein T.E. An Evidence-Based Framework for Evaluating Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine // *Clin Pharmacol Ther.* – 2021. – Vol. 110, No. 3. – P. 563–572. DOI: 10.1002/cpt.2350
 19. Birdwell K.A., Decker B., Barbarino J.M., Peterson J.F., Stein C.M., Sadee W., Wang D., Vinks A.A., He Y., Swen J.J., Leeder J.S., van Schaik R., Thummel K.E., Klein T.E., Caudle K.E., MacPhee I.A. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing // *Clin Pharmacol Ther.* – 2015. – Vol. 98, No. 1. – P. 19–24. DOI: 10.1002/cpt.113
 20. Смирнов В.В., Савченко А.Ю., Раменская Г.В. Разработка и валидация методики количественного определения эндогенного кортизола и 6-β-гидроокортизола в моче с целью определения активности изофермента CYP 3A4 // *Биомедицина.* – 2010. – № 4. – С. 56–60.
 21. Kim K.A., Park I.B., Park J.Y. Effects of CYP2D6 and CYP3A5 genetic polymorphisms on steady-state pharmacokinetics and hemodynamic effects of tamsulosin in humans // *Eur J Clin Pharmacol.* – 2018. – Vol. 74, No. 10. – P. 1281–1289. DOI: 10.1007/s00228-018-2501-x
 22. Villalpos-García G., Zubiaur P., Navares-Gómez M., Saiz-Rodríguez M., Mejía-Abril G., Martín-Vílchez S., Román M., Ochoa D., Abad-Santos F. Effects of Cytochrome P450 and Transporter Polymorphisms on the Bioavailability and Safety of Dutasteride and Tamsulosin // *Front Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 718281. DOI: 10.3389/fphar.2021.718281
 23. Choi C.I., Bae J.W., Jang C.G., Lee S.Y. Tamsulosin exposure is significantly increased by the CYP2D6*10/*10 genotype // *J Clin Pharmacol.* – 2012. – Vol. 52, No. 12. – P. 1934–1938. DOI: 10.1177/0091270011432168
 24. Cho C.K., Kang P., Park H.J., Lee Y.J., Bae J.W., Jang C.G., Lee S.Y. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling of tamsulosin related to CYP2D6*10 allele // *Arch Pharm Res.* – 2021. – Vol. 44, No. 11. – P. 1037–1049. DOI: 10.1007/s12272-021-01357-z
 25. Застрожин М.С., Гришина Е.А., Скрыбин В.Ю., Галактионова Т.Е., Барна И.В., Антоненко А.П.,

- Вдовина М.Н., Пахомов С.Р., Савченко Л.Д., Брюн Е.А., Сычев Д.А. Влияние полиморфизма гена ABCB1 на эффективность и безопасность бромдигидрохлорфенилбензодиазепина у пациентов с тревожными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью // Наркология. – 2019. – Т. 18, № 6. – С. 39–50. DOI: 10.25557/1682-8313.2019.06.39-50
26. Застрожин М.С., Панов А.С., Гришина Е.А., Смирнов В.В., Рыжикова К.А., Шипицын В.В., Иванов А.В., Скрябин В.Ю., Сорокин А.С., Савченко Л.Д., Брюн Е.А., Сычев Д.А. Влияние активности CYP3A на эффективность и безопасность карбамазепина у пациентов с аффективными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью // Наркология. – 2019. – Т. 18, № 2. – С. 60–68. DOI: 10.25557/1682-8313.2019.02.60-68
27. Kamimura H., Oishi S., Matsushima H., Watanabe T., Higuchi S., Hall M., Wood S.G., Chasseaud L.F. Identification of cytochrome P450 isozymes involved in metabolism of the alpha1-adrenoceptor blocker tamsulosin in human liver microsomes // Xenobiotica. – 1998. – Vol. 28, No. 10. – P. 909–922. DOI: 10.1080/004982598238985

АВТОРЫ

Абдуллаев Шохрух Пардабойевич – аспирант кафедры эндоскопической урологии, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; врач-уролог НИЦ «Курчатовский институт». ORCID ID: 0000-0002-7737-1534. E-mail: luon@mail.ru

Шатохин Максим Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры эндоскопической урологии, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; врач уролог-андролог, ЧУЗ «Центральная клиническая больница «РЖД-медицина». ORCID ID: 0000-0002-1285-7357. E-mail: sh.77@mail.ru

Сигаило Олег Леонидович – ординатор кафедры эндоскопической урологии, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. ORCID ID: 0009-0007-9294-6504. E-mail: sigailooleg@gmail.com,

Абдуллаев Шерзод Пардабоевич – кандидат биологических наук, заведующий отделом предиктивных и прогностических биомаркеров научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9001-1499. E-mail: abdullaevsp@gmail.com

Бочков Павел Олегович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела предиктивных и прогностических биомаркеров научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины,

ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-8555-5969. E-mail: bok-of@yandex.ru

Тучкова Светлана Николаевна – младший научный сотрудник отдела предиктивных и прогностических биомаркеров научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. ORCID ID: 0009-0001-2744-2752. E-mail: svetlanatuch1998@gmail.com

Теодорович Олег Валентинович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эндоскопической урологии, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; руководитель урологического центра, врач уролог-андролог, ЧУЗ «Центральная клиническая больница «РЖД-медицина». ORCID ID: 0000-0002-5145-0445. E-mail: teoclinic1@gmail.com

Лоран Олег Борисович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой урологии и хирургической андрологии, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-7531-1511. E-mail: olegloran@gmail.com

Сычев Дмитрий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, ректор, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии имени Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-4496-3680. E-mail: dimasychev@mail.ru

УДК 543.544.53+615.224



Разработка методики количественного определения оксида азота (NO) в тканях крыс с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии

Н.С. Попов¹, Д.А. Гавриленко¹, М.С. Баранов², В.Ю. Балабаньян²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственной медицинской академии»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
170100, Россия, г. Тверь, ул. Советская, д. 4

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

«Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
117997, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

E-mail: ns.popov@mail.ru

Получена 14.07.2023

После рецензирования 28.03.2024

Принята к печати 01.04.2024

Количественная оценка продукции оксида азота (NO) в тканях организма является актуальной задачей фармакологии и биохимии. Изучение физиологических процессов, протекающих с участием NO, а также метаболизма и фармакодинамики фармакологических средств из группы донаторов NO требует внедрения точных и воспроизводимых методик количественного определения данного метаболита в биологических средах.

Цель. Разработка ВЭЖХ-МС/МС методики количественного определения оксида азота в различных тканях крыс.

Материалы и методы. Непрямое количественное определение NO было основано на оценке уровня более стабильных метаболитов: нитритов и нитратов, которые извлекали из тканей крыс путем гомогенизации с водой. Восстановление нитратов до нитритов осуществляли с помощью нитрат редуктазы. В основе дериватизации нитритов использовали реакцию с реактивом Грисса. Полученный азокраситель определяли с помощью ВЭЖХ-МС/МС с использованием аналитической колонки Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 4,6×100 мм, 2,7 мкм. Общее время хроматографического анализа составило 12 минут, время удерживания аналита составило 6,1 минут. Аналитический диапазон методики составил 0,1–100,0 нмоль (в пересчете на нитрит) на 1 мл плазмы или гомогената ткани.

Результаты. Разработанная биоаналитическая методика была валидирована по следующим параметрам: селективность, матричный эффект, степень извлечения, перенос пробы, линейность аналитического диапазона, нижний предел количественного определения (НПКО), внутри- и межсерийная точность и прецизионность, стабильность на всех этапах анализа. Для апробации методики было проведено определение содержания NO в плазме, головном мозге, сердце, аорте и легких крыс.

Заключение. Разработанная биоаналитическая ВЭЖХ-МС/МС-методика полностью соответствует валидационным требованиям. Метрологические характеристики методики позволяют с высокой точностью оценить продукцию NO в различных тканях крыс, что, несомненно, представляет актуальным и востребованным в исследовании патологических процессов, а также механизма действия фармакологических средств из группы донаторов NO.

Ключевые слова: ВЭЖХ-МС/МС; хроматография; масс-спектрометрия; эндотелиальный релаксирующий фактор; оксид азота

Список сокращений: NO – оксид азота / эндотелиальный релаксирующий фактор; ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием; IS – внутренний стандарт; AUC – площадь под кривой хроматографического пика; NADH – никотинамидаденинадинуклеотид; MRM – мониторинг множественных реакций; НПКО – нижний предел количественного определения; ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота; NMF – нормированный матричный фактор; CV – коэффициент вариации; SD – стандартное отклонение; DP – декластеризующий потенциал; CEP – напряжение на входе в ячейку соударений; CE – энергия столкновений; CXP – выходной потенциал ячейки соударений.

Для цитирования: Н.С. Попов, Д.А. Гавриленко, М.С. Баранов, В.Ю. Балабаньян. Разработка методики количественного определения оксида азота (NO) в тканях крыс с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. *Фармация и фармакология*. 2024;12(1):49-62. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-49-62

© Н.С. Попов, Д.А. Гавриленко, М.С. Баранов, В.Ю. Балабаньян, 2024

For citation: N.S. Popov, D.A. Gavrilenko, M.S. Baranov, V.Yu. Balabanyan. Development of a method for quantitative determination of nitric oxide (NO) in rat tissues based on high-performance liquid chromatography and mass spectrometry. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(1):49-62. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-49-62

Development of a method for quantitative determination of nitric oxide (NO) in rat tissues based on high-performance liquid chromatography and mass spectrometry

N.S. Popov¹, D.A. Gavrilenko¹, M.S. Baranov², V.Yu. Balabanyan²

¹ Tver State Medical University,
4, Sovietskaya Str., Tver, Russia, 170100

² Pirogov Russian National Research Medical University,
1, Ostrovityanov Str., Moscow, Russia, 117997

E-mail: ns.popov@mail.ru

Received 14 July 2023

After peer review 28 March 2024

Accepted 01 April 2024

A quantitative assessment of nitric oxide (NO) production in body tissues is an urgent problem in pharmacology and biochemistry. The study of physiological processes occurring with the participation of NO, as well as the metabolism and pharmacodynamics of pharmacological agents from the group of NO donors, requires the introduction of accurate and reproducible methods for the quantitative determination of this metabolite in biological media.

The aim of the study was to develop the HPLC-MS/MS methods for the quantitative determination of NO in various tissues of rats.

Materials and methods. The indirect NO quantification was based on estimation of the level of more stable metabolites: nitrites and nitrates extracted from rat tissues by homogenization with water. The reduction of nitrates to nitrites was carried out using nitrate reductase. The derivatization of nitrites was based on a reaction with Griess reagent. The resulting azo dye was determined by HPLC-MS/MS using an Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 4.6×100 mm, 2.7 μm analytical column. The total chromatographic analysis time was 12 minutes, and the analyte retention time was 6.1 minutes. The analytical range of the method was 0.1–100.0 nmol (in terms of nitrite) per 1 ml of plasma or tissue homogenate.

Results. The developed a bioanalytical method was validated according to the following parameters: a selectivity, a matrix effect, a recovery degree, a sample transfer, an analytical range linearity, a lower limit of quantification (LLOQ), an intra- and inter-assay accuracy and precision, and a stability at all the stages of the analysis. To test the method, the NO content in the plasma, brain, heart, aorta and lungs of rats was determined.

Conclusion. The developed bioanalytical HPLC-MS/MS methods fully meets the validation requirements. The metrological characteristics of the technique make it possible to highly accurately estimate the NO production in various tissues of rats, which is undoubtedly relevant and in demand in the study of pathological processes as well as the mechanism of action of pharmacological agents from the group of NO donors.

Keywords: HPLC-MS/MS; chromatography; mass spectrometry; endothelial relaxing factor; nitric oxide

Abbreviations: NO – nitric oxide / endothelial relaxing factor; HPLC-MS/MS – high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection; IS – internal standard; AUC – area under the concentration-time curve; NADH – nicotinamide adenine dinucleotide; MRM – multiple reaction monitoring; LLOQ – lower limit of quantitation; EDTA – ethylenediaminetetraacetic acid; NMF – normalized matrix factor; CV – coefficient of variation; SD – standard deviation; DP – declustering potential; EP – entrance potential; CE – collision energy; CXP – collision cell exit potential.

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени имеется достаточное количество данных об участии оксида азота (NO) в регуляции целого ряда биологических процессов в организме [1, 2]. Известно, что NO участвует в регуляции тонуса сосудов и системных гемодинамических реакций [3, 4], является ингибитором пролиферации гладкомышечных клеток [5, 6], играет важную роль в системе гемостаза [7, 8] и защите слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта [9, 10]. Кроме того, доказана роль NO в развитии и прогрессировании многих неврологических, психиатрических и нейродегенеративных расстройств [11–13]. Снижение продукции NO, представляющее собой одну из причин эндотелиальной дисфункции, является одним из ранних признаков, ишемической болезни сердца и атеротромбоза [14]. В то же время дисфункция

эндотелия имеет важное значение в развитии таких патологических состояний, как гиперхолестеринемия, сахарный диабет 2 типа, артериальная гипертония, сердечная недостаточность [15, 16].

Накопление данных об участии NO в многочисленных путях биорегуляции позволило не только изучить патогенез многих заболеваний, но и расширить возможности использования органических нитратов и других донаторов NO в клинической практике. Известно, что кинетика высвобождения NO из фармакологически активных веществ зависит от многих факторов, среди которых ключевую роль играют химическое строение, реакционная способность, а также активность тех или иных ферментов [17].

Изучение физиологических процессов, протекающих с участием NO, а также метаболизма

и фармакодинамики фармакологических средств из группы донаторов NO требует внедрения точных и воспроизводимых методик количественного определения данного метаболита в биологических средах. Главным образом, оценка продукции NO осуществляется путем измерения концентрации его более стабильных метаболитов – нитритов, которые в свою очередь определяются колориметрически после взаимодействия с реактивом Грисса [18]. Однако этот широко используемый метод непрямого определения NO имеет ряд существенных недостатков. Во-первых, реактив Грисса может вступать в химическое взаимодействие с различными компонентами биологической матрицы с образованием окрашенных продуктов, изменяющих оптическую плотность анализируемых проб [19, 20]. Во-вторых, данная методика требует тщательного удаления белковых компонентов, так как нахождение их в готовых к фотометрическому анализу пробах также влияет на величину измеряемой оптической плотности [21]. В-третьих, фотометрическое детектирование часто не обеспечивает необходимый уровень чувствительности [22]. Кроме того, данный метод не предусматривает осуществление внутреннего контроля на протяжении всех этапов анализа (использование внутреннего стандарта). Вышеперечисленные недостатки требуют совершенствования данного метода количественного определения продукции NO в направлении повышения селективности и чувствительности детектирования продукта реакции. Одним из таких решений является использование с этой целью высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-селективным детектированием.

ЦЕЛЬ. Разработка ВЭЖХ-МС/МС методики количественного определения оксида азота в различных тканях крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

В процессе разработки и валидации методики использовали биологический материал, полученный от 6 интактных крыс линии Wistar мужского пола массой 200–220 г (питомник ООО «СМК СТЕЗАР», Россия). Животных содержали в условиях вивария ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинской академии» Минздрава России в пластиковых клетках с сетчатой крышкой, оборудованных кормушкой и поилкой. В качестве подстила использовали стерильные древесные стружки. Клетки с крысами находились в контролируемых условиях окружающей среды (температура 20–26°C, относительная влажность 30–70%). В комнатах содержания животных поддерживался 12-часовой цикл освещения и 8–10-тикатная смена объема воздуха в час. Крыс кормили полнорационным комбикормом ПК-120 (ООО «Провими», Россия),

корм и фильтрованную водопроводную воду давали *ad libitum*. Чистку клеток осуществляли ежедневно, бутылки с водой заменяли на новые также каждый день. Влажная уборка помещений содержания проводилась ежедневно. Вечером накануне эксперимента животные были лишены корма.

Животных выводили из эксперимента путем декапитации с помощью гильотины (производитель «Open Science») под легкой общей анестезией, выполненной с использованием комбинации препаратов золазепам и тилетамин (Золетил® 100 мг/мл, Virbac, Франция). Кровь собирали в пробирки, содержащие ЭДТА, плазму получали путем центрифугирования при 3000 g в течение 10 мин. Затем отбирали фрагменты внутренних органов (головной мозг, сердце, аорта, легкие), которые использовали для получения гомогенатов.

Этическая экспертиза

Данное исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинской академии» Минздрава России (протокол заседания № 4 от 29.05.2019 г.). Все эксперименты были выполнены в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России от 23.08.2010 г. № 708н и Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС по защите позвоночных животных, используемых для научных целей.

Описание экспериментальной части

Так как NO является газообразным метаболитом со сравнительно малым временем полужизни в живых тканях организма, его не прямое количественное определение было основано на оценке уровня более стабильных метаболитов – нитритов и нитратов (Рис. 1).

В основе дериватизации нитритов использовали общеизвестную реакцию с реактивом Грисса (Рис. 2). Восстановление нитратов до нитритов осуществляли с помощью нитрат редуктазы.

Пробоподготовка тканей крыс включала в себя несколько этапов: гомогенизацию с деионизированной водой, восстановление нитратов, дериватизация полученных нитритов, депротеинизация. Получение гомогенатов осуществляли следующим образом: в предварительно тарированную на аналитических весах ВЛ-124 («Госметр», Россия) пробирку типа Эппендорф объемом 2 мл помещали фрагмент ткани, после определения точной массы добавляли воду из расчета 400 мкл на 100 мг ткани с помощью автоматического дозатора переменного объема («Eppendorf Research Plus», Германия), помещали шарик из кварцевого стекла диаметром 5 мм, после чего гомогенизировали на вибротельнице с частотой возвратно-поступательных движений

50 Гц и амплитудой 30 мм в течение 15 мин. Для увеличения выхода нитратов и нитритов из биоматериала пробирки дополнительно выдерживали в ультразвуковой ванне (Мегеон, КНР) в течение 10 мин. Отделение жидкой части гомогената осуществляли центрифугированием при 16 000 g и температуре +4°C продолжительностью 15 мин. Супернатант переносили в отдельные пробирки типа Эппендорф объемом 0,5 мл, немедленно замораживали и хранили при температуре -40°C до проведения анализа. На начальном этапе пробоподготовка плазмы крови включала в себя разбавление водой в 5 раз.

Перед проведением процедуры восстановления нитратов и дериватизации полученных нитритов готовили необходимые растворы и реагенты. Фосфатный буферный раствор получали следующим образом: в мерную колбу вместимостью 1000 мл вносили 3,75 г однозамещенного фосфата калия («PanReas Applichem», Испания), 10 мг этилендиаминтетраацетата натрия дигидрата («PanReas Applichem», Испания), 1,4 г калия гидроксида («Millipore», Германия) и доводили деионизированной водой до метки. Полученный раствор хранили в холодильнике при температуре +4°C не более 6 мес. Исходный раствор (2 мг/мл) восстановленного β-никотинамидаденинадинуклеотида (NADH) готовили путем добавления к 10 мг лиофилизированной субстанции («R&D Systems», США) 5 мл деионизированной воды. Полученный реагент по 1 мл переносили в пробирки Эппендорфа, использовали немедленно или замораживали и хранили при температуре -20°C в течение 1 мес. Рабочий раствор NADH готовили путем разбавления 1 мл исходного раствора фосфатным буфером в 10 раз, использовали в течение дня. Исходный раствор нитратредуктазы («R&D Systems», США) готовили путем реконституирования 1 Ед лиофилизированной субстанции в 1 мл фосфатного буфера, хранили на льду не более 8 ч. Непосредственно перед использованием исходный раствор разбавляли в 5 раз.

Полученный на предыдущем этапе супернатант гомогенатов тканей (или разбавленную плазму) помещали в чистые микроцентрифужные пробирки в объеме 20 мкл, добавляли по 10 мкл рабочего раствора NADH и реконституированной нитратредуктазы, перемешивали на вортке V1 plus («Biosan», Латвия) 10 секунд, после чего инкубировали в твердотельном термостате TDB-120 («Biosan», Латвия) в течение 30 мин при 37°C.

Заключительный этап пробоподготовки включал в себя дериватизацию нитритов с помощью реактива Грисса и последующую депротеинизацию. С этой целью образцы после термостатирования переносили на ледяную баню, добавляли

20 мкл охлажденного 1% раствора сульфаниламида («Merck», Германия) в 2 н водном растворе хлористоводородной кислоты («Merck», Германия), выдерживали 5 мин. Затем в пробирки вносили 20 мкл 0,1% раствора N-(1-нафтил)этилендиамина («Merck», Германия) в 2 н водном растворе хлористоводородной кислоты, инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Осаждение белков осуществляли путем добавления к образцам 200 мкл охлажденного до -20°C метанола, содержащего внутренний стандарт (4-[4-амино-1-нафтилазо]бензолсульфонамид, 1000 нг/мл) (Рис. 3). Образцы выдерживали в термостатируемом шейкере TS-100 С («Biosan», Латвия) при температуре 4°C и частоте колебаний 1400 об/мин в течение 5 мин, после чего надосадочную жидкость отделяли центрифугированием при ускорении 16 000 g и температуре 4°C в течение 15 мин. Полученный супернатант переносили в полиэтиленовые вставки для хроматографических виал и использовали для проведения ВЭЖХ-МС/МС анализа.

Хроматографическое разделение проводили с помощью ВЭЖХ 1260 Infinity II («Agilent Technologies», Германия) в обращенно-фазовом режиме с использованием аналитической колонки Poroshell InfinityLab 120 EC-C18 4,6×100 мм, 2,7 мкм («Agilent Technologies», США) в сочетании с предколонкой Zorbax Eclipse Plus C18 4,6×12,5 мм, 5 мкм («Agilent Technologies», США).

Детектирование аналита и внутреннего стандарта при осуществлении хроматографического анализа проводили с помощью тандемного квадрупольного масс-спектрометра AB Sciex QTrap 3200 MD («Sciex», Сингапур), оснащенного источником ионов с зондом химической ионизации при атмосферном давлении. Подбор оптимальных параметров масс-спектрометрической детекции проводили при непрерывном введении в источник ионов индивидуальных растворов (100,0 нг/мл) азокрасителей (аналит и внутренний стандарт) в метаноле с добавлением 0,1% муравьиной кислоты с помощью шприцевого насоса со скоростью 10 мкл/мин. На первом этапе для азокрасителей определяли m/z протонированных молекул (масс-спектр первого порядка), подбирали оптимальные значения декластеризующего потенциала (DP) и напряжения на входе в ячейку соударений (EP). На втором этапе для установленных ионов-предшественников определяли масс-спектры ионов-продуктов, выбирали 2 характеристических иона, для которых подбирали оптимальные значения энергии столкновений (CE) и выходного потенциала ячейки соударений (CXP). Полученные значения были использованы для детекции азокрасителей в режиме мониторинга множественных реакций (MRM) и обеспечивали достижение наилучшей чувствительности.

Статистическая обработка

Обработку первичных данных хромато-масс-спектрометрического анализа выполняли с помощью встроенного программного обеспечения (ПО) AB Sciex Analyst 1.3.6, для расчета значений валидационных параметров использовали ПО Microsoft Office Excel 365 (Microsoft, США).

Валидацию методики проводили по следующим параметрам: селективность, матричный эффект, степень извлечения, перенос пробы, линейность аналитического диапазона, нижний предел количественного определения (НПКО), внутри- и межсерийная точность и прецизионность, стабильность на всех этапах анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для продукта дериватизации нитритов (азокрасителя) и внутреннего стандарта были получены масс-спектры первого и второго порядка (Рис. 4). Для аналита и внутреннего стандарта были выбраны два характеристических иона-продукта, для которых были подобраны условия детектирования, обеспечивающие максимальный ионный ток (табл. 1).

Хроматографическое определение азокрасителей осуществляли с использованием обращенно-фазовой колонки. Использование метанола в качестве компонента подвижной фазы с большей элюирующей силой по сравнению с ацетонитрилом позволило получить более узкие и высокие пики как аналита, так и внутреннего стандарта. Кроме того, применение ацетонитрила существенно увеличивало НПКО 4-[4-(2-аминоэтиламино)-1-нафтилазо]бензолсульфонамида, что не позволяло достичь необходимого уровня чувствительности. Таким образом, элюирование осуществляли смесью деионизированной воды (А) и метанола (В) с добавлением 0,1% муравьиной кислоты в градиентном режиме (табл. 2). Время удерживания 4-[4-(2-аминоэтиламино)-1-нафтилазо]бензолсульфонамида и 4-[4-амино-1-нафтилазо]бензолсульфонамида (внутренний стандарт) составило 6,1 и 6,5 мин соответственно (Рис. 5).

Для определения метрологических характеристик разрабатываемой методики была приготовлена и проанализирована серия стандартных образцов с содержанием нитрита: 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 50,0; 100,0 нмоль/мл в пересчете на гомогенат. По причине отсутствия свободной от нитритов биологической матрицы потребовалось доказательство возможности использования деионизированной воды в качестве ее заменителя. Для этого был проведен эксперимент с добавлением рабочих растворов нитрита к аликватам гомогенатов тканей крыс с последующим проведением процедуры пробоподготовки, включая стадии восстановления нитратов и дериватизации полученных нитритов [23]. Калибровочную кривую, полученную по результатам анализа образцов, приготовленных на деионизированной воде, использовали для

определения содержания нитритов в стандартных образцах, приготовленных на гомогенатах. Определяли разность между установленной по калибровочной зависимости концентрацией нитритов и концентрацией стандартных растворов с добавкой без учета эндогенного уровня аналита. Стандартные растворы получали путем добавления к 90 мкл деионизированной воды (или гомогената ткани) 10 мкл соответствующего 10-кратного рабочего раствора нитрита, после чего проводили пробоподготовку полученных образцов по вышеописанной методике. Кроме этого, сравнивали коэффициенты наклона калибровочных кривых, полученных по результатам анализа серии стандартных образцов, приготовленных на воде и на соответствующих гомогенатах.

По результатам эксперимента было установлено, что значения коэффициента вариации разности концентраций для гомогенатов мозговой ткани, миокарда, аорты, а также плазмы крови крыс на протяжении всего аналитического диапазона составили от 7,9 до 10,3%. Лишь для гомогената легких величина относительного стандартного отклонения была приближена к 15%. Значения отношения коэффициентов наклона калибровочных кривых, полученных по результатам анализа образцов на деионизированной воде (0,0741) и гомогенатах тканей, составили от 0,887 до 1,114 (табл. 3). Таким образом, использование калибровочных стандартных образцов, приготовленных на деионизированной воде, существенно не отражалось на правильности определения концентрации нитритов в биологических объектах.

Оценку матричного эффекта и степени извлечения проводили по результатам анализа образцов с добавлением 4-[4-(2-аминоэтиламино)-1-нафтилазо]бензолсульфонамида (аналита) в количествах, эквивалентных условному содержанию нитрита в низких (8,0 нмоль/мл) и высоких (80,0 нмоль/мл) концентрациях в пределах аналитического диапазона методики. Матричный эффект был рассчитан как отношение площади хроматографического пика аналита в неэкстрагированном образце (*post-spike sample*) к усредненному значению сигнала аналита в деионизированной воде (*solvent-spike sample*, $n=6$). За нормированный матричный фактор (NMF) принимали отношение нормированного на внутренний стандарт (IS) значения площади пика аналита в *post-spike sample* на усредненное значение отношения нормированного на IS значения площади пика аналита в *solvent-spike sample*.

Степень извлечения определяли как отношение площадей хроматографических пиков в экстрагированном образце (*pre-spike sample*) и неэкстрагированном образце (*post-spike sample*), выраженное в процентах. Результаты оценки эффекта матрицы и степени извлечения представлены в таблице 4.

Значения коэффициента вариации для NMF менее 15% показали¹, что использование в качестве внутреннего стандарта 4-[4-амино-1-нафтилазо]бензолсульфонамида позволяет эффективно компенсировать влияние компонентов биологической матрицы на интенсивность сигнала аналита. Средняя степень извлечения аналита находится в пределах 91,78–94,97% с максимальным разбросом значений (CV) 7,79%², что свидетельствует о практически количественном экстрагировании продукта дериватизации нитритов из биологического материала.

Оценку селективности методики проводили путем сравнения отношений площадей хроматографических пиков двух ионов-продуктов азокрасителей (аналита и внутреннего стандарта) при анализе образцов на деионизированной воде и гомогенатах тканей. Было установлено, что для высокой и низкой концентрации нитритов разность этих значений не превышала 5% для аналита и 1% для IS³.

Кроме того, проводили сравнительную характеристику хроматограмм биологических образцов, анализ которых был проведен без предварительной процедуры дериватизации нитритов, и образцов, в которые был добавлен 4-[4-(2-аминоэтиламино)-1-нафтилазо]бензолсульфонамид (аналит) в количестве, эквивалентном содержанию нитритов на уровне НПКО. Результаты оценки селективности методики представлены в таблице 5.

Отклик аналита в интактных образцах не превышал 10,6% отклика в образцах НПКО, для IS аналогичный показатель составлял менее 0,22%, что доказывает высокую селективность разработанной методики⁴.

По результатам анализа серии стандартных образцов был построен калибровочный график, отражающий зависимость отношения площади пика продукта дериватизации нитритов к площади пика IS от концентрации аналита в стандартном образце (Рис. 6). Данная зависимость представлена в виде уравнения линейной регрессии $y=0,0735x+0,0123$ (нормирование $1/x^2$) с коэффициентом корреляции 0,9959. Аналитический диапазон методики составил от 0,1 до 100 нмоль/мл условного содержания нитрита.

Так как в природе отсутствует свободная от продуктов метаболизма NO биологическая матрица, НПКО для нитритов оценивали по результатам хроматографического анализа аналитических

стандартов, приготовленных на деионизированной воде. За НПКО принимали минимальное условное содержание нитритов в 1 мл гомогената ткани, которое может быть определено со значениями относительного стандартного отклонения и относительной погрешности не более 20%⁵, при этом отношение «сигнал-шум» на хроматограмме должно быть 5:1⁶. Значение НПКО для нитритов составило 0,1 нмоль/мл. Фрагмент хроматограммы стандартного образца с содержанием нитритов на уровне НПКО представлен на рисунке 7.

Перенос веществ во время анализа оценивали путем сравнения хроматограмм холостых образцов, проанализированных после шестикратного ввода пробы с концентрацией нитрита 100 нмоль/мл, с хроматограммами образцов НПКО (0,1 нмоль/мл). По результатам анализа было установлено, что отношение площадей пиков в холостых образцах к площадям пиков в образцах НПКО было ниже максимально допустимого уровня (20% для аналита и 5% для IS), что свидетельствует о незначительном переносе веществ при переходе от большей концентрации к меньшей.

Точность и прецизионность методики рассчитывали по результатам анализа 5 контрольных образцов для каждого из четырех уровней концентраций нитритов: НПКО (0,1 нмоль/мл), низкая концентрация (НК – 8,0 нмоль/мл), низкая концентрация (СК – 40,0 нмоль/мл), высокая концентрация (ВК – 80,0 нмоль/мл) в трех независимых сериях. Точность была выражена в процентах, как отношение измеренной концентрации в контрольных образцах к номинальному содержанию нитрита (E). Прецизионность определяли по коэффициенту вариации (CV) результатов пятикратного определения концентрации нитрита. Критерием приемлемости считали значение CV и относительной погрешности для уровня НПКО – не более 20%, для остальных концентраций – не более 15%. Результаты внутри- и межсерийной точности и прецизионности представлены в таблице 6.

Результаты оценки стабильности подтвердили неизменность свойств исходных и рабочих растворов нитрита в течение 3 мес. Растворы сульфаниламида и N-(1-нафтил)этилендиамина, используемые для дериватизации нитритов, сохраняли свою реакционную способность в течение 1 года при хранении в холодильнике. Водный раствор β -никотинамидаденинадинуклеотида (2 мг/мл) оставался стабильным в замороженном состоянии при -20°C в течение 1 мес. Оценку реакционной способности реконституированной нитратредуктазы после хранения не проводили, так как каждый раз использовали свежеприготовленный раствор. Исходный раствор IS в метаноле (1 мг/мл) сохранял свою стабильность в течение 1 года при температуре -20°C .

¹ Требования к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов (Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 85 (ред. от 15.02.2023) Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза).

² Там же.

³ Там же.

⁴ Там же.

⁵ Там же.

⁶ Там же.

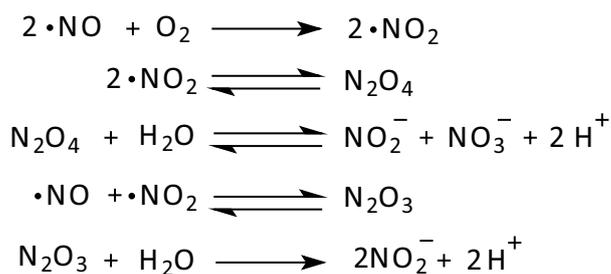


Рисунок 1 – Уравнения химических реакций образования метаболитов эндотелиального релаксирующего фактора (оксида азота)

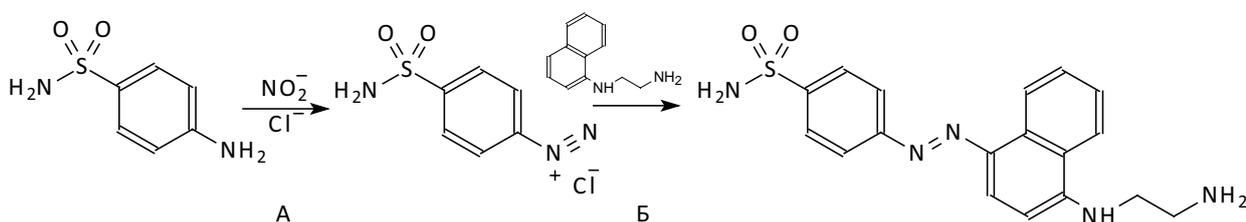


Рисунок 2 – Реакция образования азокрасителя (А – диазотирование сульфаниламида, Б – азосочетание иона диазония с N-(1-нафтил)этилендиамином)

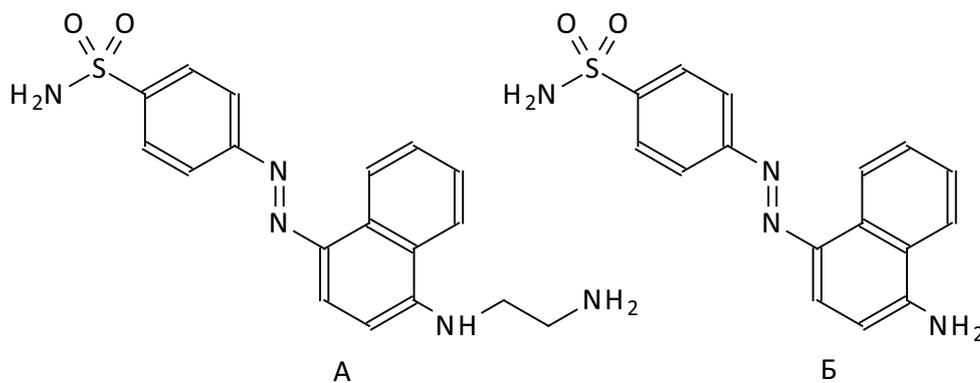


Рисунок 3 – Химическая структура аналита (А – 4-[4-(2-аминоэтиламино)-1-нафтилазо] бензолсульфонамид) и внутреннего стандарта (Б – 4-[4-амино-1-нафтилазо]бензолсульфонамид)

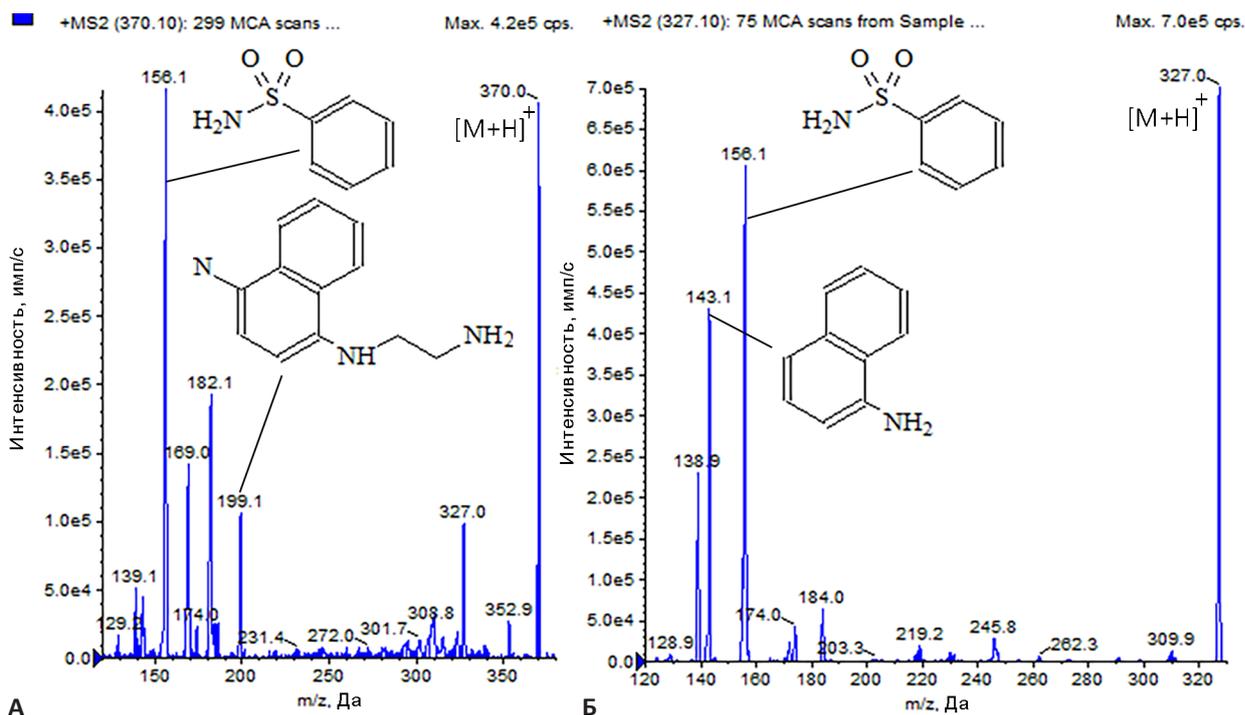


Рисунок 4 – Масс-спектры фрагментарных ионов аналита (А – 4-[4-(2-аминоэтиламино)-1-нафтилазо]бензолсульфонамид) и внутреннего стандарта (Б – 4-[4-амино-1-нафтилазо]бензолсульфонамид)

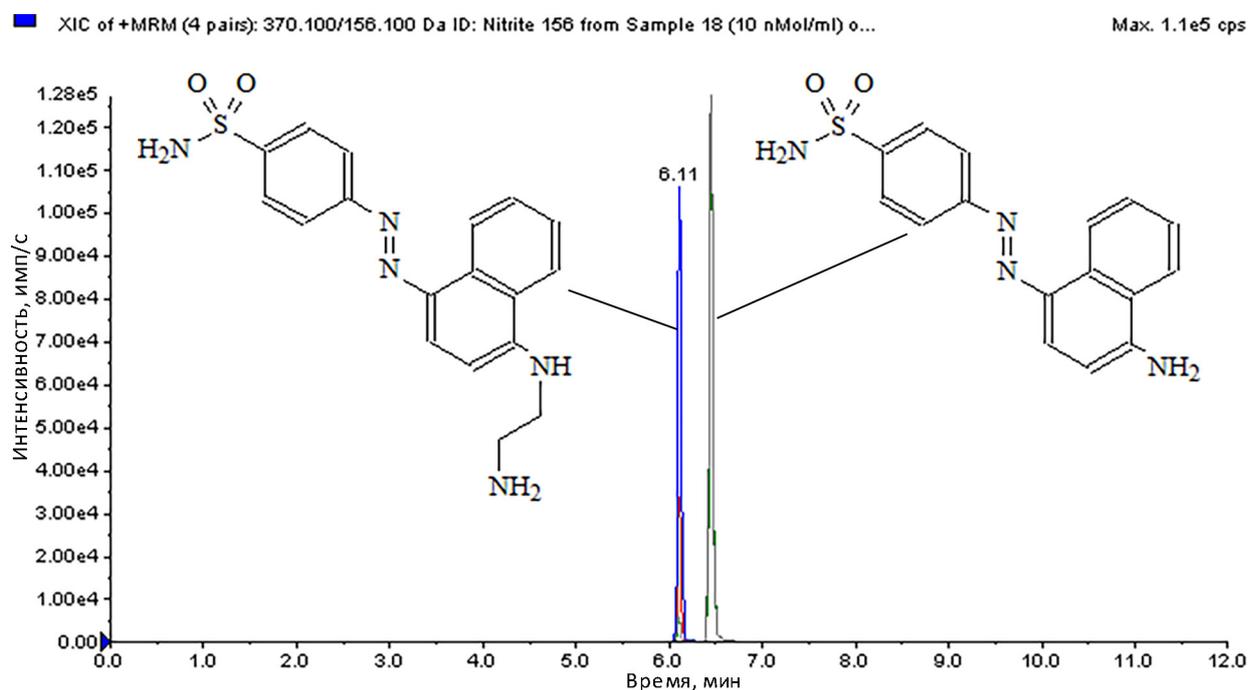


Рисунок 5 – Хроматограмма стандартного образца с концентрацией нитрита 10,0 нмоль/мл

Примечание: подвижная фаза – метанол и деионизированная вода с добавлением 0,1% муравьиной кислоты; режим элюирования – градиентный; хроматографическая колонка - InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 4,6×100 мм, 2,7 мкм; температура колонки – 30°C; аликвота – 5 мкл.

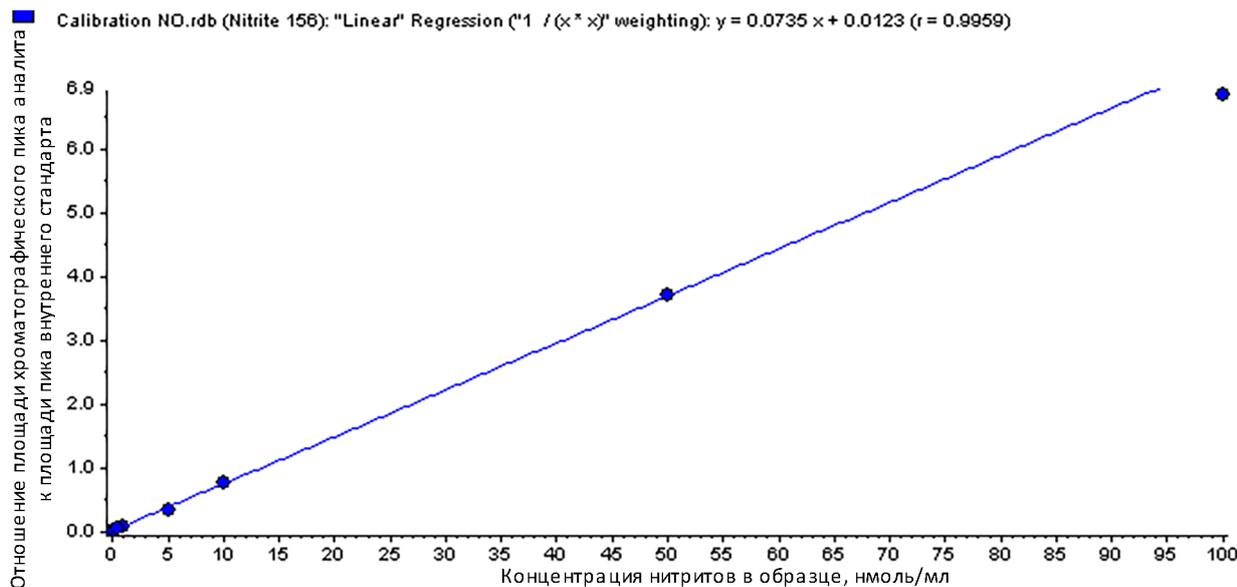


Рисунок 6 – Калибровочная кривая для количественного определения нитритов в гомогенатах тканей крыс

Примечание: по горизонтальной оси – концентрация нитритов в стандартном образце, нмоль/мл; по вертикальной оси – отношение площади хроматографического пика аналита к площади пика внутреннего стандарта.

■ XIC of +MRM (4 pairs): 370.100/156.100 Da ID: Nitrite 156 from Sample 14 (0.1 nMol/ml... Max. 1150 cps.

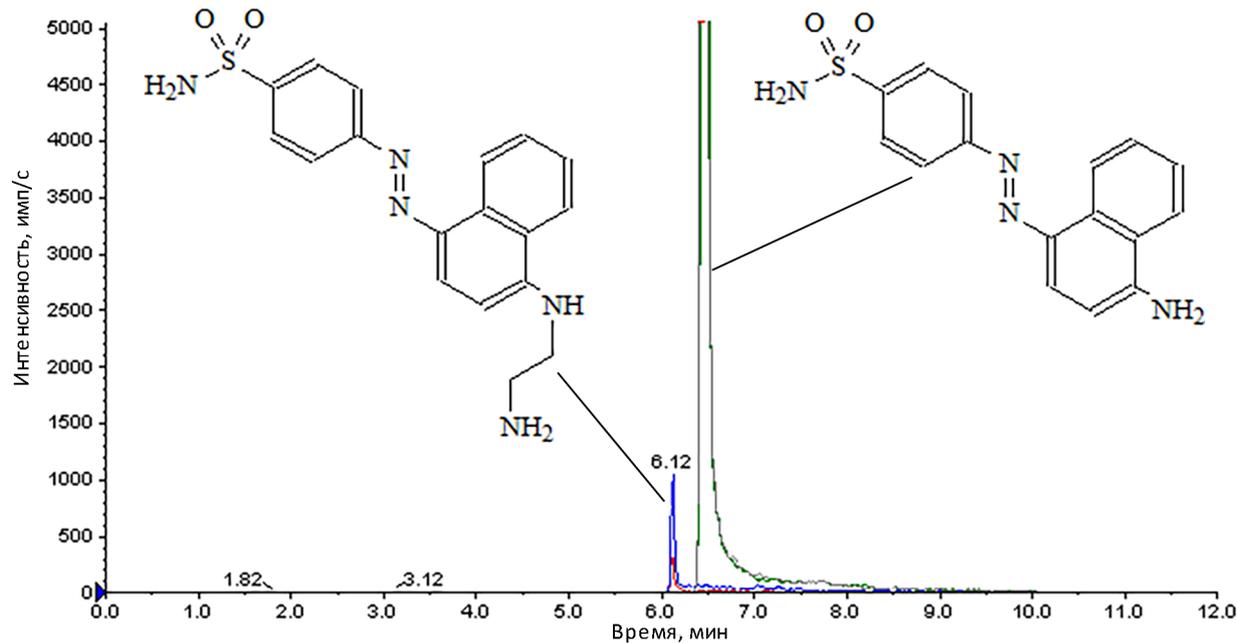


Рисунок 7 – Фрагмент хроматограммы стандартного образца с концентрацией нитрита на уровне НПКО 0,1 нмоль/мл

Примечание: отношение сигнал/шум – 28:1; подвижная фаза – метанол и деионизированная вода с добавлением 0,1% муравьиной кислоты; режим элюирования – градиентный; хроматографическая колонка – InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 4,6×100 мм, 2,7 мкм; температура колонки – 30°C; аликвота – 5 мкл.

Таблица 1 – Параметры масс-спектрометрического детектирования продукта дериватизации нитритов (азокрасителя) и внутреннего стандарта

Источник ионов	Heated Nebulizer				
Метод ионизации	Химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI)				
Режим ионизации	Положительный				
Температура источника ионов, °C	400,0				
Напряжение источника ионов, В	5500,0				
Давление газа завесы, <i>psi</i>	20,0				
Давление газа источника ионов, <i>psi</i>	30,0				
Напряжение ввода, В	10				
Минимальное время измерения, мсек	200				
Ионы-продукты	MRM, <i>m/z</i>	DP, В	CEP, В	CE, эВ	CXP, В
Аналит	370,1/156,1	67,0	21,0	37,0	2,5
4-[4-(2-аминоэтиламино)-1-нафтилазо]бензолсульфонамид	370,1/199,1			28,0	3,3
Внутренний стандарт	327,1/156,1	86,0	18,2	32,8	2,7
4-[4-амино-1-нафтилазо]бензолсульфонамид	327,1/143,1			37,0	2,6

Примечание: DP – декластеризующий потенциал; CEP – напряжение на входе в ячейку соударений; CE – энергия столкновений; CXP – выходной потенциал ячейки соударений.

Таблица 2 – Хроматографические параметры определения продукта дериватизации нитритов

Хроматографическая колонка	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 4,6×100 мм, 2,7 мкм			
Элюент А	Деионизированная вода+0,1% муравьиная кислота			
Элюент В	Метанол+0,1% муравьиная кислота			
Программа градиента	Время, мин	Скорость потока, мкл/мин	% А	%В
	0,0		90	10
	4,0		0	100
	8,0	500	0	100
	8,01		90	10
12,0		90	10	
Температура термостата колонки, °C	30			
Объем пробы, мкл	5			
Общая продолжительность анализа, мин	12			
Промывка инжектора	Через порт промывки, 3 секунды, 50% водный раствор метанола			

Таблица 3 – Результаты эксперимента для исследуемых гомогенатов с добавлением стандартов

Концентрация нитритов в воде, нмоль/мл	0,1	0,5	1,0	5,0	10,0	50,0	100,0	Среднее, нмоль/мл	SD, нмоль/мл	CV, %
Плазма крови										
Концентрация нитритов с добавкой, нмоль/мл	6,3	6,0	6,8	11,8	16,8	56,4	106,0	–		
Разность концентраций, нмоль/мл	6,2	5,5	5,8	6,8	6,8	6,4	6,0	6,2	0,5	7,9
Коэффициент наклона калибровочной кривой	0,0751	Отношение коэффициентов наклона калибровочных кривых							1,014	
Гомогенат головного мозга										
Концентрация нитритов с добавкой, нмоль/мл	25,2	24,3	24,9	29,8	32,6	71,3	118,4	–		
Разность концентраций, нмоль/мл	25,1	23,8	23,9	24,8	22,6	21,3	18,4	22,8	2,4	10,3
Угловой коэффициент уравнения линейной регрессии	0,0657	Отношение коэффициентов наклона калибровочных кривых							0,887	
Гомогенат сердца										
Концентрация нитритов с добавкой, нмоль/мл	20,7	21,3	22,1	26,9	33,1	74,4	125,1	–		
Разность концентраций, нмоль/мл	20,6	20,8	21,1	21,9	23,1	24,4	25,1	22,4	1,8	8,0
Угловой коэффициент уравнения линейной регрессии	0,0825	Отношение коэффициентов наклона калибровочных кривых							1,114	
Гомогенат аорты										
Концентрация нитритов с добавкой, нмоль/мл	18,6	18,8	19,4	26,4	28,1	69,4	116,2	–		
Разность концентраций, нмоль/мл	18,5	18,3	18,4	21,4	18,1	19,4	16,2	18,6	1,6	8,4
Угловой коэффициент уравнения линейной регрессии	0,0711	Отношение коэффициентов наклона калибровочных кривых							0,959	
Гомогенат легких										
Концентрация нитритов с добавкой, нмоль/мл	7,8	7,6	7,8	11,6	16,4	55,3	105,1	–		
Разность концентраций, нмоль/мл	7,7	7,1	6,8	6,6	6,4	5,3	5,1	6,4	0,9	14,6
Угловой коэффициент уравнения линейной регрессии	0,0695	Отношение коэффициентов наклона калибровочных кривых							0,938	

Примечание: SD – стандартное отклонение, CV – коэффициент вариации.

Таблица 4 – Результаты оценки матричного эффекта и степени извлечения

Показатели	AUC аналита <i>post-spike sample</i>	AUC IS <i>post-spike sample</i>	AUC аналита/ AUC IS	AUC аналита <i>solvent-spike sample</i>	AUC IS <i>solvent-spike sample</i>	AUC аналита <i>pre-spike sample</i>	NMF	Степень извлечения, %
Плазма крови (8,0 нмоль/мл)								
Среднее	247200	397600	0,62	246400	391600	232600	0,99	94,48
SD	16783	8561	0,04	13446	5941	3781	0,07	7,36
CV, %	6,79	2,15	7,19	5,46	1,52	1,63	7,19	7,79
Гомогенат мозга (8,0 нмоль/мл)								
Среднее	221800	372400	0,60	246400	391600	208600	0,95	94,02
SD	9338	8324	0,03	13446	5941	12915	0,06	3,50
CV, %	4,21	2,24	5,87	5,46	1,52	6,19	5,87	3,72
Гомогенат сердца (8,0 нмоль/мл)								
Среднее	221400	375000	0,59	246400	391600	203200	0,94	91,78
SD	24130	18439	0,06	13446	5941	22286	0,10	1,18
CV, %	10,90	4,92	10,96	5,46	1,52	10,97	10,96	1,29
Гомогенат аорты (8,0 нмоль/мл)								
Среднее	229200	364400	0,63	246400	391600	215400	1,00	94,11
SD	13179	7893	0,04	13446	5941	7829	0,06	3,76
CV, %	5,75	2,17	6,41	5,46	1,52	3,63	6,41	3,99
Гомогенат легких (8,0 нмоль/мл)								
Среднее	198600	362200	0,55	246400	391600	185600	0,87	93,48
SD	10064	13311	0,03	13446	5941	9710	0,05	2,58
CV, %	5,07	3,68	6,20	5,46	1,52	5,23	6,20	2,76
Плазма крови (80,0 нмоль/мл)								
Среднее	2232000	395400	5,64	2268000	398800	2104000	0,99	94,28
SD	101341	6107	0,19	106864	10710	85029	0,03	0,91
CV, %	4,54	1,54	3,36	4,71	2,69	4,04	3,36	0,96
Гомогенат мозга (80,0 нмоль/мл)								
Среднее	2122000	385200	5,51	2268000	398800	2014000	0,97	94,97
SD	107564	13368	0,31	106864	10710	92897	0,05	3,09
CV, %	5,07	3,47	5,57	4,71	2,69	4,61	5,57	3,25
Гомогенат сердца (80,0 нмоль/мл)								
Среднее	2214000	375000	2214000	2268000	398800	2084000	1,04	93,92
SD	241309	18439	241309	106864	10710	290740	0,11	4,96
CV, %	10,90	4,92	10,90	4,71	2,69	13,95	10,96	5,28
Гомогенат аорты (80,0 нмоль/мл)								
Среднее	2136000	393800	5,42	2268000	398800	1996000	0,95	93,33
SD	154370	16407	0,32	106864	10710	185687	0,06	2,59
CV, %	7,23	4,17	5,93	4,71	2,69	9,30	5,93	2,78
Гомогенат легких (80,0 нмоль/мл)								
Среднее	1884000	387200	4,87	2268000	398800	1744000	0,86	92,47
SD	59414	17922	0,27	106864	10710	132778	0,05	4,16
CV, %	3,15	4,63	5,57	4,71	2,69	7,61	5,57	4,50

Примечание: AUC – площадь под кривой хроматографического пика; IS – внутренний стандарт; NMF – нормированный матричный фактор; SD – стандартное отклонение; CV – коэффициент вариации.

Таблица 5 – Результаты оценки селективности методики

Биологический материал	AUC пика аналита (среднее значение)		Селективность, %	AUC пика IS (среднее значение)		Селективность, %
	Интактный образец	Образец НПКО		Интактный образец	Образец НПКО	
Плазма крови	204,00	2105,00	9,72	361,50	374 333,33	0,10
Гомогенат мозга	188,83	2333,00	8,19	420,17	372 166,67	0,11
Гомогенат сердца	188,17	2308,33	8,32	820,83	365 166,67	0,22
Гомогенат аорты	190,33	2911,67	6,57	381,33	382 666,67	0,10
Гомогенат легких	221,00	2085,00	10,58	545,33	391 500,00	0,14

Примечание: AUC – площадь под кривой хроматографического пика; IS – внутренний стандарт; НПКО – нижний предел количественного определения.

Таблица 6 – Результаты оценки точности и прецизионности методики

Образец	НПКО 0,1 нмоль/мл	НК 8,0 нмоль/мл	СК 40,0 нмоль/мл	ВК 80,0 нмоль/мл
Точность и прецизионность, серия 1				
Измеренная концентрация, нмоль/мл	0,104±0,010	8,67±0,33	38,1±1,0	83,9±2,1
Точность, %	104,0	108,4	95,2	104,9
CV, %	9,90	3,84	2,52	2,48
Точность и прецизионность, серия 2				
Измеренная концентрация, нмоль/мл	0,093±0,009	8,33±0,05	38,1±0,9	82,9±1,5
Точность, %	93,4	104,1	95,2	103,7
CV, %	9,41	0,61	2,31	1,84
Точность и прецизионность, серия 3				
Измеренная концентрация, нмоль/мл	0,092±0,008	8,63±0,29	38,0±1,5	84,6±2,7
Точность, %	91,8	104,5	95,1	105,8
CV, %	9,13	3,42	3,84	3,22
Межсерийная точность и прецизионность				
Измеренная концентрация, нмоль/мл	0,096±0,010	8,45±0,29	38,1±1,0	83,8±2,1
Точность, %	96,4	105,7	95,1	104,8
CV, %	10,57	3,38	2,75	2,54

Примечание: НПКО – нижний предел количественного определения; НК – низкая концентрация; СК – средняя концентрация; ВК – высокая концентрация.

Таблица 7 – Содержание оксида азота в гомогенатах в пересчете на нитрит

Образец	Плазма крови	Головной мозг	Сердце	Аорта	Легкие
Содержание оксида азота, нмоль/мл	31,8±3,0	122,4±29,5	108,9±14,5	87,9±17,4	35,2±9,4

Результаты оценки пост-препаративной стабильности подтвердили сохранность готовых для хроматографического анализа проб в течение суток (максимальное время анализа всех образцов, находящихся в автосамплере хроматографа). Результаты исследования биологических образцов после 3-х циклов заморозки-разморозки показали высокие значения стабильности продуктов метаболизма NO. Так, площади хроматографических пиков продукта дериватизации нитритов до и после проведенной процедуры не отличались более, чем на 10%. Хранение гомогенатов тканей крыс в течение 3-х мес при температуре –40°C не приводило к существенному снижению NO. Так, площади хроматографических пиков одних и тех же образцов, проанализированных через 1 сут и 3 мес после получения биоматериала, не отличались более чем на 15%.

Для подтверждения возможности использования методики для количественной оценки содержания метаболитов NO, значительно превышающего верхний предел количественного определения (100 нмоль/мл в пересчете на нитрит), был валидирован 10-кратный фактор разбавления. Было установлено, что 10-кратное разбавление водой

стандартных растворов нитрита (1000 и 5000 нмоль/мл), приготовленных на гомогенатах тканей, не снижает точность и прецизионность анализа.

Разработанная методика была использована для анализа содержания метаболитов NO в тканях интактных крыс линии Wistar ($n=6$), содержащихся в виварии ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинской университет» Минздрава России и выведенных из эксперимента в утренние часы путем декапитации. Результаты определения NO представлены в таблице 7.

Разработанную методику также возможно использовать без осуществления стадии восстановления нитратов. В данном случае измерение уровня нитритов может играть важную роль, например, при исследовании механизмов цитопротекции в условиях гипоксии на модели ишемии-реперфузии [24]. Кроме того, оценка уровня нитритов может быть полезна при изучении процессов репликации вирусов, например, SARS-CoV-2 [25]. Применение данной методики совместно с определением уровня циклического гуанозинмонофосфата [26] в тканях лабораторных крыс может служить полезным инструментом в исследованиях не только физиологических

и патологических процессов, протекающих с участием NO [28–31], но и фармакодинамики лекарственных кандидатов, что является крайне важным этапом разработки лекарственных средств [32–34].

Ограничения исследования

По мнению авторов на достоверность результатов анализа могут повлиять следующие факторы: снижение активности нитратредуктазы и β-никотинамидаденинадинуклеотида, являющееся следствием неправильного хранения лиофилизатов или готовых растворов, наличие в биоматериале сульфаниламидных препаратов, а также поступление нитратов и нитритов в организм лабораторных животных при несоблюдении требований к кормлению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная хромато-масс-спектрометрическая методика определения NO в тканях крыс полностью соответствовала валидационным требованиям. По сравнению с распространенным колориметрическим методом оценки продукции NO данная методика отличается высокой чувствительностью и селективностью, а также низким влиянием мешающих компонентов биологической матрицы. Применение данной методики позволяет с высокой точностью оценить общее содержание продуктов метаболизма NO в плазме крови, тканях головного мозга, сердца, аорты и легких крыс, что является востребованным в изучении патологических процессов, а также фармакодинамики и эффективности фармакологических средств, влияющих на обмен NO.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование было выполнено в рамках государственного задания, номер госрегистрации – 124020900020-4.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Н.С. Попов – идея использования ВЭЖХ-МС/МС для количественного определения оксида азота, разработка, валидация и апробация биоаналитической методики, подготовка рукописи; Д.А. Гавриленко – анализ литературных источников, проведение биологической части исследования, анализ результатов, подготовка рукописи; М.С. Баранов – разработка концепции исследования, подготовка рукописи; В.Ю. Балабаньян – постановка цели, разработка дизайна исследования, подготовка рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Ignarro L.J. Nitric oxide is not just blowing in the wind // *Br J Pharmacol.* – 2019. – Vol. 176, No. 2. – P. 131. DOI: 10.1111/bph.14540
- Lundberg J.O., Weitzberg E. Nitric oxide signaling in health and disease // *Cell.* – 2022. – Vol. 185, No. 16. – P. 2853–2878. DOI: 10.1016/j.cell.2022.06.010
- Zweier J.L., Ilangovan G. Regulation of nitric oxide metabolism and vascular tone by cytoglobin // *Antioxid Redox Signal.* – 2020. – Vol. 32, No. 16. – P. 1172–1187. DOI: 10.1089/ars.2019.7881
- Gupta R.M., Libby P., Barton M. Linking regulation of nitric oxide to endothelin-1: The Yin and Yang of vascular tone in the atherosclerotic plaque // *Atherosclerosis.* – 2020. – Vol. 292. – P. 201–203. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.11.001
- Enayati M., Schneider K.H., Almeria C., Grasl C., Kaun C., Messner B., Rohringer S., Walter I., Wojta J., Budinsky L., Walpoth B.H., Schima H., Kager G., Hallström S., Podesser B.K., Bergmeister H. S-nitroso human serum albumin as a nitric oxide donor in drug-eluting vascular grafts: Biofunctionality and preclinical evaluation // *Acta Biomater.* – 2021. – Vol. 134. – P. 276–288. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.07.048
- Shvetsova A.A., Borzykh A.A., Selivanova E.K., Kiryukhina O.O., Gaynullina D.K., Tarasova O.S. Intrauterine Nitric Oxide Deficiency Weakens Differentiation of Vascular Smooth Muscle in Newborn Rats // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, No. 15. – P. 8003. DOI: 10.3390/ijms22158003
- Grigorieva M.E., Myasoedov N.F., Lyapina L.A. Participation of Nitric Oxide in the Realization of Hemostatic Effects of Glyproline Peptides // *Dokl Biochem Biophys.* 2022. – Vol. 506, No. 1. – P. 177–180. DOI: 10.1134/S1607672922050052
- Norooznejhad A.H., Mansouri K. Endothelial cell dysfunction, coagulation, and angiogenesis in coronavirus disease 2019 (COVID-19) // *Microvasc Res.* – 2021. – Vol. 137. – P. 104188. DOI: 10.1016/j.mvr.2021.104188
- Wallace J.L. Nitric oxide in the gastrointestinal tract: opportunities for drug development // *Br J Pharmacol.* – 2019. – Vol. 176, No. 2. – P. 147–154. DOI: 10.1111/bph.14527
- Sanders K.M., Ward S.M. Nitric oxide and its role as a non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory neurotransmitter in the gastrointestinal tract // *Br J Pharmacol.* – 2019. – Vol. 176, No. 2. – P. 212–227. DOI: 10.1111/bph.14459
- Tripathi M.K., Kartawy M., Amal H. The role of nitric oxide in brain disorders: Autism spectrum disorder and other psychiatric, neurological, and neurodegenerative disorders // *Redox Biol.* – 2020. – Vol. 34. – P. 101567. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101567

12. Ghasemi M., Mayasi Y., Hannoun A., Eslami S.M., Carandang R. Nitric oxide and mitochondrial function in neurological diseases // *Neuroscience*. – 2018. – Т. 376. – P. 48–71. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2018.02.017
13. Tewari D., Sah A.N., Bawari S., Nabavi S.F., Dehpour A.R., Shirooie S., Nabavi S.M. Role of nitric oxide in neurodegeneration: function, regulation, and inhibition // *Curr Neuropharmacol*. – 2021. – Vol. 19, No. 2. – P. 114–126. DOI: 10.2174/1570159X18666200429001549
14. Green S.J. Covid-19 accelerates endothelial dysfunction and nitric oxide deficiency // *Microbes Infect*. – 2020. – Vol. 22, No. 4. – P. 149. DOI: 10.1016/j.micinf.2020.05.006
15. Xu S., Ilyas I., Little P.J., Li H., Kamato D., Zheng X., Weng J. Endothelial dysfunction in atherosclerotic cardiovascular diseases and beyond: from mechanism to pharmacotherapies // *Pharmacological Reviews*. – 2021. – Vol. 73, No. 3. – P. 924–967. DOI: 10.1124/pharmrev.120.000096
16. Cetin M., Erdogan T., Kiris T., Ozyildiz A.G., Ergul E., Durakoglugil E., Cicek Y. Endothelial dysfunction, subclinical atherosclerosis and LDL cholesterol are the independent predictors of left atrial functions in hypertension // *Int J Cardiovasc Imaging*. – 2020. – Vol. 36, No. 1. – P. 69–77. DOI: 10.1007/s10554-019-01699-2
17. Feelisch M. The use of nitric oxide donors in pharmacological studies // *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. – 1998. – Vol. 358, No. 1. – P. 113–122. DOI: 10.1007/PL00005231
18. Sun J., Zhang X., Broderick M., Fein H. Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay // *Sensors*. – 2003. – Vol. 3, No. 8. – P. 276–284. DOI: 10.3390/s30800276
19. Ricart-Jane D., Llobera M., Lopez-Tejero M.D. Anticoagulants and other preanalytical factors interfere in plasma nitrate/nitrite quantification by the Griess method // *Nitric Oxide*. – 2002. – Vol. 6, No. 2. – P. 178–185. DOI: 10.1006/niox.2001.0392
20. Yucel A.A., Gulen S., Dincer S., Yucel A.E., Yetkin G.I. Comparison of two different applications of the Griess method for nitric oxide measurement // *J Exp Integr Med*. – 2012. – Vol. 2, No. 1. – P. 167. DOI: 10.5455/jeim.200312.or.024
21. Hunter R.A., Storm W. L., Coneski P.N., Schoenfish M.H. Inaccuracies of nitric oxide measurement methods in biological media // *Analytical chemistry*. – 2013. – Vol. 85, No. 3. – P. 1957–1963. DOI: 10.1021/ac303787p
22. Aziz H.A., Moustafa G.A.I., Abbas S.H., Derayea S.M., Abu G.E.D.A.A. New norfloxacin/nitric oxide donor hybrids: Synthesis and nitric oxide release measurement using a modified Griess colorimetric method // *Eur J Chem*. – 2017. – Vol. 8, No. 2. – P. 119–124. DOI: 10.5155/eurjchem.8.2.119-124.1549
23. Minkler P., Stoll M., Ingalls S., Yang S., Kerner J., Hoppel C.L. Quantification of carnitine and acylcarnitines in biological matrices by HPLC electrospray ionization–mass spectrometry // *Clin Chem*. – 2008. – Vol. 54. – P. 1451–1462. DOI: 10.1373/clinchem.2007.099226
24. Гуманова Н.Г. Оксид азота, его циркулирующие метаболиты NOx и их роль в функционировании человеческого организма и прогнозе риска сердечно-сосудистой смерти (часть I) // *Профилактическая медицина*. – 2021. – Т. 24, № 9. – С. 119–125. DOI: 10.17116/profmed202124091102
25. Fang W., Jiang J., Su L., Shu T., Liu H., Lai S., Wang J. The role of NO in COVID-19 and potential therapeutic strategies // *Free Radic Biol Med*. – 2021. – Vol. 163. – P. 153–162. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.008
26. Попов Н.С., Балабаньян В.Ю., Колгина Н.Ю., Петров Г.А., Донсков С.А., Атаджанов И.Б. Количественное определение циклического гуанозинмонофосфата (ц-ГМФ) в тканях крыс с помощью жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2023. – № 3. – С. 28–38. DOI: 10.37489/2587-7836-2023-3-28-38
27. Infante T., Costa D., Napoli C. Novel insights regarding nitric oxide and cardiovascular diseases // *Angiology*. – 2021. – Vol. 72, No. 5. – P. 411–425. DOI: 10.1177/00033197209792
28. Idrizaj E., Traini C., Vannucchi M.G., Baccari M.C. Nitric oxide: from gastric motility to gastric dysmotility // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22, No. 18. – P. 9990. DOI: 10.3390/ijms22189990
29. Yaguchi J., Yaguchi S. Evolution of nitric oxide regulation of gut function // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2019. – Vol. 116, No. 12. – P. 5607–5612. DOI: 10.1073/pnas.1816973116
30. Morales-Medina J.C., Aguilar-Alonso P., Di Cerbo A., Iannitti T., Flores G. New insights on nitric oxide: Focus on animal models of schizophrenia // *Behavioural Brain Research*. – 2021. – Vol. 409. – P. 113304. DOI: 10.1016/j.bbr.2021.113304
31. Cyr A.R., Huckaby L.V., Shiva S.S., Zuckerbraun B.S. Nitric oxide and endothelial dysfunction // *Crit Care Clin*. – 2020. – Vol. 36, No. 2. – P. 307–321. DOI: 10.1016/j.ccc.2019.12.009
32. AbdelAziz E.Y., Tadros M.G., Menze E.T. The effect of metformin on indomethacin-induced gastric ulcer: Involvement of nitric oxide/Rho kinase pathway // *Eur J Pharmacol*. – 2021. – Vol. 892. – P. 173812. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173812
33. Ciešlik P., Kalinowski L., Wierońska J.M. Procognitive activity of nitric oxide inhibitors and donors in animal models // *Nitric Oxide*. – 2022. – Vol. 119. – P. 29–40. DOI: 10.1016/j.niox.2021.12.003
34. Yuyun M.F., Ng L.L., Ng G.A. Endothelial dysfunction, endothelial nitric oxide bioavailability, tetrahydrobiopterin, and 5-methyltetrahydrofolate in cardiovascular disease. Where are we with therapy? // *Microvasc Res*. – 2018. – Vol. 119. – P. 7–12. DOI: 10.1016/j.mvr.2018.03.012

АВТОРЫ

Попов Никита Сергеевич – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, заведующий научно-исследовательской лабораторией, ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1792-7414. E-mail: ns.popov@mail.ru

Гавриленко Дмитрий Антонович – ассистент кафедры химии ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0003-8692-0878. E-mail: dimirdome@gmail.com

Баранов Михаил Сергеевич – доктор химических наук, старший научный сотрудник

научно-исследовательской лаборатории химии лекарственных субстанций НИИ трансляционной медицины, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-9339-7603. E-mail: baranovmikes@gmail.com

Балабаньян Вадим Юрьевич – доктор фармацевтических наук, доцент, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории химии лекарственных субстанций НИИ трансляционной медицины, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5744-7060. E-mail: bal.pharm@mail.ru

УДК 591.1



Влияние исследователя на оценку мышечной силы у животных в эксперименте: сравнение автоматизированного теста «перевернутая сетка» и его классического варианта

П.Р. Лебедев¹, Е.В. Кузубова¹, В.М. Покровский¹, А.И. Радченко¹, С.И. Осипьян¹,
Ю.В. Степенко¹, А.А. Апостол¹, Л.М. Даниленко¹, А.А. Должиков¹, Т.Г. Покровская¹,
О.С. Гудырев¹, Я.С. Кочергина², О.В. Дудникова²

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

² Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Белгородское бюро судебно-медицинской экспертизы», 308017, Россия, г. Белгород, ул. Волчанская, д. 159

E-mail: kuzubova@bsu.edu.ru

Получена 10.12.2023

После рецензирования 27.03.2024

Принята к печати 11.04.2024

Цель. Изучить влияние исследователя на оценку мышечной силы у животных в эксперименте на примере сравнения результатов автоматизированного теста «перевернутая сетка» и его классического варианта.

Материалы и методы. Для исследования были выбраны самцы линий (Bla/J, $n=20$; FUS(1-359), $n=20$; Tau P301S^{+/+}, $n=20$) и их фоновый контроль (C57BL/6J, $n=20$; CD1, $n=20$). Динамику изменения мышечного дефицита животных оценивали в автоматизированном и классическом варианте теста «перевернутая сетка».

Результаты. По результатам оценки мышечной силы мышей с редактированным геномом линий: FUS(1-359)^{+/+}, Tau P301S^{+/+}, B6.ADysf^{prmd}/GeneJ при помощи теста «перевернутая сетка» в классическом варианте и автоматизированном было установлено, что статистически значимых различий в сравнении с результатами, полученными при проведении классического варианта теста, получено не было. Стандартная ошибка среднего возрастала в классическом тесте по сравнению с автоматизированным на 23–39%. Было показано, что стандартная ошибка среднего в классическом варианте теста на мышцах линии Tau P301S^{+/+} составила 6,24; 5,94; 5,88; 7,38 в 4-х возрастных точках; на мышцах линии FUS(1-359)^{+/+} – 4,49; 6,8; 6,98 и 4,1; B6.ADysf^{prmd}/GeneJ – 7,66; 7,58; 8,3 и 7,92 соответственно.

Заключение. Таким образом, значение стандартной ошибки среднего результатов исследования динамики изменения мышечной силы при использовании автоматизированного варианта теста «перевернутая сетка» было снижено в сравнении с результатами проведения классического варианта теста. Результаты исследования показывают, что автоматизация общепризнанных поведенческих тестов способна повысить точность получаемых данных снизив влияние человеческого фактора на проведение манипуляции.

Ключевые слова: «перевернутая сетка»; автоматизация; поведенческое тестирование; нейродегенерация; трансгенные животные

Список сокращений: БАС – боковой амиотрофический склероз; БГ – болезнь Хантингтона; БП – болезнь Паркинсона; БА – болезнь Альцгеймера; ДД – двигательный дефицит; ПС – перевернутая сетка; МС – мышечная сила.

Для цитирования: П.Р. Лебедев, Е.В. Кузубова, В.М. Покровский, А.И. Радченко, С.И. Осипьян, Ю.В. Степенко, А.А. Апостол, Л.М. Даниленко, А.А. Должиков, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, Я.С. Кочергина, О.В. Дудникова. Влияние исследователя на оценку мышечной силы у животных в эксперименте: сравнение автоматизированного теста «перевернутая сетка» и его классического варианта. *Фармация и фармакология*. 2024;12(1):63-73. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-63-73

© П.Р. Лебедев, Е.В. Кузубова, В.М. Покровский, А.И. Радченко, С.И. Осипьян, Ю.В. Степенко, А.А. Апостол, Л.М. Даниленко, А.А. Должиков, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, Я.С. Кочергина, О.В. Дудникова, 2024

For citation: P.R. Lebedev, E.V. Kuzubova, V.M. Pokrovsky, A.I. Radchenko, S.I. Osipyanyan, Y.V. Stepenko, A.A. Apostol, L.M. Danilenko, A.A. Dolzhikov, T.G. Pokrovskaya, O.S. Gudyrev, Ya.S. Kochergina, O.V. Dudnikova. Investigator's influence on the muscle strength assessment in animals in experiment: Comparison of automated "inverted grid" test and its classical variant. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(1):63-73. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-63-73

Investigator's influence on the muscle strength assessment in animals in experiment: Comparison of automated "inverted grid" test and its classical variant

P.R. Lebedev¹, E.V. Kuzubova¹, V.M. Pokrovsky¹, A.I. Radchenko¹, S.I. Osipyan¹,
Y.V. Stepenko¹, A.A. Apostol¹, L.M. Danilenko¹, A.A. Dolzhikov¹, T.G. Pokrovskaya¹,
O.S. Gudyrev¹, Ya.S. Kochergina², O.V. Dudnikova²

¹ Belgorod State National Research University (BSU),
85, Pobeda Str., Belgorod, Russia, 308015

² Belgorod Office Chief Medical Examiners,
159, Volchanskaya Str., Belgorod, Russia, 308017

E-mail: Kuzubova@bsu.edu.ru

Received 10 Dec 2023

After peer review 27 March 2024

Accepted 11 April 2024

The aim of the work was to study the influence of the researcher on the muscle strength assessment in animals in the experiment by comparing the results of the automated "inverted grid" test and its classical variant.

Materials and methods. Male lines (Bla/J, $n=20$; FUS(1-359), $n=20$; Tau P301S^{+/+}, $n=20$) and their background controls (C57BL/6J, $n=20$; CD1, $n=20$) were selected for the study. The dynamics of changes in the muscle deficit of the animals was evaluated in the automated and classical variant of the "inverted grid" test.

Results. According to the results of the muscle strength assessment of mice with an edited genome of lines FUS(1-359)^{+/+}, Tau P301S^{+/+}, B6.ADysf^{prmd}/GeneJ, using the "inverted grid" test in the classical variant and the automated one, it was found that statistically significant differences were not obtained in comparison with the results obtained by the classical variant of the test. The standard error of the mean increases by 23–39% in the classical test compared to the automated one. It was shown that the standard error of the mean in the classical variant of the test in Tau P301S^{+/+} mice was 6.24; 5.94; 5.88; 7.38 at 4 age points; in FUS(1-359)^{+/+} mice, 4.49; 6.8; 6.98 and 4.1; B6.ADysf^{prmd}/GeneJ mice, 7.66; 7.58; 8.3 and 7.92, respectively.

Conclusion. Thus, the value of the standard error of the results study mean of the changes dynamics in the muscle strength when using the automated variant of the "inverted grid" test was reduced in comparison with the results of the classical variant of the test. The results of the study show that the automation of generally recognized behavioral tests is able to increase the accuracy of the obtained data reducing the influence of a human factor on the manipulation.

Keywords: "inverted grid"; automation; behavioral testing; neurodegeneration; transgenic animals

Abbreviations: ALS – amyotrophic lateral sclerosis; HD – Huntington's disease; PD – Parkinson's disease; AD – Alzheimer's disease; MD – motor deficit; PS – inverted grid; MS – muscle strength.

ВВЕДЕНИЕ

Воспроизводимость и повторяемость результатов экспериментальной работы в биомедицинских исследованиях является актуальной темой для дискуссии среди исследователей и вызывает интенсивные дебаты в течение последних 10 лет [1]. В работах других авторов было показано, что от 50 до 90% экспериментальных данных являются невозпроизводимыми и спорны в своих выводах [2]. Указывают сразу на несколько причин плохой повторяемости и воспроизводимости результатов эксперимента – предвзятость при интерпретации результатов [3], неправильный подход к статистической обработке результатов [4], отсутствие рандомизации [5], несоблюдение правил содержания животных (различная скученность животных в клетке) [6], пренебрежение валидированием оборудования и вспомогательных материалов [7]. Работа с животными требует особого подхода при разработке дизайна исследования, рандомизации группы и минимизации влияния экспериментатора на результаты фенотипических тестов [8].

Проведение поведенческого исследования является неотъемлемой частью для характеристики нейродегенеративных и нервно-психических заболеваний на животных моделях. За последние 30 лет поведенческое тестирование повсеместно стало использоваться в неврологических и генетических исследованиях на животных [9].

С 1940 по 1989 гг. поиск с помощью библиотеки PubMed по «мышам» и «поведению» обнаружил около 1800 статей, в основном относящихся к генетике поведения, тестированию на наркотики и нейробиологии, но только в одной статье сообщается об анализе поведения трансгенных мышей [10]. С 1990 по 2023 год количество статей, посвященных тестированию поведения только генетически модифицированных мышей, выросло до 28 000 [11].

В изучении динамики симптомов неврологических заболеваний на трансгенных животных используют различные поведенческие тесты, одними из которых являются тесты, направленные на выявление моторных нарушений,

обеспечивающие хорошую фенотипическую характеристику заболевания. Для интерпретации эффективности терапии модельного заболевания экспериментального животного на человека необходимо получить помимо молекулярного также и фенотипическое подтверждение идентичности заболевания [12]. Данный инструмент является неотъемлемым компонентом современных протоколов изучения механизмов развития заболеваний с использованием экспериментальных моделей и генетически модифицированных лабораторных животных [13]. Исследование поведения обеспечивает количественный и качественный маркер симптомов заболеваний человека и является доклиническим инструментом для оценки эффективности новых методов лечения [14].

Создание животного с редактированным геномом, имитирующего фенотип заболевания человека, имеет важное значение для исследования основных патофизиологических каскадов и разработки новых методов лечения патологии.

Существуют различные генетически модифицированные мышинные модели для изучения патофизиологических аспектов нейродегенерации и миодистрофий. Наиболее часто используемыми моделями данных заболеваний являются трансгенные мышинные модели бокового амиотрофического склероза (БАС), болезни Хантингтона (БГ) [15], болезни Паркинсона (БП) [16, 17] и болезни Альцгеймера (БА) [18]. Двигательная дисфункция, присутствующая у данных трансгенных мышей, может быть классифицирована как двигательный дефицит (ДД), нарушение равновесия, координации или мышечная слабость (МС) [19].

Тестами, способными показать фенотипические проявления ДД, являются: тест «CatWalk», «Сужающаяся дорожка», «Staircase test», «Лестница с перекладинами», «Открытое поле». Одним из наиболее используемых тестов для оценки моторных нарушений является «перевернутая сетка» (ПС), которая используется для оценки силы конечностей мышей, координации и выносливости. Тест заключается в вовлечении всех четырех конечностей животного для фиксации к проволочной сетке, что позволяет проводить неинвазивное измерение МС животного, показывать устойчивое напряжение конечностей, противодействуя воздействию гравитации. Стимулирующим фактором удержания животного на сетке является страх высоты. Оценка интересующих параметров проводится путем размещения животного на перевернутой сетке и определения срока его фиксации на ней. Тест оценивает МС, координацию движений и равновесие животного, измеряя то, как долго оно может держаться на перевернутом экране, прежде чем упасть [20].

В экспериментах, связанных с изучением терапии мышечных дистрофий, исследуют ряд симптомов

заболевания, таких как ДД, ассоциируемый с прогрессированием в проксимальных мышцах конечностей атрофии мышц [21]. Для изучения динамики заболевания ученые используют поведенческие тесты, способные интерпретировать клиническое улучшение состояния здоровья животного от терапии. Одним из таких тестов и является «перевернутая сетка».

Создание автоматизированных форм установок для проведения поведенческого исследования животных, способно объективизировать исследование, исключить неблагоприятный эффект взаимодействия «исследователь–животное» на проведение теста, оптимизировать продолжительность теста и снизить трудозатраты на его проведение. Автоматизация протокола позволяет получить больше данных для проведения статистического сравнения между группами, не проводя дополнительных манипуляций с животным [22, 23].

В данной статье описывается сравнительное исследование классического варианта теста ПС и его автоматизированной формы для использования его с целью определения ДД и динамики изменения МС у мышей с подтвержденным фенотипом нейродегенеративных и миодистрофийных заболеваний человека.

ЦЕЛЬ. Изучить влияние исследователя на оценку мышечной силы у животных в эксперименте на примере сравнения автоматизированного теста «перевернутая сетка» и его классического варианта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

Для исследования были выбраны самцы линий Bla/J ($n=20$), FUS(1-359)^{+/-} ($n=20$), Tau P301S^{+/-} ($n=20$) и их фоновый контроль (C57BL/6J, $n=20$; CD1, $n=20$), которых содержали группами согласно их возрасту, генетическому фону и группе в эксперименте. Животные содержались в условиях SPF вивария ФГАОУ «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ БелГУ) в условиях искусственно регулируемого светового дня (12 ч темного и 12 ч светлого времени) при температурном режиме от +22 до +26°C, относительной влажности в системе содержания от 50 до 65%, имели свободный доступ к корму и воде. В работе руководствовались этическими принципами обращения с лабораторными животными в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (ETS No. 170). Все болезненные манипуляции с животными проводились в соответствии с регламентирующими стандартами: Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных

целях. Экспериментальные исследования были одобрены Биоэтической комиссией НИУ БелГУ (протокол № 15/10 от 29.10.2021 г.).

Дизайн исследования

Для сравнительного исследования регистрации ДД и динамики изменения МС при помощи классического теста «перевернутая сетка» и его автоматизированной формы у трансгенных животных самцов и их фонового контроля линий B6.ADysf^{prmd}/GeneJ, FUS(1-359)^{+/-}, Tau P301S^{+/-} в 4-х возрастных точках (период проявления клинических признаков заболевания) для каждой когорты мышей (Рис. 1).

В 50-ю, 51-ю, 52-ю и 53-ю недели соответственно были созданы экспериментальные группы линии мышей B6.ADysf^{prmd}/GeneJ.

1) Группа изучения динамики ДД и МС у линии B6.ADysf^{prmd}/GeneJ^{-/-} ($n=10$) при помощи классического варианта теста ПС (Bla/J).

2) Группа изучения динамики ДД и МС у линии C57BL/6J ($n=10$) при помощи автоматизированного варианта теста ПС (b/C57BL/6J). Группа является контрольной к линии Bla/J^{+/-}.

3) Группа изучения динамики ДД и МС у линии B6.ADysf^{prmd}/GeneJ^{-/-} ($n=10$) при помощи автоматизированного варианта теста ПС (Bla/J).

4) Группа изучения динамики ДД и МС у линии C57BL/6J ($n=10$) при помощи классического варианта теста ПС (b/C57BL/6J). Группа является контрольной к линии Bla/J.

В 11-ю, 12-ю, 13-ю и 14-ю недели соответственно были созданы экспериментальные группы линии мышей FUS(1-359).

1) Группа изучения динамики ДД и МС у линии FUS(1-359)^{+/-} ($n=10$) при помощи классического варианта теста ПС(FUS(1-359)).

2) Группа изучения динамики ДД и МС у линии FUS(1-359)^{+/-} ($n=10$) при помощи автоматизированного варианта теста ПС (FUS(1-359)).

3) Группа изучения динамики ДД и МС у линии CD-1 ($n=10$) при помощи автоматизированного варианта теста ПС (CD-1). Группа является контрольной к линии FUS(1-359)^{+/-}.

4) Группа изучения динамики ДД и МС у линии CD-1 ($n=10$) при помощи классического варианта теста ПС (CD-1). Группа является контрольной к линии FUS(1-359)^{+/-}.

В 16-ю, 17-ю, 18-ю и 19-ю недели соответственно были созданы экспериментальные группы линии мышей Tau P301S^{+/-}.

1) Группа изучения динамики ДД и МС у линии Tau P301S^{+/-} ($n=10$) при помощи классического варианта теста ПС (Tau P301S^{+/-}).

2) Группа изучения динамики ДД и МС у линии Tau P301S^{+/-} ($n=10$) при помощи автоматизированного варианта теста ПС (Tau P301S^{+/-}).

3) Группа изучения динамики ДД и МС у линии C57BL/6J ($n=10$) при помощи автоматизированного

варианта теста ПС (C57BL/6J). Группа является контрольной к линии Tau P301S^{+/-}.

4) Группа изучения динамики ДД и МС у линии C57BL/6J ($n=10$) при помощи классического варианта теста ПС (C57BL/6J). Группа является контрольной к линии Tau P301S^{+/-}.

В работе использовали 3 линии мышей с проявлением симптомов заболевания, затрагивающих моторную функцию. Линия FUS(1-359)^{+/-}, в нервной системе которых экспрессируется трансгенная последовательность, кодирующая aberrантную форму белка FUS человека с удаленным сигналом ядерной локализации под нейронспецифичным промотором Thy-1 [24]. Наиболее распространенные мутации гена FUS, связанные с заболеванием, влияют на сигнал ядерной локализации С-конца кодируемого белка, вызывая его накопление в цитоплазме и, по крайней мере, частичное истощение его ядерного пула [25]. Эта линия мышей моделирует боковой амиотрофический склероз. Данное нейродегенеративное заболевание характеризуется утратой нейронов в моторных областях головного и спинного мозга. Линия FUS(1-359)^{+/-} характеризуется наличием манифестации симптомов нарушения двигательной активности и МС у моно-аллельного мутантного животного на 15-й неделе жизни [26].

В исследовании были использованы трансгенные мыши Tau P301S^{+/-}, которые экспрессируют человеческий Tau (1N4R) с мутацией P301S [27]. Идентификация беззетворных мутаций в MAPT, гене Tau, в случаях лобно-височной деменции показала, что дисфункции белка Tau достаточно, чтобы вызвать нейродегенерацию и деменцию [28]. У данных мышей наблюдается прогрессирующая патология нейрофибриллярных клубков и нейродегенерация в головном и спинном мозге. В спинном мозге Tau-патология приводит к резкой потере двигательных нейронов (примерно 50%) и ранним, прогрессирующим и тяжелым двигательным нарушениям [29]. Проявление ДД нижних конечностей начинается примерно в возрасте 3-х мес [30].

Также в работе использована сублиния мышей B6.ADysf^{prmd}/GeneJ (Bla/J), у которых была случайно обнаружена спонтанная инсерция в интроне 4. Данный вид патологии представляет из себя фенотипически гетерогенную прогрессирующую мышечную дистрофию, вызванную мутациями в гене DYSF, который кодирует трансмембранный белок дисферлин, участвующий в восстановлении сарколеммы. Также он участвует в процессе восстановления мембран, в системе внутриклеточных пузырьков и в развитии Т-каналцев в скелетных мышцах [31]. Заболевания характеризуются слабостью и атрофией мышц, которые медленно и симметрично прогрессируют в проксимальных мышцах поясов конечностей примерно на 50-й неделе жизни животного [32].

Оценка мышечной силы и двигательного дефицита

Динамику изменения мышечного дефицита животных оценивали в автоматизированном и классическом варианте теста ПС [33]. В случае использования автоматизированного варианта, животное помещали на центр сетки 25×25 см с шириной отверстий 5×5 мм и толщиной сетки 0,5 мм. Переворачивание сетки с животным происходило с заданной скоростью при помощи автоматизированной платформы. Сетка установлена на опорах с регулируемой высотой (от 30 до 100 см с шагом 10 см), над клеткой с толстым слоем подстила. На сетку помещают животное, после того как оно стабильно хватается за сетку всеми четырьмя лапами, на управляющем контролере запускаем протокол. После чего сетка посредством сервопривода переворачивается вместе с животным на 180°. При этом вес сетки с лабораторным животным регистрируется соответствующим тензометрическим датчиком, а скачкообразное изменение веса сетки интерпретируется, как падение животного с сетки с регистрацией времени фактического нахождения на ней и отображением этого результата на дисплее. После завершения протокола животное извлекается из теста путем выдвижения клетки из установки.

Автоматизированный вариант теста был сделан на оборудовании согласно патенту на изобретение

№ 2815584 «Автоматизированное устройство для проведения поведенческого теста «перевернутая сетка».

В случае использования классического варианта установка перевернутая сетка представляет собой проволочную сетку 25×25 см с размером ячеек 5×5 мм с диаметром проволоки 0,5 мм, окруженная перегородкой размером 4 см, предотвращающей попытку мыши перелезть на другую сторону. Тест используется для оценки координации движений и МС обеих пар конечностей. Мышей помещали в центр проволочной сетки, которую переворачивали и устанавливали на высоте 50 см над мягкой поверхностью. Регистрировалось время падения животного или животное снималась с сетки, если время достигало 180 сек [31].

Статистическая обработка

Статистическую обработку проводили с помощью программы GraphPad Prism Software 8.0 («GraphPad Software Inc.», США). В зависимости от типа распределения признаков и равенства дисперсий значимость полученных результатов оценивали с применением параметрического (ANOVA) или непараметрического (*U*-критерия Манна-Уитни). Для выявления различий при межгрупповых сравнениях использовали непарный *t*-критерий Стьюдента. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Дизайн исследования

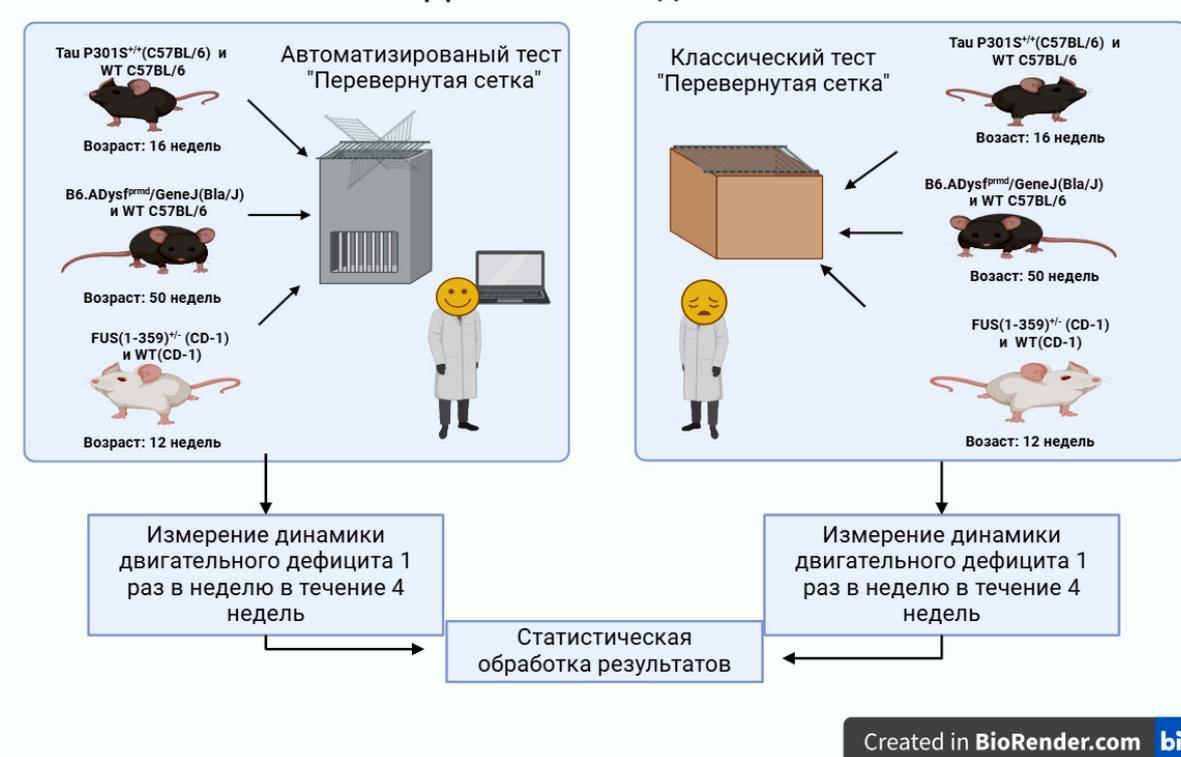


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Примечание: экспериментальные (Bla/J, $n=20$; FUS(1-359)^{+/+}, $n=20$; Tau P301S^{+/+}, $n=20$) и контрольные (C57BL/6J, $n=20$; CD1, $n=20$). ДД – двигательный дефицит.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При проведении сравнительного исследования классического варианта теста ПС и его автоматизированной формы для использования его с целью определения ДД и динамики изменения МС у мышей с подтвержденным фенотипом нейродегенеративных и миодистрофических заболеваний человека ранее были получены следующие результаты [21, 34, 35].

В результате проведения теста ПС, степень повышения симптомов ДД и снижения МС у мышей линии Tau P301S^{+/+} (Рис. 2) в сравнении с группой контроля (C57BL/6J) в случае использования автоматического варианта ПС (Tau P301S^{+/+}) составила 32,17, 48,67, 67,67 и 82,17% ($p < 0,001$) в возрасте 16, 17, 18, 19 недель соответственно. В случае проведения теста по классическому варианту у группы (Tau P301S^{+/+}) составила 22,17, 39,34, 61,83 и 72,17% ($p < 0,0001$) в возрасте 16, 17, 18, 19 недель соответственно в сравнении с контрольной группой (C57BL/6J). Таким образом, разница результатов, полученных при проведении двух вариантов теста ПС, составила 10, 9,33, 5,84 и 10% в возрасте 16, 17, 18 и 19 недель соответственно.

В результате проведения теста ПС, степень повышения симптомов ДД и снижения МС у мышей линии FUS(1-359)^{+/-} (Рис. 3) в сравнении с группой контроля (CD-1) в случае использования автоматического варианта теста (FUS(1-359)^{+/-}) составила 21,83, 53,17, 72,67 и 90,5% ($p < 0,0001$) в возрасте 11, 12, 13, 14 недель соответственно. В случае проведения теста по классическому варианту у группы FUS(1-359)^{+/-} составила 16,17, 40,67, 61,67 и 73,33% ($p < 0,0001$) в возрасте 11, 12, 13 и 14 недель соответственно в сравнении с контрольной группой (CD-1). Таким образом, разница результатов, полученных при проведении двух вариантов теста ПС, составила 5,67, 12,5, 11 и 17,17% в 1–4 недели исследования.

В результате проведения теста ПС, степень повышения симптомов ДД и снижения МС у мышей линии B1a/J (Рис. 4) в сравнении с группой контроля (C57BL/6J) в случае использования автоматического варианта ПС (B1a/J) составила 25,83, 33,51, 33 и 58,67% ($p < 0,0001$) в возрасте 12, 13, 14 и 15 недель соответственно. В случае проведения теста по классическому варианту у группы (B1a/J) составила 41,17, 44,67, 51,83 и 59,33% ($p < 0,0001$) в возрасте 50, 51, 52, 53 недели соответственно в сравнении с контрольной группой (C57BL/6J). Таким образом, разница результатов, полученных при проведении двух вариантов теста ПС, составила 15,34, 11,67, 0,5 и 0,67% в 1–4 недели исследования.

На примере автоматизации всеми известного теста «перевернутая сетка», мы хотели показать различия в полученных результатах, при использовании автоматизированного комплекса и классического теста на трех сублиниях трансгенных животных (Рис. 5). Было показано, что стандартная

ошибка среднего в классическом варианте теста на мышах линии Tau P301S^{+/+} составила 6,24, 5,94, 5,88, и 7,38 в 4-х возрастных точках, на мышах линии FUS(1-359)^{+/-} – 4,49, 6,8, 6,98 и 4,1; B1a/J – 7,66, 7,58, 8,3 и 7,92 соответственно. Стандартная ошибка среднего при анализе данных, полученных при проведении автоматического варианта теста ПС, составила у линии Tau P301S^{+/+} – 5,1, 4,93, 3,42 и 2,26 соответственно, на мышах линии FUS(1-359)^{+/-} – 4,24, 4,52, 5,19 и 2,9; B1a/J – 5,24, 4,52, 4,7 и 4,85 соответственно. Таким образом, автоматизация теста и уменьшение влияния экспериментатора снизило стандартную ошибку среднего на мышах линии Tau P301S^{+/+} на 36,6%, FUS(1-359)^{+/-} – на 23,1%; B6. ADysf^{frmd}/GeneJ – 38,5%.

Общепризнанно, что экспериментатор влияет на результат эксперимента и его интерпретацию, поэтому важно автоматизировать данную переменную и минимизировать влияние экспериментатора как на сам эксперимент, так и на его интерпретацию [36, 37].

ОБСУЖДЕНИЕ

Поведенческое тестирование животных в экспериментальных исследованиях с целью определения ДД и МС используется для оценки результативности фармакологической терапии при многих моделях заболеваний. Первая экспериментальная статья, в которой был упомянут тест ПС, датируется 1986 годом¹.

Тесты известные под названием «открытое поле», «перевернутая сетка», и тест с «вращающимся стержнем» широко используются в экспериментальных работах, связанных с оценкой эффективности терапевтической коррекции заболеваний основным симптомом которых являются нарушения координации и двигательный дефицит. В настоящее время, существует возможность автоматизации классических для исследователей тестов, что минимизирует контакт человека с животным тем самым делая исследование более объективным и точным, также это способствует повышению пропускной способности установки. Строго говоря, данная работа показывает, что существует возможность автоматизировать большое количество поведенческих тестов широко известных научно-исследовательскому сообществу, что повысит интенсивность проведения экспериментов.

Примерами могут служить тест «Cat Walk», сущность которого заключается в автоматизации регистрации положения лап животного при походке посредством инфракрасного излучения, что ранее делалось путем нанесения туши на лапы испытуемого и помещением его на листы бумаги.

¹ Kordower J.H., Felten S.Y., Felten D.L., Gash D.M. Behavioral sequelae following MPTP administration in mice. A neurotoxin producing a parkinsonian syndrome. Orlando: Academic Press. – 1986. – P. 413–417.

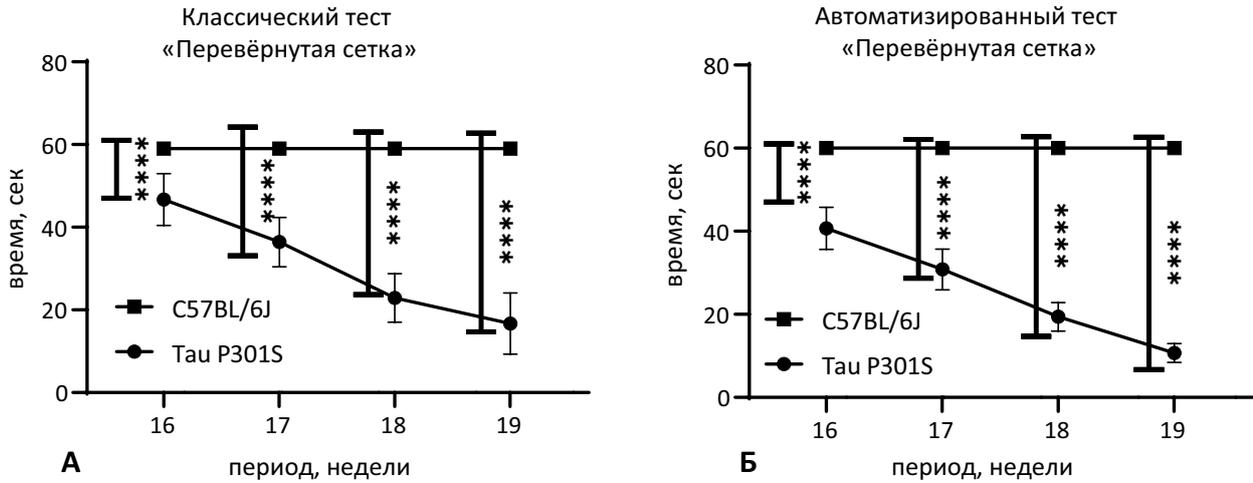


Рисунок 2 – Исследование двигательного дефицита у линии Tau P301S^{+/+} при помощи автоматизированного и классического варианта теста «перевернутая сетка»

Примечание: представлены медианы и стандартная ошибка среднего. Выборки проверены на нормальность, а статистическая достоверность оценивалась с помощью U-критерия Манна-Уитни (*****p* < 0,0001). А – классический тест ПС, Б – автоматизированный тест ПС.

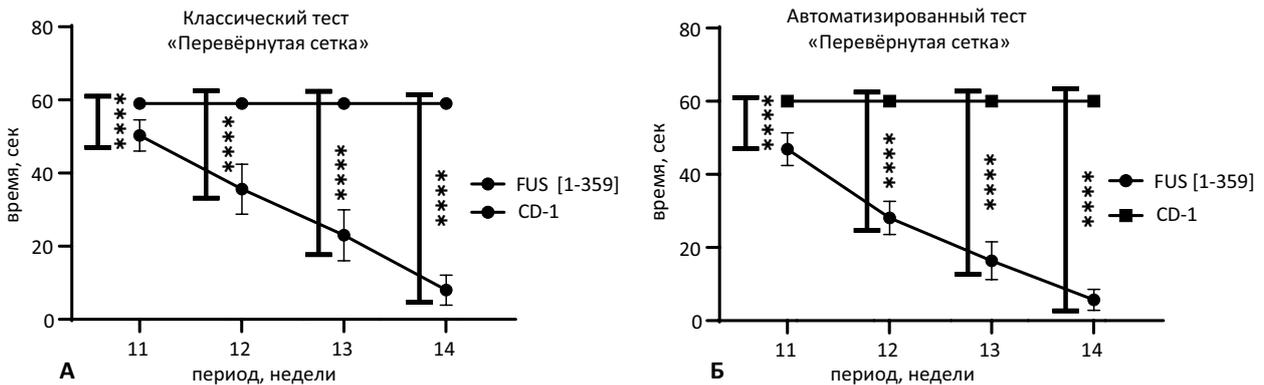


Рисунок 3 – Исследование двигательного дефицита у линии FUS(1-359)^{+/-} при помощи автоматизированного и классического варианта теста «перевернутая сетка»

Примечание: представлены медианы и стандартная ошибка среднего. Выборки проверены на нормальность, а статистическая достоверность оценивалась с помощью U-критерия Манна-Уитни (*****p* < 0,0001). А – классический тест ПС, Б – автоматизированный тест ПС.

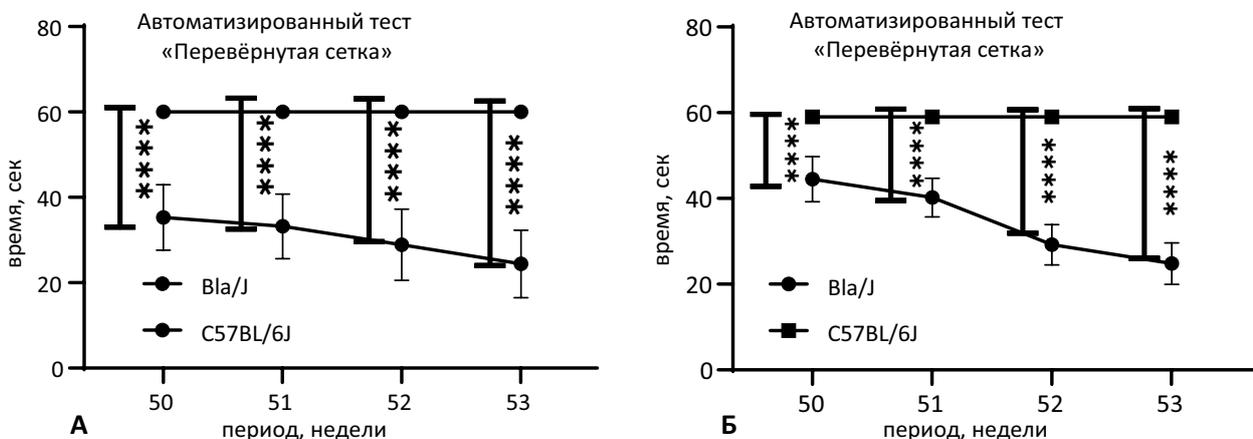


Рисунок 4 – Исследование двигательного дефицита у линии BlA/J при помощи автоматизированного и классического варианта теста перевернутая сетка

Примечание: представлены медианы и стандартная ошибка среднего. Выборки проверены на нормальность, а статистическая достоверность оценивалась с помощью U-критерия Манна-Уитни (*****p* < 0,0001). А – классический тест ПС, Б – автоматизированный тест ПС.

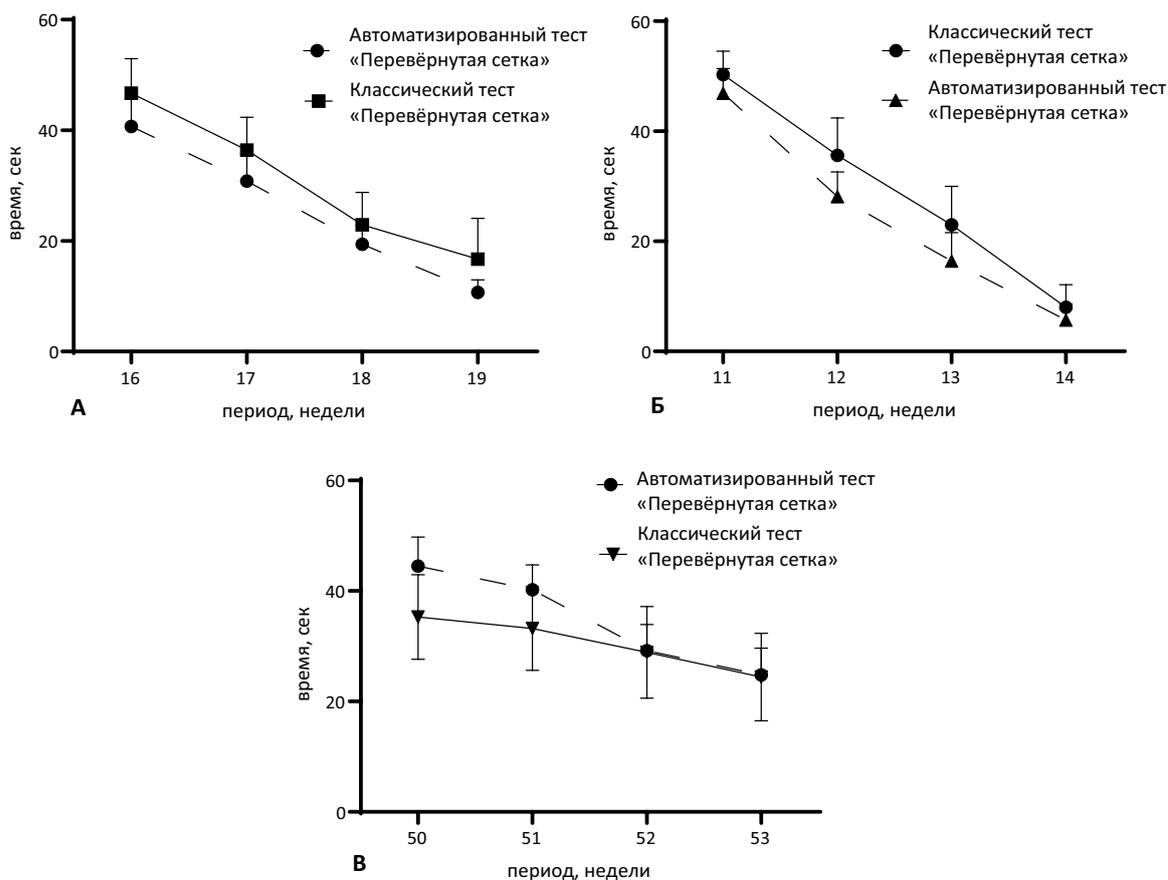


Рисунок 5 – Сравнение результатов исследования двигательного дефицита у линии А – Tau P301S^{+/+}, Б – FUS(1-359)^{+/+}, В – Blc/J, при помощи автоматизированного и классического варианта теста «перевернутая сетка»

Многие научные группы работают над разработкой полностью автоматизированной системы для поведенческого тестирования. Например, разработана система «IntelliCage» [11], которая кроме автоматизации работы позволяет избежать потенциально тревожных условия для животных и обладает широким спектром различных протоколов исследования, но кроме весомых достоинств, данная система не может до конца заменить всем известные классические поведенческие тесты. Еще одним ярким примером является полная автоматизация домашней клетки для непрерывного тестирования мышей [38]. Безусловно данная разработка является ценным инструментом для всестороннего фенотипирования, но большой массив данных для обработки и скорость проведения тестов подходит не для всех экспериментальных работ.

В некоторых случаях автоматизации и усовершенствованию подвергаются и тесты, которые на данный момент уже используют автоматическую трассировку перемещения животного (EthoVision и VideoMot). Так, например для теста «Водный лабиринт Морриса» был предложен новый инструмент «Minorontikos» [39], позволяющий объединить различные методы обсчета и интерпретации результатов.

Проведенная нами автоматизация «перевернутой сетки» показала, что кроме уменьшения стандартной ошибки среднего по сравнению с классическим тестом на 23–39%, также повышается коэффициент полезного действия за счет уменьшения затрачиваемого времени на проведение теста. Следовательно, тем самым повышается пропускная способность тестирования и увеличивается количество получаемых новых косвенных числовых значения (например, регистрация угла, при котором животное теряет фиксацию с сеткой). В среднем, на выполнение стандартного ручного фенотипического тестирования 30–40 мышей (включая регистрацию спонтанной активности и анализ данных) уходит 20 ч рабочего времени. Еще одним немаловажным достоинством установки является стандартизация скорости вращения сетки и высоты её установки относительно клетки с амортизирующим покрытием, что позволяет уменьшить разницу в испытываемом стрессе между мышами.

Ограничения исследования

На результаты исследования может повлиять: малочисленная выборка, проведение исследования на экспериментальных и контрольных

животных в разное время циркадного ритма, неудовлетворительное содержание животных, в том числе и высокая стрессовая нагрузка на экспериментальный объект, близкое нахождение экспериментатора возле прибора при проведении тестирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время неотъемлемой частью при проведении экспериментальной работы с животными является использование фенотипических тестов. Но в тоже время неточности оценки параметров поведения животных резко снижают ценность результатов всего эксперимента и приводят к значительным финансовым затратам. Поэтому во всем мире активно ведутся разработки систем

автоматической регистрации и оценки поведения. Нами была проделана работа по автоматизации теста «перевернутая сетка».

В ходе сравнительной характеристика классического теста с автоматизированным значение стандартной ошибки среднего результата исследования динамики изменения МС при использовании автоматизированного варианта теста «перевернутая сетка» было снижено в сравнении с результатами проведения классического варианта теста. Результаты исследования показывают, что автоматизация общепризнанных поведенческих тестов способна повысить точность получаемых данных, снизив влияние человеческого фактора на проведение манипуляции.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа была поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1346. Разработка автоматизированной системы проводилась при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение № FZWG-2021-0016.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

П.Р. Лебедев – автоматизация теста «перевернутая сетка»; Е.В. Кузубова – написание статьи, разработка дизайна исследования; В.М. Покровский – анализ литературы, написание статьи; А.И. Радченко – оценка и проведение поведенческих тестов; С.И. Осипьян – подготовка когорт животных, генотипирование; А.В. Степенко – интерпретация результатов; А.А. Апостол – наблюдение и уход за животными, хендлинг животных; Л.М. Даниленко – разработка дизайна исследования; А.А. Должиков – оформление графического материала; Т.Г. Покровская – консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ; О.С. Гудырев – статистическая обработка данных; Я.С. Кочергина – консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ; О.В. Дудникова – анализ данных. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Peirson S.N., Brown L.A., Potheary C.A., Benson L.A., Fisk A.S. Light and the laboratory mouse // *J Neurosci Methods*. – 2018. – Vol. 300. – P. 26–36. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2017.04.007
2. Fitzpatrick B.G., Koustova E., Wang Y. Getting personal with the “reproducibility crisis”: interviews in the animal research community // *Lab Anim (NY)*. – 2018. – Vol. 47, No. 7. – P. 175–177. DOI: 10.1038/s41684-018-0088-6
3. Munafò M.R., Nosek B.A., Bishop D.V.M., Button K.S., Chambers C.D., du Sert N.P., Simonsohn U., Wagenmakers E.J., Ware J.J., Ioannidis J.P.A. A manifesto for reproducible science // *Nat Hum Behav*. – 2017. – Vol. 1, No. 1. – P. 0021. DOI: 10.1038/s41562-016-0021
4. Voelkl B., Würbel H. A reaction norm perspective on reproducibility // *Theory Biosci*. – 2021. – Vol. 140, No. 2. – P. 169–176. DOI: 10.1007/s12064-021-00340-y
5. García-Berthou E., Alcaraz C. Incongruence between test statistics and P values in medical papers // *BMC Med Res Methodol*. – 2004. – Vol. 4. – P. 13. DOI: 10.1186/1471-2288-4-13
6. Manouze H., Ghestem A., Poillierat V., Bennis M., Ba-M’hamed S., Benoliel J.J., Becker C., Bernard C. Effects of Single Cage Housing on Stress, Cognitive, and Seizure Parameters in the Rat and Mouse Pilocarpine Models of Epilepsy // *eNeuro*. – 2019. – Vol. 6, No. 4. – P. ENEURO.0179-18.2019. DOI: 10.1523/ENEURO.0179-18.2019
7. Replicating scientific results is tough – but essential. *Nature*. – 2021. – Vol. 600, No. 7889. – P. 359–360. DOI: 10.1038/d41586-021-03736-4
8. Smith A.J. Guidelines for planning and conducting high-quality research and testing on animals // *Lab Anim Res*. – 2020. – Vol. 36. – P. 21. DOI: 10.1186/s42826-020-00054-0
9. Nigri M., Åhlgren J., Wolfer D.P., Voikar V. Role of Environment and Experimenter in Reproducibility of Behavioral Studies With Laboratory Mice // *Front Behav Neurosci*. – 2022. – Vol. 16. – P. 835444. DOI: 10.3389/fnbeh.2022.835444
10. Finger S., Heavens R.P., Sirinathsinghi D.J., Kuehn M.R., Dunnett S.B. Behavioral and neurochemical evaluation of a transgenic mouse model of Lesch-Nyhan syndrome //

- J Neurol Sci. – 1988. – Vol. 86, No. 2-3. – P. 203–213. DOI: 10.1016/0022-510x(88)90099-8
11. Lipp H.P., Krackow S., Turkes E., Benner S., Endo T., Russig H. IntelliCage: the development and perspectives of a mouse- and user-friendly automated behavioral test system // *Front Behav Neurosci.* – 2024. – Vol. 17. – P. 1270538. DOI: 10.3389/fnbeh.2023.1270538
 12. Rusmini P., Cortese K., Crippa V., Cristofani R., Cicardi M.E., Ferrari V., Vezzoli G., Tedesco B., Meroni M., Messi E., Piccolella M., Galbiati M., Garrè M., Morelli E., Vaccari T., Poletti A. Trehalose induces autophagy via lysosomal-mediated TFEB activation in models of motoneuron degeneration // *Autophagy.* – 2019. – Vol. 15, No. 4. – P. 631–651. DOI: 10.1080/15548627.2018.1535292
 13. Wang C., Chen S., Guo H., Jiang H., Liu H., Fu H., Wang D. Forsythoside A Mitigates Alzheimer’s-like Pathology by Inhibiting Ferroptosis-mediated Neuroinflammation via Nrf2/GPX4 Axis Activation // *Int J Biol Sci.* – 2022. – Vol. 18, No. 5. – P. 2075–2090. DOI: 10.7150/ijbs.69714
 14. Салмина А.Б., Горина Я.В., Большакова А.В., Власова О.Л. Анализ основных мировых трендов в объективизации протоколов поведенческого тестирования лабораторных животных с патологией головного мозга // *Биомедицина.* – 2023. – Т. 19, № 1. – С. 34–46. DOI: 10.33647/2074-5982-19-1-34-46
 15. Yamin H.G., Menkes-Caspi N., Stern E.A., Cohen D. Age-Dependent Degradation of Locomotion Encoding in Huntington’s Disease R6/2 Model Mice // *J Huntingtons Dis.* – 2021. – Vol. 10, No. 3. – P. 391–404. DOI: 10.3233/JHD-210492
 16. Rai S.N., Singh P. Advancement in the modelling and therapeutics of Parkinson’s disease. *J Chem Neuroanat.* – 2020. – Vol. 104. – P. 101752. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2020.101752
 17. Mustapha M., Mat Taib C.N. MPTP-induced mouse model of Parkinson’s disease: A promising direction of therapeutic strategies // *Bosn J Basic Med Sci.* – 2021. – Vol. 21, No. 4. – P. 422–433. DOI: 10.17305/bjbms.2020.5181
 18. Zang C., Liu H., Shang J., Yang H., Wang L., Sheng C., Zhang Z., Bao X., Yu Y., Yao X., Zhang D. Gardenia jasminoides J.Ellis extract GJ-4 alleviated cognitive deficits of APP/PS1 transgenic mice // *Phytomedicine.* – 2021. – Vol. 93. – P. 153780. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153780
 19. Osmon K.J., Vyas M., Woodley E., Thompson P., Walia J.S. Battery of Behavioral Tests Assessing General Locomotion, Muscular Strength, and Coordination in Mice // *J Vis Exp.* – 2018. – No. 131. – P. 55491. DOI: 10.3791/55491
 20. Zolotarev Y.A., Shram S.I., Dadayan A.K., Dolotov O.V., Markov D.D., Nagaev I.Y., Kudrin V.S., Narkevich V.B., Sokolov O.Y., Kost N.V. HLDf-6 peptides exhibit neuroprotective effects in the experimental model of preclinical Parkinson’s disease // *Neuropeptides.* – 2022. – Vol. 96. – P. 102287. DOI: 10.1016/j.npep.2022.102287
 21. Bohlen M., Hayes E.R., Bohlen B., Bailoo J.D., Crabbe J.C., Wahlsten D. Experimenter effects on behavioral test scores of eight inbred mouse strains under the influence of ethanol // *Behav Brain Res.* – 2014. – Vol. 272. – P. 46–54. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.06.017
 22. Hänell A., Marklund N. Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research // *Front Behav Neurosci.* – 2014. – Vol. 8. – P. 252. DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00252
 23. de Munter J., Babaevskaya D., Wolters E.C., Pavlov D., Lysikova E., V Kalueff A., Gorlova A., Oplatchikova M., Pomytkin I.A., Proshin A., Umriukhin A., Lesch K.P., Strekalova T. Molecular and behavioural abnormalities in the FUS-tg mice mimic frontotemporal lobar degeneration: Effects of old and new anti-inflammatory therapies // *J Cell Mol Med.* – 2020. – Vol. 24, No. 17. – P. 10251–10257. DOI: 10.1111/jcmm.15628
 24. Korobeynikov V.A., Lyashchenko A.K., Blanco-Redondo B., Jafar-Nejad P., Shneider N.A. Antisense oligonucleotide silencing of FUS expression as a therapeutic approach in amyotrophic lateral sclerosis // *Nat Med.* – 2022. – Vol. 28, No. 1. – P. 104–116. DOI: 10.1038/s41591-021-01615-z
 25. Lysikova E.A., Kukharsky M.S., Chaprov K.D., Vasilieva N.A., Roman A.Y., Ovchinnikov R.K., Deykin A.V., Ninkina N., Buchman V.L. Behavioural impairments in mice of a novel FUS transgenic line recapitulate features of frontotemporal lobar degeneration // *Genes Brain Behav.* – 2019. – Vol. 18, No. 8. – P. e12607. DOI: 10.1111/gbb.12607
 26. Korde D.S., Humpel C. Spreading of P301S Aggregated Tau Investigated in Organotypic Mouse Brain Slice Cultures // *Biomolecules.* – 2022. – Vol. 12, No. 9. – P. 1164. DOI: 10.3390/biom12091164
 27. Larson T., Khandelwal V., Weber M.A., Leidinger M.R., Meyerholz D.K., Narayanan N.S., Zhang Q. Mice expressing P301S mutant human tau have deficits in interval timing // *Behav Brain Res.* – 2022. – Vol. 432. – P. 113967. DOI: 10.1016/j.bbr.2022.113967
 28. Macdonald J.A., Bronner I.F., Drynan L., Fan J., Curry A., Fraser G., Lavenir I., Goedert M. Assembly of transgenic human P301S Tau is necessary for neurodegeneration in murine spinal cord // *Acta Neuropathol Commun.* – 2019. – Vol. 7, No. 1. – P. 44. DOI: 10.1186/s40478-019-0695-5
 29. Zarate N., Gundry K., Yu D., Casby J., Eberly L.E., Öz G., Gomez-Pastor R. Neurochemical correlates of synapse density in a Huntington’s disease mouse model // *J Neurochem.* – 2023. – Vol. 164, No. 2. – P. 226–241. DOI: 10.1111/jnc.15714
 30. Корокин М.В., Кузубова Е.В., Радченко А.И., Деев Р.В., Яковлев И.А., Дейкин А.В., Жунусов Н.С., Краюшкина А.М., Покровский В.М., Пученкова О.А., Чапров К.Д., Екимова Н.В., Бардаков С.Н., Чернова О.Н., Емелин А.М., Лимаев И.С. МЫШИ В6.A-DYSF^{FRMD}/GeneJ как генетическая модель дисферлинопатии // *Фармация и фармакология.* – 2022. – Т. 10, № 5. – С. 483–496. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-483-496
 31. Seo K., Kim E.K., Choi J., Kim D.S., Shin J.H. Functional recovery of a novel knockin mouse model of dysferlinopathy by readthrough of nonsense mutation // *Mol Ther Methods Clin Dev.* – 2021. – Vol. 21. – P. 702–709. DOI: 10.1016/j.omtm.2021.04.015
 32. Lysikova E.A., Funikov S., Rezvykh A.P., Chaprov K.D., Kukharsky M.S., Ustyugov A., Deykin A.V., Flyamer I.M., Boyle S., Bachurin S.O., Ninkina N., Buchman V.L. Low Level of Expression of C-Terminally Truncated Human FUS Causes Extensive Changes in the Spinal Cord Transcriptome of Asymptomatic Transgenic Mice // *Neurochem Res.* – 2020. – Vol. 45, No. 5. – P. 1168–1179. DOI: 10.1007/s11064-020-02999-z
 33. Вихарева Е.А., Чичёва М.М., Евгеньев М.Б., Фуников С.Ю., Дейкин А.В., Бачурин С.О., Устюгов А.А. Влияние белков теплового шока на продолжительность жизни и поведенческие функции животных с

- FUS-протеинопатией // Нейрохимия. – 2021. – Т. 38, № 1. – С. 37–42. DOI: 10.31857/S1027813321010143
34. Begam M., Collier A.F., Mueller A.L., Roche R., Galen S.S., Roche J.A. Diltiazem improves contractile properties of skeletal muscle in dysferlin-deficient BLA mice, but does not reduce contraction-induced muscle damage // *Physiol Rep.* – 2018. – Vol. 6, No. 11. – P. e13727. DOI: 10.14814/phys2.13727
35. Gessesse G.W., Tamrat L., Damji K.F. Amsler grid test for detection of advanced glaucoma in Ethiopia // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, No. 3. – P. e0230017. DOI: 10.1371/journal.pone.0230017
36. Sturman O., Germain P.L., Bohacek J. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test // *Stress.* – 2018. – Vol. 21, No. 5. – P. 443–452. DOI: 10.1080/10253890.2018.1438405
37. Mathiasen J.R., Moser V.C. The Irwin Test and Functional Observational Battery (FOB) for Assessing the Effects of Compounds on Behavior, Physiology, and Safety Pharmacology in Rodents // *Curr Protoc.* – 2023. – Vol. 3, No. 5. – P. e780. DOI: 10.1002/cpz1.780
38. Ho H., Kejzar N., Sasaguri H., Saito T., Saido T.C., De Strooper B., Bauza M., Krupic J. A fully automated home cage for long-term continuous phenotyping of mouse cognition and behavior // *Cell Rep Methods.* – 2023. – Vol. 3, No. 7. – P. 100532. DOI: 10.1016/j.crmeth.2023.100532
39. Чернюк Д.П., Зорин А.Г., Деревцова К.З., Ефимова Е.В., Приходько В.А., Сысоев Ю.И., Власова О.Л., Болсуновская М.В., Безпрозванный И.Б. Автоматический анализ данных поведенческого теста «Водный лабиринт Морриса» // *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова.* – 2021. – Т. 71, № 1. – С. 126–135. DOI: 10.31857/S0044467721010044

АВТОРЫ

Лебедев Петр Романович – младший научный сотрудник лаборатории генетических технологий и геномного редактирования для биомедицины и ветеринарии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0001-9102-3360. E-mail: Artkelt98@yandex.ru

Кузубова Елена Валерьевна – младший научный сотрудник лаборатории генетических технологий и геномного редактирования для биомедицины и ветеринарии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0003-2425-5027. E-mail: 1015artek1015@mail.ru

Покровский Владимир Михайлович – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-1493-3376. E-mail: pokrovskiy@bsu.edu.ru

Радченко Александра Игоревна – младший научный сотрудник лаборатории генетических технологий и геномного редактирования для биомедицины и ветеринарии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-4554-2116. E-mail: sandrinkaradchenko@gmail.com

Осипьян Сергей Игоревич – лаборант-исследователь лаборатории генетических технологий и геномного редактирования для биомедицины и ветеринарии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0009-0008-4837-3507. E-mail: osipyansergey23@gmail.com

Степенко Юлия Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории генетических технологий и геномного редактирования для биомедицины и ветеринарии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-7414-7326. E-mail: julia.v.stepenکو@gmail.com

Апостол Алина Александровна – лаборант-исследователь лаборатории генетических технологий и геномного редактирования для биомедицины и ветеринарии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» ORCID ID: 0000-0003-3290-2917. E-mail: alinakum835@gmail.com

Даниленко Людмила Михайловна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0001-6101-8712. E-mail: danilenko_l@bsu.edu.ru

Должиков Александр Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0003-2798-513X. E-mail: dolzhikov@bsu.edu.ru

Покровская Татьяна Григорьевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0001-6802-5368. E-mail: pokrovskaja@bsu.edu.ru

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

Кочергина Яна Сергеевна – учебно-медицинский эксперт ОГБУЗ «Белгородское бюро судебно-медицинской экспертизы». ORCID ID: 0009-0003-8167-5666. E-mail: yana5568@mail.ru

Дудникова Ольга Васильевна – учебно-медицинский эксперт ОГБУЗ «Белгородское бюро судебно-медицинской экспертизы». ORCID ID: 0009-0005-8949-5058. E-mail: Olenka_Normanskikh@mail.ru

УДК 616.8-085.2/.3



Применение габапентина для терапии нейропатической боли: взгляд с позиций доказательной медицины

О.И. Бутранова¹, С.К. Зырянов^{1,2}

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

² Государственное бюджетное учреждение города Москвы «Городская клиническая больница № 24 Департамента здравоохранения города Москвы», 127015, Россия, г. Москва, ул. Писцовая, д. 10

E-mail: butranovaolga@mail.ru

Получена 15.02.2024

После рецензирования 17.04.2024

Принята к печати 20.04.2024

Цель. Провести анализ литературных источников на предмет фармакодинамических и фармакокинетических особенностей габапентина, позволяющих использовать его у пациентов с нейропатической болью, а также сравнительную оценку его эффективности и безопасности при применении в различных дозах.

Материалы и методы. В качестве поисковых ресурсов были использованы базы данных PubMed, Google Scholar, EMBASE, научно-информационная сеть ResearchGate и elibrary.ru. В качестве ключевых слов для поиска использовали «габапентин», «механизм действия», «мишени габапентина», «фармакодинамика габапентина», «фармакокинетика», «фармакокинетические параметры», «нейропатическая боль», «рандомизированные клинические исследования». Глубина поиска составила 26 лет (с 1998 по 2024 гг.). В результате настоящий обзор составили 87 источников литературы.

Результаты. Нейропатическая боль (НБ) является одним из наиболее распространенных видов хронической боли, характеризующимся высокой распространенностью среди лиц трудоспособного возраста. Эффективная фармакотерапия, направленная на устранение болевого синдрома, является ключевым инструментом повышения качества жизни и сохранения работоспособности пациентов. Гетерогенность этиологических факторов, вовлечённых в генез НБ, указывает на необходимость использования препаратов, анальгетический эффект которых основан на ослаблении передачи болевых импульсов в ЦНС. В клинических исследованиях габапентин продемонстрировал эффективность в отношении снижения выраженности боли у пациентов с постгерпетической НБ, болевой диабетической нейропатией и многими другими состояниями, сопровождающимися НБ. Доза габапентина 300 мг/сут является начальной в терапии НБ и требует дальнейшей медленной титрации в зависимости от ответа пациента на терапию и переносимости препарата, в особенности у пациентов пожилого и старческого возраста, а также пациентов с нарушенной функцией почек. Согласно опубликованным данным, наиболее выраженный анальгетический эффект достигается у пациентов на фоне применения габапентина в дозе 3600 мг/сут.

Заключение. Габапентин является препаратом выбора при ведении пациентов с НБ различной этиологии и интенсивности. Удовлетворительный профиль безопасности и фармакодинамические эффекты позволяют габапентину, несмотря на длительную историю его использования, оставаться актуальным препаратом, применяемым врачами широкого круга специальностей для фармакотерапии пациентов с НБ.

Ключевые слова: габапентин; габапентиноиды; нейропатическая боль; диабетическая полинейропатия; постгерпетическая невралгия; хроническая боль

Список сокращений: ВАШ – визуальная аналоговая шкала; ДИ – доверительный интервал; ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; НБ – нейропатическая боль; ОР – относительный риск; ОШ – отношение шансов; РКИ – рандомизированные клинические исследования; рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации; СИОЗН – селективные ингибиторы обратного захвата норадреналина; ССБ – среднесуточная боль; ТЦА – трициклические антидепрессанты; ЦНС – центральная нервная система; $\alpha 2\delta$ -1 – альфа-2 дельта субъединица типа 1; АМРА-рецепторы – рецепторы альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовой кислоты; ИММРАСТ – инициатива по методам, измерению и оценке боли в клинических исследованиях; KCNQ2/3 – гетеромерные потенциалзависимые калиевые каналы; NNT – число пациентов, которых необходимо лечить; LAT-1 – система переносчиков L-аминокислот 1 типа; MD – медианное отклонение; NMDA-рецепторы – N-метил-D-аспарататные рецепторы; NRS – числовая рейтинговая шкала боли.

Для цитирования: О.И. Бутранова, С.К. Зырянов. Применение габапентина для терапии нейропатической боли: взгляд с позиций доказательной медицины. *Фармация и фармакология*. 2024;12(1):74-88. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-74-88

© О.И. Бутранова, С.К. Зырянов, 2024

For citation: O.I. Butranova, S.K. Zyryanov. Use of gabapentin for neuropathic pain therapy: A view from perspective of evidence-based medicine. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(1):74-88. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-1-74-88

Use of gabapentin for neuropathic pain therapy: A view from perspective of evidence-based medicine

O.I. Butranova¹, S.K. Zyryanov^{1,2}

¹ Patrice Lumumba Peoples' Friendship University,
6, Miklukho-Maklay Str., Moscow, Russia, 117198

² Clinical Hospital No. 24 of the Moscow City Health Department,
10, Pistsova St., Moscow, Russia, 127015

E-mail: butranovaolga@mail.ru

Received 15 Feb 2024

After peer review 17 April 2024

Accepted 20 Apr 2024

The aim of the study was to analyze the literature sources for pharmacodynamic and pharmacokinetic features of gabapentin, providing its use in patients with neuropathic pain, as well as a comparative evaluation of its efficacy and safety when used in different doses.

Materials and methods. PubMed, Google Scholar, EMBASE, ResearchGate scientific information network and elibrary.ru databases were used as search resources. The keywords used for the search were "gabapentin", "mechanism of action", "gabapentin targets", "gabapentin pharmacodynamics", "pharmacokinetics", "pharmacokinetic parameters", "neuropathic pain", and "randomized clinical trials". The depth of the search was 26 years (from 1998 to 2024). This review resulted in 87 literature sources.

Results. Neuropathic pain (NeP) is one of the most common types of chronic pain, characterized by a high prevalence among people of the working age. Effective pharmacotherapy aimed at eliminating the pain syndrome is a key tool for improving the quality of life and preserving the work capacity of patients. Heterogeneity of etiologic factors involved in the genesis of NeP indicates the need to use drugs the analgesic effect of which is based on weakening the transmission of pain impulses in the CNS. In clinical trials, gabapentin has demonstrated efficacy in reducing the severity of pain in patients with postherpetic NeP, painful diabetic neuropathy and many other conditions accompanied by NeP. The dose of gabapentin 300 mg/day is the initial dose in the therapy of NeP and requires a further slow titration depending on the patient's response to therapy and tolerability of the drug, especially in elderly and senile patients, as well as in patients with an impaired renal function. According to the published data, the most pronounced analgesic effect is achieved in the patients against the background of the gabapentin administration at a dose of 3600 mg/day.

Conclusion. Gabapentin is the drug of choice in the management of patients with NeP of different etiology and intensity. A satisfactory safety profile and pharmacodynamic effects make gabapentin possible, despite the long history of its use, to remain a relevant drug used by a wide range of physicians, specialties, for pharmacotherapy of NeP patients.

Keywords: gabapentin; gabapentinoids; neuropathic pain; diabetic polyneuropathy; postherpetic neuralgia; chronic pain

Abbreviations: VAS – visual analogue scale; CI – confidence interval; GABA – gamma-aminobutyric acid; NeP – neuropathic pain; RR – relative risk; OR – odds ratio; RCTs – randomized clinical trials; eGFR – estimated glomerular filtration rate; SNRIs – selective norepinephrine reuptake inhibitors; ADP – average daily pain; TCAs – tricyclic antidepressants; CNS – central nervous system; $\alpha 2\delta$ -1 – alpha2-delta type 1 subunit; AMPA receptors – α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptors; IMMPACT – Initiative on Methods, Measurement, and Pain Assessment in Clinical Trials; KCNQ2/3 – heteromeric potential-dependent potassium channels; NNT – Number Needed to Treat; LAT-1 – L-type amino acid transporter 1; MD – median deviation; NMDA receptors – N-methyl-d-aspartate receptors; NRS – Numeric Rating Scale.

ВВЕДЕНИЕ

Большое число хронических заболеваний, в частности, метаболических и нейродегенеративных, сопровождается не только снижением функции органов и систем, но и развитием нейропатической боли (НБ), характеризующейся повышением болевой чувствительности и возникновением спонтанных болевых ощущений. В основе НБ лежат соматосенсорные нарушения. НБ обычно имеет хронический характер: персистирующая или рецидивирующая боль длится, как правило, более 3-х месяцев [1].

Согласно классификации Международной ассоциации по изучению боли (IASP, 2019 г), НБ разделяют на периферическую и центральную [1].

Среди диагнозов МКБ-10, относящихся к НБ, можно отметить невралгию тройничного нерва (G50.0), невралгию после опоясывающего лишая (G53.0, B02.2) и синдром боли в фантомной конечности (G54.6). Тем не менее, спектр патологических состояний, сопровождающихся НБ, не ограничивается вышеуказанными, вследствие чего НБ является широко распространённой проблемой, оказывающей отрицательное влияние на качество жизни и работоспособность значимой доли населения. Распространённость НБ в общей популяции варьируется от 3 до 17% [2], в целом опубликованные данные указывают на то, что НБ страдает приблизительно каждый двадцатый житель стран западного мира [3].

По данным масштабного эпидемиологического исследования, включавшего анализ базы данных пациентов UK Biobank (Великобритания), общая распространенность НБ составила 9,2% [4]. Косвенно судить о масштабах распространения НБ в РФ можно основываясь на результатах 10-летнего анализа обращений в Клинику изучения и лечения боли (период с 2011 г. по 2020 г.), обнаруживших хроническую боль у 32% пациентов [5]. Среди пациентов пожилого и старческого возраста хронический болевой синдром встречается у абсолютного большинства: по данным обследования, включавшего 11 регионов РФ, было обнаружено, что его общая распространённость в популяции ≥65 лет составила 87,2% [6].

Являясь разновидностью хронической боли, НБ способна значительно снижать качество жизни пациентов, ограничивать физическую активность и способность к самообслуживанию. Это связано как непосредственно с самой болью, так и с рядом состояний, которые она может провоцировать. Важно отметить, что НБ в большей степени, чем другие виды хронической боли, ассоциирована с развитием депрессии и тревожных расстройств. По данным кросс-секционного исследования пациентов с НБ у 65,6% отмечалась депрессия, у 73,7% – тревожные расстройства [7]. Актуальность проблемы НБ в совокупности с депрессией и тревожными расстройствами в современном здравоохранении хорошо иллюстрируют результаты анализа базы публикаций Thomson Reuters Web of Science (WoS): в 2000 г. количество опубликованных статей по соответствующей тематике составляло 8, в 2020 – уже 106 (общее число публикаций за 20 лет – 915) [8]. НБ и связанная с ней депрессия являются причинами нарушения качества сна: исследования продемонстрировали, что более 83% с НБ могут страдать той или иной формой бессонницы [9].

НБ чаще всего развивается у пациентов работоспособного возраста, с чем связаны значимые социоэкономические последствия. По данным многоцентрового исследования амбулаторных пациентов с НБ (Турция, 2021 г.), их средний возраст составил 55,5±14,4 года [10]. По данным США НБ наиболее часто поражает мужчин в возрасте от 35 до 44 лет (вне зависимости от этнической принадлежности), в случае женщин были выявлены отличия: у белых пик встречаемости НБ совпадал с таковым для мужчин, у латиноамериканок и афроамериканок отмечался в возрасте 45–54 года [11]. Широкая распространенность НБ и связанных с ней депрессивных расстройств в популяции людей в возрасте около 40 лет подвергает их значительному риску поражения сердечно-сосудистой системы: по данным исследования, проведенного в Канаде (2011–2012 гг., 1493 пациента с повреждением спинного мозга), НБ повышала риск сердечно-сосудистых заболеваний

(скорректированное отношение шансов, ОШ) в 2,27 раза (95% доверительный интервал, ДИ: от 1,21 до 4,60), депрессия – в 4,07 раза (95% ДИ: от 2,10 до 7,87) [12]. Экономические последствия НБ иллюстрируют данные исследования реальной клинической практики стран Европы. Минимальный объем общих годовых прямых затрат системы здравоохранения на одного пациента с НБ был отмечен в Италии – 1939 евро, максимальный – в Испании, 3131 евро. Стоимость болезни (включая как прямые, так и непрямые затраты) имела минимальное значение также в Италии, 9305 евро, максимальное значение было отмечено в Германии, 14446 евро [13].

Основой ведения пациентов с НБ являются лекарственные препараты, направленные на устранение болевого синдрома с учетом гетерогенности факторов, вносящих вклад в развитие основных форм как периферической, так и центральной НБ [14, 15], а также обеспечивающие оптимальные клинические исходы с учетом высокой частоты сопутствующей депрессии и тревожных расстройств. Цели фармакотерапии НБ включают следующие [16]: уменьшение боли на 30–50%; улучшение качества сна; улучшение качества жизни; сохранение социальной активности и отношений; сохранение трудоспособности; улучшение функционирования органов и систем, а также всего организма в целом.

Отечественные и международные клинические рекомендации по ведению пациентов с НБ указывают на габапентиноиды (габапентин и прегабалин) как на препараты первой линии [17–19]. Эффективность и безопасность фармакотерапии зависит от дозы препарата и длительности его применения.

ЦЕЛЬ. Провести анализ фармакодинамических и фармакокинетических особенностей габапентина, позволяющих использовать его у пациентов с НБ, а также сравнительную оценку его эффективности и безопасности при применении в различных дозах на основе опубликованных данных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве источника материалов для написания обзорной статьи были использованы такие реферативные базы данных, как PubMed, Google Scholar, EMBASE, научно-информационная сеть ResearchGate и eLibrary.ru. Каждый из авторов провел независимый поиск публикаций для исключения ошибок. Анализировали публикации по трем направлениям: фармакодинамика, фармакокинетика, клиническая эффективность и безопасность. По направлению «фармакодинамика» в качестве ключевых слов для поиска использовали «габапентин», «механизм действия», «мишени габапентина», «фармакодинамика габапентина»; по направлению «фармакокинетика» – «габапентин», «фармакокинетика», «фармакокинетические

параметры». По указанным направлениям анализируемый период составил 26 лет (с 1998 по 2024 г.), всего было найдено 13 792 публикаций, после исключения дубликатов, литературных обзоров, невалидных работ (фармакокинетика габапентина у животных), публикаций, представленных только абстрактами, итоговое число работ, включенных в обзор по указанным двум направлениям составило 27. По направлению «эффективность и безопасность габапентина» ключевые слова для поиска включали «габапентин», «нейропатическая боль», «рандомизированные клинические исследования». Поиск осуществлялся по публикациям за период с 2014 по 2024 г. Было обнаружено всего 8 762 публикации. После исключения дубликатов, литературных обзоров, невалидных публикаций, публикаций с недоступным полным текстом, в данный обзор вошло 56 работ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Механизмы НБ и мишени габапентина

Несмотря на прогресс в изучении клеточных и молекулярных путей, единого консенсуса в понимании механизмов развития НБ на сегодняшний день не существует. Сложность заключается в том, что у одного пациента чаще всего в развитие НБ вовлечено одновременно несколько механизмов, наиболее известные из которых [20]: механизмы центральной сенсibilизации, механизмы периферической сенсibilизации, процессы, связанные с нейровоспалением, дисфункция нисходящих ноцицептивных модуляторных систем, реакция на окислительный стресс, активация глиальных клеток.

Вовлеченность каждого из указанных механизмов определяется разновидностью НБ (периферическая или центральная), а также этиологическими факторами, лежащими в основе ее развития. Основные виды периферической и центральной НБ, а также основные этиологические факторы их индуцирующие, приведены на рисунке 1.

В генезе центральной НБ ведущую роль играет повреждение сенсорных путей различных отделов центральной нервной системы (ЦНС) вследствие нарушения кровотока, инсультов, инфекционных заболеваний, травм, рассеянного склероза [21]. Результатом центральной сенсibilизации является формирование повышенного уровня спонтанной активации ноцицептивных сенсорных нейронов, снижение порога периферической стимуляции нейронов, усиление их ответа на надпороговую стимуляцию. В дорсальных рогах спинного мозга расположены два типа нейронов с противоположными эффектами в отношении ноцицептивной передачи: возбуждающие нейроны, экспрессирующие везикулярный транспортер глутамата-2, и тормозные нейроны,

экспрессирующие везикулярный транспортер гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК). Основной процесс, лежащий в основе центральной сенсibilизации, – активация такой разновидности глутаматных рецепторов, как N-метил-D-аспарататные рецепторы (NMDA). Они содержат 4 субъединицы (две GluN1 и две GluN2), образующие канал для ионов Na^+ , K^+ и Ca^{2+} . В норме этот канал закрыт вследствие блокирующего действия внеклеточного Mg^{2+} . Активация рецепторов, сопровождающаяся открытием канала, требует связывания глицина и глутамата с рецепторными субъединицами GluN1 и GluN29 в сочетании с деполяризацией мембраны для снятия блокады магния. Через открытый канал ионы Ca^{2+} устремляются внутрь клетки, что усиливает деполяризацию клеточной мембраны, способствующую дополнительному притоку кальция. Пресинаптические NMDA-рецепторы могут активироваться эндогенным глутаматом без снятия Mg^{2+} -блока. Для активации большинства постсинаптических NMDA-рецепторов требуется выраженная деполяризация нейронов одновременно со связыванием глутамата [22]. Итог активации NMDA-рецепторов – повышение внутриклеточного кальция, приводящее к экзоцитозу везикул и высвобождению нейромедиаторов [22]. Гиперактивность NMDA-рецепторов является одним из основных компонентов развития и поддержания хронической НБ [23]. Это связано с их вкладом в усиление спинальной ноцицептивной передачи, вызванной повреждением периферических нервов. Характерная для НБ внутренняя активация пресинаптических NMDA-рецепторов в дорсальных рогах спинного мозга сопровождается усиленным высвобождением глутамата из ноцицептивных первичных афферентных терминалей [24].

Важную роль в гиперактивации NMDA-рецепторов нейронов дорсальных рогов спинного мозга играют ферменты, вызывающие их фосфорилирование (казеинкиназа 2, протеинкиназы A и C, Ca^{2+} / кальмодулин-зависимая протеинкиназа II и тирозинкиназы Src и Fyn), и взаимодействие с таким белковым компонентом, как альфа-2 дельта субъединица потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов типа 1 ($\alpha 2\delta$ -1) [24]. Субъединица $\alpha 2\delta$ -1 образует комплекс с NMDA-рецепторами, а также может взаимодействовать с нейрексином-1 α , тромбоспондинами (молекулами адгезии) и другими пресинаптическими белками [25]. Также $\alpha 2\delta$ -1 может взаимодействовать с рецепторами альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовой кислоты (AMPA-рецепторы) [26]. Максимальная экспрессия $\alpha 2\delta$ -1 наблюдается в дорсальных корешковых ганглиях и дорсальных рогах спинного мозга [27].

Гиперэкспрессия $\alpha 2\delta$ -1 наблюдается при состояниях, провоцирующих НБ: травмах нервных тканей, приеме химиотерапевтических препаратов

в онкологии, ингибиторов кальциневрина, опиоид-индуцированной гипералгезии и приобретенной толерантности к анальгетикам, нарушениях церебрального кровотока. В итоге при НБ было обнаружено усиленное образование комплексов $\alpha 2\delta$ -1-NMDA-рецептор (прежде всего, с участием пресинаптических рецепторов), приводящее к усиленному высвобождению нейротрансмиттеров [23, 25, 28].

Габапентин является структурным аналогом ГАМК, но не оказывает значимого влияния на ГАМК-рецепторы. Было показано, что он действует на уровне нейронов околосинаптического серого вещества, повышая болевой порог и снижая интенсивность регионального мозгового кровотока указанной области [29]. Ключевой элемент механизма действия габапентина при НБ заключается в связывании $\alpha 2\delta$ -1 (Рис. 2). Это имеет важные последствия, определяющие анальгетическую активность габапентина. Во-первых, это препятствует формированию комплекса $\alpha 2\delta$ -1-NMDA-рецептор и позволяет остановить процесс активации NMDA-рецепторов, что важно для устранения НБ [25, 26, 30]. Во-вторых, приводит к модификации эффектов нейрехсина- α -1 в синапсах, что уменьшает быстровысвобождаемый пул пресинаптических везикул. В-третьих, связывание $\alpha 2\delta$ -1 габапентином способствует ингибированию тромбоспондинов астроцитов, что снижает число вновь образующихся возбуждающих синапсов и интенсивность их работы (процессов, инициируемых травмой / воспалением) [25, 27]. Нормализация процессов пресинаптической и постсинаптической активации NMDA-рецепторов нейронов задних рогов спинного мозга, сопровождающаяся уменьшением / устранением болевых ощущений, является центральным компонентом механизма действия габапентина.

Также у габапентина есть механизм (отсутствующий у его структурного родственника, прегабалина), независимый от $\alpha 2\delta$ -1, он связан с выраженным активирующим эффектом в отношении гетеромерных потенциалзависимых калиевых каналов (KCNQ2/3), отвечающих за М-токи [31]. Дополнительно известно, что габапентин увеличивает экспрессию подтипа рецепторов ГАМК-А, содержащих субъединицу δ (δ ГАМК-А), ответственных за тоническую тормозную проводимость преимущественно в мозжечке и гиппокампе [32]. На ранних стадиях возникновения НБ анальгетический эффект габапентина реализуется в области нейронов голубого пятна: он угнетает пресинаптическое высвобождение ГАМК и индуцирует высвобождение глутамата из астроцитов, что повышает активность нейронов данной локализации и приводит к усилению нисходящего норадренергического торможения [33].

Указанные фармакодинамические эффекты габапентина возможны при условии формирования

достаточного уровня концентраций в плазме крови и тканях ЦНС.

Фармакокинетика габапентина

Габапентин реализует свой механизм действия, проникая в ЦНС и мембраны нейронов. Он создавался в качестве липофильного аналога ГАМК, что обеспечивает его поступление в различные структуры ЦНС. Несмотря на липофильность, перенос габапентина через клеточные мембраны осуществляется преимущественно путем облегченного транспорта при помощи системы переносчиков L-аминокислот 1 типа (LAT-1) и лишь в незначительной степени благодаря пассивной диффузии; всасывание происходит в проксимальном отделе тонкого кишечника и является дозозависимым вследствие насыщенности системы переносчиков, профиль абсорбции описывается гиперболической функцией [34]. Биодоступность достигает 60% для дозы 900 мг/сут и снижается до 27% у пациентов, принимающих 4800 мг/сут¹. Таким образом, увеличение дозы приводит к некоторому снижению всасывания, что может ограничивать риск интоксикации при приеме сверхвысоких доз. Всасывание и биодоступность формы замедленного высвобождения, габапентина энакарбила, несколько отличаются: его перенос осуществляется транспортером монокарбоксилатов типа 1 и натрий-зависимыми транспортером поливитаминов (процесс ненасыщаемый и, соответственно, недозозависимый), после всасывания гидролиз под действием неспецифических карбоксилэстераз приводит к образованию активного габапентина. Диапазон величин биодоступности габапентина варьируется от 64,8 до 82,9% [35]. Прием пищи не оказывает влияния на биодоступность обычного габапентина, но способствует ее увеличению для габапентина энакарбила². Объем распределения габапентина – 0,8 л/кг, он практически не связывается с белками плазмы, транспорт через гематоэнцефалический барьер осуществляется при помощи LAT-1 [36]. Концентрация габапентина в спинномозговой жидкости составляет от 9 до 20% от таковой в плазме крови, концентрация в грудном молоке практически равна концентрации в плазме³. Габапентин не является субстратом для цитохромов P450 и сам не оказывает на них влияния, не метаболизируется и выводится с мочой в неизменном виде с участием процессов канальцевой секреции [37]. Клиренс габапентина варьируется от 6 до 9 л/ч. Функция почек – основной фактор,

¹ DrugBank Online: Gabapentin: Uses, Interactions, Mechanism of Action. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00996>

² Gabapentin | C9H17NO2 | CID 3446 – PubChem. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gabapentin#section=Absorption-Distribution-and-Excretion>

³ DrugBank Online: Gabapentin: Uses, Interactions, Mechanism of Action.

определяющий скорость выведения габапентина: в норме период полувыведения составляет от 5 до 7 ч, при снижении клиренса креатинина менее 30 мл/мин – повышается до 52 ч⁴.

Фармакокинетические параметры габапентина у пациентов пожилого и старческого возраста исследовалась в работе Ahmed G.F. и соавт. (2017), включавшей 75 пациентов с медианным возрастом 79 лет [38]. Отличием по сравнению с пациентами более молодого возраста было значимое снижение клиренса, до 2,93 л/час, связанное со снижением функции почек в данной популяции пациентов.

Влияние заболеваний на фармакокинетику габапентина было продемонстрировано в исследовании, включавшем пациентов с разным уровнем контроля СД. У пациентов с гипергликемией кажущийся объем распределения был увеличен на 68% по сравнению с лицами без диабета. Также у пациентов с высокими показателями гликемии наблюдалось снижение максимальной концентрации габапентина на 36% по сравнению с участниками исследования, не страдавшими диабетом (1,6 vs 2,5 мкг/мл). Тем не менее, достоверность полученных изменений установлена авторами не была, что предполагает несущественное влияние гипергликемии на фармакокинетические параметры габапентина [39].

Изменение концентрации габапентина в плазме крови является результатом нарушений на этапе экскреции препарата из организма; такие факторы, как печеночная недостаточность, нарушение содержания белков плазмы крови и лекарственные взаимодействия не продемонстрировали значимого влияния. Габапентин обладает широким терапевтическим индексом, его эффективные концентрации в плазме крови составляют от 2 до 20 мг/л [40]. При этом риск развития токсических эффектов на фоне высоких доз сравнительно низок, что связано с ограничением всасывания, особенно выраженном при использовании доз более 4800 мг/сут, что было отмечено у пациентов, получавших препарат для терапии эпилепсии [41]. Соответственно, применяемая в лечении НБ максимальная доза габапентина (3600 мг) не сопровождается столь значимым снижением всасывания.

Особенности фармакокинетики габапентина предполагают минимальный риск лекарственных взаимодействий. Возникновение некоторых двигательных нарушений при комбинации габапентина с лозартаном и этакриновой кислотой, снижение противосудорожной активности габапентина при его использовании вместе с кофеином были получены в лабораторных экспериментах с участием мышей, клиническая значимость у человека не подтверждена [42]. Синергизм в отношении анальгетического

эффекта был продемонстрирован у пациентов при приеме вместе с трамадолом, метамизолом [42], цецекоксибом. При взаимодействии с антацидами (оксид магния) наблюдалось снижение величины максимальной концентрации габапентина на 33%, на фоне ингибиторов протонного насоса (омепразола) – на 29%, при этом значимое снижение биодоступности было отмечено именно для комбинации с оксидом магния, но не с омепразолом [43]. Наиболее значимые с клинической точки зрения взаимодействия отмечаются при использовании габапентина совместно с опиоидами [44, 45]. Пациентам, вынужденным одновременно получать габапентин и опиоидные анальгетики, требуется тщательный врачебный мониторинг, направленный на своевременное выявление таких побочных эффектов, как сонливость, седация и угнетение дыхания. В комбинированной терапии доза как габапентина, так и опиоидных анальгетиков должна быть уменьшена.

Эффективность и безопасность габапентина в клинической практике

Габапентин имеет длительную историю применения: начав использоваться в 70-х годах XX века преимущественно как противосудорожный препарат, сейчас, согласно большинству действующих клинических рекомендаций, он является препаратом первой линии для ведения пациентов с НБ [17–19].

Эффективность габапентина при НБ являлась предметом изучения большого числа как собственно рандомизированных клинических исследований (РКИ), так и систематических обзоров и метаанализов РКИ. Начиная с 2000 года, Кохрановское сообщество публикует систематические обзоры, посвященные данной проблематике. Последний датирован 2017 годом (37 исследований, 59 143 пациента с НБ, получавших габапентин или габапентин знакарбил в дозе 1200 мг/сут и более). Основываясь на определениях, заложенных в Инициативе по методам, измерению и оценке боли в клинических исследованиях (IMMPACT), авторы определили, что число пациентов с постгерпетической НБ, которую необходимо лечить габапентином для получения умеренной пользы (снижение боли на $\geq 30\%$, NNT30), составило 5,7, для получения значимой пользы (снижение боли на $\geq 50\%$, NNT50) – 6,8. Аналогичные параметры для пациентов с диабетической полинейропатией составили 6,6 и 5,9, соответственно [46]. Авторы отметили, что габапентин был наиболее эффективен при постгерпетической НБ, диабетической полинейропатии и смешанной НБ. Доля пациентов, прекративших прием препарата по любой причине (анализ 22 исследований, $n=4617$), составила 20% для габапентина (доза 1200 мг или более) и 19% для плацебо, что свидетельствует об удовлетворительном профиле переносимости терапии.

⁴ Там же.

Габапентин и прегабалин продемонстрировали сравнимые показатели эффективности и безопасности у пациентов с НБ вследствие повреждения спинного мозга. По данным систематического обзора и метаанализа 8 исследований существенной разницы между двумя препаратами в снижении показателей боли выявлено не было (средняя разница, MD=-0,37; 95% ДИ: -1,67, 0,93; $p > 0,05$) [47]. Метаанализ, опубликованный годом позже (2021), свидетельствовал о большей эффективности прегабалина и габапентина в устранении НБ на фоне повреждения спинного мозга по сравнению с карбамазепином, amitриптилином и плацебо [48].

По данным метаанализа, выполненного Ко У.С. соавт. (2021), габапентин у пациентов с диабетической болевой нейропатией снижал боль (по данным визуальной аналоговой шкалы, ВАШ) равноэффективно в сравнении с дулоксетином (MD=-1,23; 95% ДИ: от -6,09 до 3,62; $p=0,62$), также было обнаружено, что его действие сопровождалось улучшением функционального статуса пациентов [49].

Обновленные данные об эффективности габапентина были получены в систематическом обзоре и метаанализе 50 РКИ, посвященных лечению НБ (2023 г.): авторы обнаружили, что NNT30 составило 7, NNT50 – 8. В этой же работе оценивались аналогичные параметры для прегабалина, они составили 8 и 10, соответственно, что указывает на несколько больший эффект габапентина [50]. Еще один метаанализ 2023 года оценивал эффективность габапентиноидов при постгерпетической НБ (14 РКИ, $n=3545$): стандартная MD показателей, полученных при помощи числовой рейтинговой шкалы боли (Numerical Pain Rating Scale, NRS), для габапентина составила -2,16 (95% ДИ: от -3,40 до -0,92; $p < 0,05$), для прегабалина -0,78 (95% ДИ: от -0,98 до -0,58; $p < 0,05$) [51]. В масштабном метаанализе 119 исследований, включавших пациентов с различными видами хронической боли, включая НБ, в 8 исследованиях оценивался габапентин, анализируя те из них, где проводилось сравнение с плацебо, авторы отметили значительное снижение боли, MD составила -1,49 (95% ДИ: от -2,76 до -0,23; $p < 0,05$) [52]. Интересны результаты метаанализа 30 сравнительных двойных слепых РКИ с параллельными группами или перекрестными исследованиями, в которых изучался анальгетический эффект как минимум двух препаратов первой, второй и третьей линии при НБ ($n=4087$), опубликованного в 2024 году [53]. В 10 РКИ ($n=920$) сравнивали эффект трициклических антидепрессантов (ТЦА) с прегабалином или габапентином; объединенный эффект различий в анальгетическом эффекте между ТЦА и прегабалином / габапентином не обнаружил (MD=0,10; 95% ДИ: от -0,13 до 0,32; $p=0,39$), также не было обнаружено значимых отличий в выраженности депрессии и переносимости препаратов. В 8 РКИ

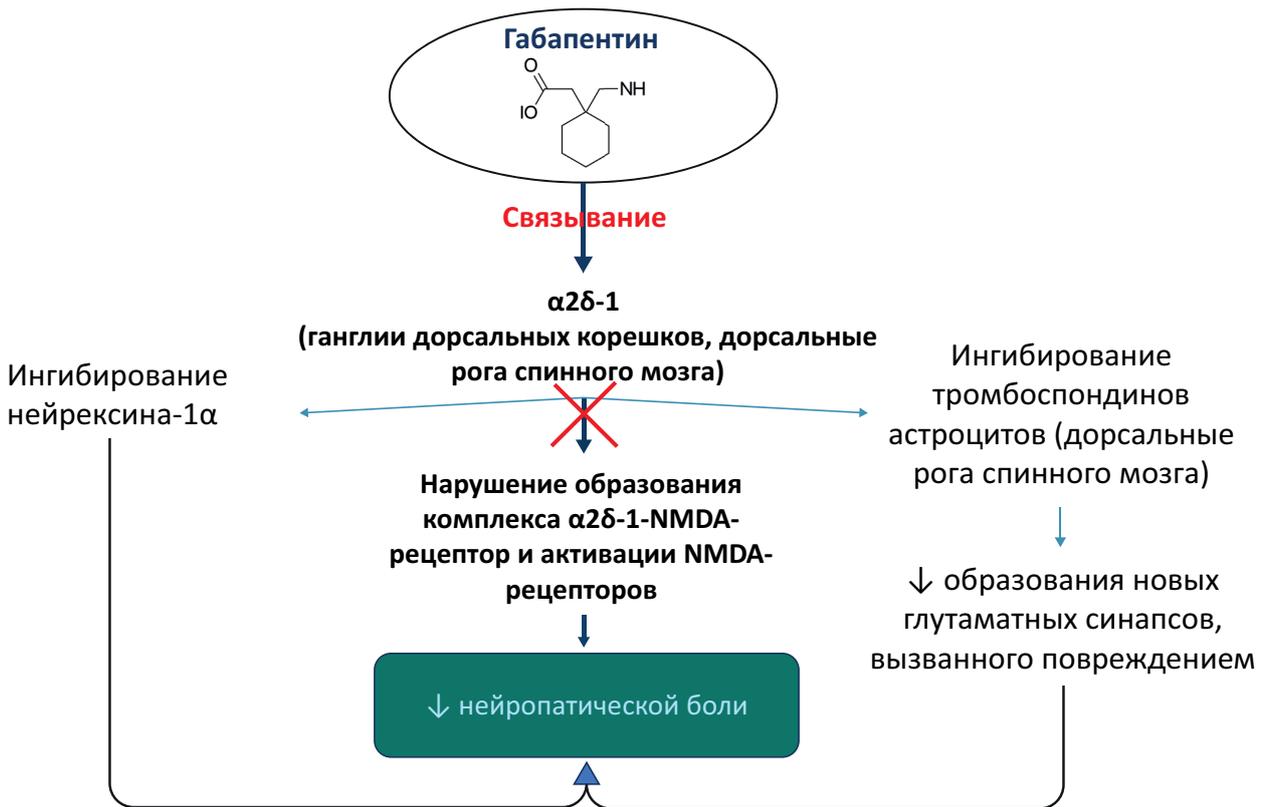
прегабалин / габапентин сравнивали с селективными ингибиторами обратного захвата норадреналина (СИОЗН), объединенный эффект показал больший эффект эффективность СИОЗН, но дальнейший групповой анализ отличий не выявил. Переносимость препаратов также была сопоставимой [53].

Начиная с 2000-х годов большинство исследователей определило, что эффективные дозы габапентина для терапии НБ составляют более 900 мг/сут. Один из первых масштабных обзоров РКИ, посвященных эффективности и безопасности габапентина у пациентов с НБ, указал на следующие принципы дозирования: старт, в среднем, должен осуществляться с дозы 900 мг/сут (300 мг/сут в первый день, 600 мг/сут – во второй, 900 мг/сут – на третий) с дальнейшим титрованием дозы до 1800 и до 3600 мг/сут у пациентов с выраженной НБ [54]. Опубликовано множество исследований, продемонстрировавших эффективность и благоприятный профиль переносимости габапентина в высоких дозах (до 3600 мг/сут) [46, 55, 56].

Анализ эффективности и безопасности различных доз габапентина энакарбила, осуществленный в рамках рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования, включавшего пациентов с постгерпетической НБ, обнаружил наиболее выраженное снижение среднесуточной боли (ССБ) по сравнению с плацебо при использовании дозы 3600 мг/сут (MD=-1,07; 95% ДИ: от -1,68 до -0,45; $p=0,002$). Значимое снижение боли было достигнуто у 76% пациентов, использовавших препарат в данной дозе, против 70% в группе 2400 мг/сут и 67% в группе 1200 мг/сут [55]. Интересны результаты сравнительной оценки эффективности и безопасности различных доз и форм габапентина, полученные в систематическом обзоре и метаанализе 7 РКИ, включавших 2014 пациентов в группе оценки эффективности и 2050 пациентов в группе оценки безопасности (авторы провели поиск всех публикаций соответствующей тематики с 1966 по 2017 гг.). Его результаты обнаружили наибольшее снижение ССБ при использовании габапентина (обычная форма) в дозе 3600 мг/сут, стандартная средняя разница значений ССБ составила -0,86 (95% ДИ: от -1,13 до -0,58; $p < 0,00001$), наименьшее снижение ССБ было продемонстрировано для форм замедленного высвобождения (табл. 1). Авторы также продемонстрировали, что габапентин в дозах от 1800 до 3600 мг/сут значительно улучшал качество сна и способствовал снижению интенсивности боли минимум на 50% у большей части принимавших его пациентов. Анализ безопасности высоких доз габапентина обнаружил такие побочные эффекты, как головокружение, сонливость и периферические отеки [57]. Снижение ССБ на фоне применения различных доз габапентина и габапентина энакарбила продемонстрирована в таблице 1.



Рисунок 1 – Разновидности НБ и их основные этиологические факторы



Эффект появляется только на начальных этапах нейропатической дисфункции

Рисунок 2 – Механизм действия и основные мишени габапентина, лежащие в основе устранения НБ

Таблица 1 – Показатели снижения ССБ в зависимости от дозы габапентина

Препарат	Доза	MD величины снижения ССБ
Обычная форма	3600 мг/сут	–1,07; 95% ДИ: от –1,68 до –0,45; $p=0,002$ [55] –0,86; 95% ДИ: от –1,13 до –0,58; $p < 0,00001$ [57]
Габапентин энакарбил	3600 мг/сут	–0,50; 95% ДИ: от –0,79 до –0,20; $p=0,0009$ [57]
Габапентин энакарбил	2400 мг/сут	–0,70; 95% ДИ: от –1,33 до –0,07; $p=0,029$ [55] –0,33; 95% ДИ: от –0,62 до –0,03; $p=0,03$ [57]
Габапентин энакарбил	1200 мг/сут	–0,81; 95% ДИ: от –1,40 до –0,23; $p=0,013$ [56] –0,43; 95% ДИ: от –0,66 до –0,20; $p=0,0002$ [57]
Габапентин ER	1800 мг один раз в день	–0,21; 95% ДИ: от –0,42 до –0,01; $p=0,04$ [57]
Габапентин ER	1800 мг два раза в день	–0,25; 95% ДИ: от –0,57 до 0,06; $p=0,12$ [57]

Примечание: MD – медианное отклонение; ДИ – доверительный интервал; ССБ – среднесуточная боль.

Массив опубликованных РКИ, систематических обзоров и метаанализов является базисом для разработки клинических рекомендаций по ведению пациентов. В работе Finneup N.B. и соавт. опубликованы результаты собственного метаанализа РКИ, посвященных лечению НБ (общее число 229), и одновременно представлены рекомендации специальной группы по нейропатической боли (Neuropathic Pain Special Interest Group, NeuPSIG), работающей в составе международной ассоциации по изучению боли (International Association for the Study of Pain, IASP) [58]. NNT50 для габапентина составило 6,3. Габапентин в дозе от 1200 до 3600 мг был указан авторами в качестве препарата первой линии для ведения пациентов с НБ с высоким уровнем доказательности, (включая обычную форму, форму замедленного высвобождения, габапентин энакарбил).

Экспертный консенсус Китайской ассоциации по изучению боли указывает на необходимость применения габапентина для эффективного контроля НБ в дозе 900–1800 мг/сут, но не ограничивает верхний предел суточной дозы [59]. В 2024 г в Китае вышел обновленный консенсус по применению препаратов, влияющих на ионные каналы, для терапии хронической боли. Согласно его положениям, габапентин рекомендован для терапии постгерпетической НБ, диабетической полинейропатии, и многих других видов НБ [60]. В качестве препарата выбора терапии НБ габапентин отмечен и в Китайских рекомендациях по лечению хронических болевых расстройств неопиоидными

анальгетиками [61]. Консенсус индийских экспертов по ведению пациентов с НБ приводит габапентин в качестве препаратов первого ряда и рекомендует титровать его до 1800 мг/сут [62].

Обновленные клинические рекомендации американской академии неврологии (American Academy of Neurology, AAN) 2022 г. по ведению пациентов с болевой диабетической полинейропатией предлагают использовать габапентин в дозе от 900 до 3600 мг/сут в течение 4–8 недель [63]. Аналогичный подход рекомендовала американская диабетическая ассоциация (American Diabetes Association, ADA) в 2017: стартовая доза должна составлять около 300 мг с последующим титрованием до эффективной дозы, составляющей 900–3600 мг/сут⁵. Обновленные рекомендации ADA 2022 года утверждают необходимость применения у большинства пациентов минимальной дозы, равной 1800 мг/сут, и ее повышения у пациентов с выраженной НБ до максимальной дозы 3600 мг/сут; более низкие дозы рекомендованы только пациентам со сниженной расчетной скоростью клубочковой фильтрации (pCKF) [64]. Разработанные в 2020 году во Франции клинические рекомендации по ведению пациентов с НБ также советуют использовать габапентин как препарат первой линии при различных типах НБ в дозах

⁵ Pop-Busui R., Ang L., Boulton A.J.M., Feldman E.L., Marcus R.L., Mizokami-Stout K., Singleton J.R., and Ziegler D. Diagnosis and Treatment of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy. Arlington (VA): American Diabetes Association; 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK580224/> DOI: 10.2337/db2022-01

1200–3600 мг/сут, при этом второй габапентиноид, прегабалин, отнесен к препаратам второй линии [65].

Российские рекомендации (Методические рекомендации по диагностике и лечению невропатической боли, Российская межрегиональная общественная организация по изучению боли, общество по изучению боли) указывают на то, что габапентин эффективен в дозах 1200–3600 мг/сут; его необходимо медленно титровать в индивидуальном режиме начиная с 300 мг/сут⁶. Согласно клиническим рекомендациям «Хроническая боль у пациентов пожилого и старческого возраста», разработанным общероссийской общественной организацией «Российская ассоциация геронтологов и гериатров», у пациентов пожилого и старческого возраста необходимо использовать более низкие дозы габапентина, начальная доза должна составлять 300 мг, титровать необходимо до развития обезболивающего эффекта⁷.

Консенсусные клинические рекомендации по диагностике и рациональной терапии пациентов с болевой формой диабетической полинейропатии, разработанные ведущими российскими профессиональными медицинскими сообществами (2019 г.), приводят следующий режим дозирования габапентина, как препарата первой линии: в первый день – 300 мг/сут, во второй – 600 мг/сут, на третий – 900 мг/сут, далее – титрование в течении 3–8 недель до достижения 1800–3600 мг/сут и прием не менее 2 недель в максимально переносимой дозе [66].

Многие международные клинические рекомендации указывают габапентин как препарат первой линии в ведении пациентов с НБ, но не приводят дозы: Великобритания, рекомендации NICE, 2020 г.⁸, Германия, 2020 г. [16] и 2021 г. [67], Канада, 2021 [68], Китай, 2023 г. [69] и 2024 г. [61]. Аналогично без указания дозы габапентин присутствует в практическом руководстве по ведению пациентов с невралгией тройничного нерва, опубликованном Lambri G. соавт. (2021), где он указан в ряду препаратов первой линии как при идиопатической форме, так и при классической и вторичной [60].

Использующие их врачи ориентируются на данные инструкции к препарату и ответ со стороны пациента на фоне постепенного повышения дозы (период титрования в большинстве случаев занимает 2 недели). В целом, практика свидетельствует

⁶ Методические рекомендации по диагностике и лечению невропатической боли / Под ред. акад. РАМН Н.Н. Яхно. – М.: Изд-во РАМН, 2008. – 32 с.

⁷ Клинические рекомендации «Хроническая боль у пациентов пожилого и старческого возраста», 2020. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://static-0.minzdrav.gov.ru/>

⁸ Neuropathic pain in adults: pharmacological management in non-specialist settings. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2020 Sep 22. (NICE Clinical Guidelines, No. 173.) – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK552848/>

о хорошей переносимости габапентина. Риски появляются, прежде всего, при их совместном использовании с опиоидами, о чем мы будем говорить ниже.

Безопасность габапентина

Безопасность габапентина хорошо иллюстрируют данные кохрановского обзора 2017 года, обнаружившие, возникновение нежелательных явлений (НЯ) у 11% пациентов, принимавших габапентин (1200 мг/сут или более) против 8,2% пациентов, принимавших плацебо, коэффициент риска составил 1,4 (от 1,1 до 1,7), число больных, которых необходимо лечить для возникновения НЯ – 30 (от 20 до 66) [46]. Наиболее актуальные данные о безопасности габапентиноидов (габапентина и прегабалина) приведены в систематическом обзоре и метаанализе 50 РКИ ($n=12398$), опубликованном в 2023 г. Среди побочных эффектов габапентина наиболее характерными были увеличение веса (относительный риск, ОР=5,61; 95% ДИ: от 1,04 до 30,22), головокружение (ОР=3,33; 95% ДИ: от 2,39 до 4,65), периферические отеки (ОР=3,06; 95% ДИ: от 1,25 до 7,48) и сонливость (ОР=2,91; 95% ДИ: от 2,10 до 4,03). Побочные эффекты прегабалина включали нарушение координации (ОР=7,21; 95% ДИ: от 1,36 до 38,25), нарушения походки (ОР=6,71; 95% ДИ: от 1,57 до 28,71), атаксию (ОР=6,02; 95% ДИ: от 2,31 до 31,15), эйфорию (ОР=6,01; 95% ДИ: от 3,02 до 11,97) и увеличение веса (ОР=4,97; 95% ДИ: от 3,08 до 8,00) [50].

По данным метаанализа 8 исследований безопасности различных препаратов у пациентов с НБ, по частоте прекращения приема габапентин имел показатели близкие с таковыми для плацебо [48].

Профиль безопасности габапентина достаточно благоприятный, стоит отметить, что побочные эффекты чаще проявляются у пациентов, использующих его совместно с опиоидами [70–72]. Монотерапия габапентином, как правило, не сопровождается развитием серьезных нежелательных лекарственных реакций, формирование зависимости также не является типичным [73].

Острое отравление, связанное с передозировкой габапентина, также не является рутинным явлением в клинической практике. Отчасти это может объясняться дозозависимым снижением абсорбции и, соответственно, биодоступности, на фоне приема высоких доз. Из опубликованных работ доступен клинический случай, описывающий острую передозировку габапентином (одномоментный прием 5200 мг) на фоне приема ряда других препаратов у мужчины 39 лет. Клиническая картина включала тяжелый рабдомиолиз и острый тубулярный некроз, потребовавший заместительной почечной терапии, через 3 месяца все параметры пришли в норму [74].

Метаанализ 11 РКИ (2376 пациентов с

постгерпетической НБ, из них группа габапентина (дозы 1200, 1800, 2400 и 3600 мг/сут) – 1424 человек, плацебо – 952) обнаружил, что отношение рисков развития нежелательных лекарственных реакций на фоне приема габапентина в сравнении с плацебо составило немногим более единицы: 1,29 (95% ДИ: от 1,06 до 1,57) [75]. Более ранний метаанализ, включавший 12 РКИ, оценивавших эффективность и безопасность габапентина, обнаружил, что относительный риск прекращения приема препарата вследствие развития нежелательных лекарственных реакций был ниже при использовании более высоких доз: для 1800 мг/сут он составил 1,8 (95% ДИ: от 0,82 до 3,8), для 2400 мг/сут – 1,4 (95% ДИ: от 0,91 до 2,0), для 3600 мг/сут – 1,4 (95% ДИ: от 0,85 до 2,4) [76].

В целом, опубликованные данные свидетельствуют о следующем спектре нежелательных явлений, связанных с габапентином: головокружения, спутанность сознания, общая слабость, нарушение координации движений, гастроинтестинальные симптомы, набор массы тела. Формирование зависимости не характерно для габапентина: по данным Meaadi J. соавт. (2023), среди 50 проанализированных исследований не было ни одного, в котором бы отмечалось возникновение эйфории – основного субстрата формирования зависимости [50].

Назначая габапентин для терапии НБ, необходимо учитывать его переносимость. При возникновении таких НЯ, как головокружение или сонливость, необходимо вернуться к предыдущей дозе, замедлив процесс титрования. Весь период подбора индивидуальной эффективной дозы пациент должен находиться под врачебным надзором, что необходимо для выбора адекватного режима дозирования, оптимальной длительности терапии и контроля возникновения побочных эффектов. Титрование дозы габапентина – один из принципиально важных факторов, определяющих величину анальгетического эффекта у пациентов с НБ. Цель титрования – подбор индивидуальной эффективной дозы в диапазоне, изученном в клинических исследованиях, что минимизирует риски возникновения и обеспечивает контроль над потенциальными НЯ. При ведении пациента с НБ необходимо осуществлять регулярный контроль интенсивности боли (один раз в 2–4 недели) с использованием доступных инструментов, чаще всего в этой роли используется ВАШ. Целью фармакотерапии является снижение интенсивности НБ на 30–50% от исходной величины [17–19].

Среди способов снижения риска развития НЯ габапентина можно отметить следующие. Основной способ – старт с низкой дозы (300 мг/сут) и дальнейшее медленное титрование до достижения нужного терапевтического эффекта. Важно использовать дозы и режимы дозирования, хорошо изученные в клинических

исследованиях и соответствующие приведенным в инструкции по медицинскому применению или общей характеристике лекарственного препарата. Снижению рисков нежелательных реакций способствует и строгий контроль числа лекарственных назначений, получаемых пациентом. Явление полипрагмазии весьма распространено среди пациентов, получающих препараты, влияющие на ЦНС, и вносит значимый вклад в риски развития фармакотерапии [77, 78]. Также значение имеет клинически необоснованное переключение с оригинального препарата на дженерики. Ряд работ продемонстрировал, что существуют субпопуляции пациентов, для которых снижена вероятность достижения сопоставимой с оригинатором биодоступности при переходе на дженерик. Отмечена повышенная вариабельность фармакокинетических параметров габапентина у пациентов с нарушением всасывания и сниженной функцией почек, соответственно, высока вероятность того, что прием дженериков в данном случае не позволит достичь необходимых величин концентрации препарата в плазме крови [79]. Оригинальный препарат габапентина, доступный на российском фармацевтическом рынке, – Нейронтин®. Применение оригинального препарата характеризуется большей эффективностью и безопасностью в сравнении с дженериками, что следует из результатов фармакокинетических исследований [79].

Достижение терапевтической эффективности препарата невозможно без адекватного уровня приверженности пациента фармакотерапии. Принимая во внимание необходимость титрования дозы габапентина от меньшей к большей, стоит отметить важность такого фактора, как доступность препарата в различных дозировках, что позволяет пациенту принимать препарат с большим комфортом. Оригинальный препарат габапентина представлен в форме капсул (300 мг) и таблетках, покрытых пленочной оболочкой (600 мг). Последние удобно применять у пациентов, требующих назначения высоких доз габапентина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Габапентин является препаратом выбора при ведении пациентов с НБ различной этиологии и интенсивности согласно действующим российским и международным клиническим рекомендациям. Удовлетворительный профиль безопасности и продемонстрированные в клинических исследованиях фармакодинамические эффекты позволяют габапентину, несмотря на длительную историю его использования, оставаться актуальным препаратом, применяемым врачами широкого круга специальностей для фармакотерапии пациентов с НБ. Накопленный в РКИ массив данных получен, прежде всего, для оригинального габапентина, различные

лекарственные формы которого могут обеспечить комфортный для пациента процесс титрования дозы и достижения эффективного контроля боли. В большинстве исследований с участием пациентов с НБ и нормальной функцией почек целевая терапевтическая доза габапентина, способствующая

максимальному анальгетическому эффекту на фоне удовлетворительного профиля безопасности, составляла 1800–3600 мг/сут (разделенных на три приема), что позволяет рекомендовать данную дозу как оптимальную для основной популяции пациентов с НБ.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Обзорная работа выполнена при поддержке компании Виатрис. Спонсор не оказывал влияния на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). О.И. Бутранова – разработка концепции и дизайна работы, поиск и анализ источников, интерпретация полученных данных, написание макета статьи, написание финального варианта статьи; С.К. Зырянов – поиск и анализ источников, интерпретация полученных данных, критическая оценка работы на предмет значимого интеллектуального содержания, написание финального варианта статьи, окончательное утверждение версии для публикации.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Scholz J., Finnerup N.B., Attal N., Aziz Q., Baron R., Bennett M.I., Benoliel R., Cohen M., Cruccu G., Davis K.D., Evers S., First M., Giamberardino M.A., Hansson P., Kaasa S., Korwisi B., Kosek E., Lavand'homme P., Nicholas M., Nurmikko T., Perrot S., Raja S.N., Rice A.S.C., Rowbotham M.C., Schug S., Simpson D.M., Smith B.H., Svensson P., Vlaeyen J.W.S., Wang S.J., Barke A., Rief W., Treede R.D.; Classification Committee of the Neuropathic Pain Special Interest Group (NeuPSIG). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain // *Pain*. – 2019. – Vol. 160, No. 1. – P. 53–59. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001365
- Cavalli E., Mammanna S., Nicoletti F., Bramanti P., Mazon E. The neuropathic pain: An overview of the current treatment and future therapeutic approaches // *Int J Immunopathol Pharmacol*. – 2019. – Vol. 33. – Art. ID: 2058738419838383. DOI: 10.1177/2058738419838383
- van Velzen M, Dahan A, Niesters M. Neuropathic Pain: Challenges and Opportunities // *Front Pain Res (Lausanne)*. – 2020. – Vol. 1. – Art. ID: 1. DOI: 10.3389/fpain.2020.00001
- Baskozos G., Hébert H.L., Pascal M.M., Themistocleous A.C., Macfarlane G.J., Wynick D., Bennett D.L., Smith B.H. Epidemiology of neuropathic pain: an analysis of prevalence and associated factors in UK Biobank // *Pain Rep*. – 2023. – Vol. 8, No. 2. – P. e1066. DOI: 10.1097/PR9.0000000000001066
- Медведева Л.А., Загорюлько О.И. Результаты анализа обращений пациентов и их финансирования в Клинике изучения и лечения боли за последнее десятилетие // *Российский журнал боли*. – 2022. – Т. 20, № 4. – С. 45–50. DOI: 10.17116/pain20222004145
- Воробьева Н.М., Маневич Т.М., Ткачёва О.Н., Котовская Ю.В., Селезнёва Е.В., Овчарова Л.Н. Распространённость и особенности хронического болевого синдрома у лиц старше 65 лет: данные российского эпидемиологического исследования ЭВКАЛИПТ // *Российский журнал гериатрической медицины*. – 2021. – № 4. – С. 425–434. DOI: 10.37586/2686-8636-4-2021-425-434
- Cherif F., Zouari H.G., Cherif W., Hadded M., Cheour M., Damak R. Depression prevalence in neuropathic pain and its impact on the quality of life // *Pain Res Manag*. – 2020. – Vol. 2020. – Art. ID: 7408508. DOI: 10.1155/2020/7408508
- Li K.L., Chen Y.M., Wang X.Q., Hu H.Y. Bibliometric analysis of studies on neuropathic pain associated with depression or anxiety published from 2000 to 2020 // *Front Hum Neurosci*. – 2021. – Vol. 15. – Art. ID: 729587. DOI: 10.3389/fnhum.2021.729587
- Guntel M., Huzmeli E.D., Melek I. Patients with neuropathic pain have poor sleep quality // *J Nerv Ment Dis*. – 2021. – Vol. 209, No. 7. – P. 505–509. DOI: 10.1097/NMD.0000000000001325
- Bekircan-Kurt C.E., Inan B., Bulut O., Şengün İ., Karli N., Güneş N., Çokal B.G., Güler S.K., Yoldaş T.K., Özcanlı D.G., Koç F., Ünlütürk Z., Erdoğan Ç., Uludağ B., Boz C., Tütüncü M., Akalin M.A., Kanişli Ö., Özcan A., Koçak P.K., Uluç K., Erdem-Özdamar S., Tan E. Neuropathic pain frequency in neurology outpatients: A multicenter study // *Noro Psikiyatrisi Ars*. – 2021. – Vol. 58, No. 4. – P. 257–260. DOI: 10.29399/npa.27549
- DiBonaventura M.D., Sadosky A., Concialdi K., Hopps M., Kudel I., Parsons B., Cappelleri J.C., Hlavacek P., Alexander A.H., Stacey B.R., Markman J.D., Farrar J.T. The prevalence of probable neuropathic pain in the US: results from a multimodal general-population health survey // *J Pain Res*. – 2017. – Vol. 10. – P. 2525–2538. DOI: 10.2147/JPR.S127014
- Cragg J.J., Noonan V.K., Noreau L., Borisoff J.F., Kramer J.K. Neuropathic pain, depression, and cardiovascular disease: a national multicenter study // *Neuroepidemiology*. – 2015. – Vol. 44, No. 3. – P. 130–137. DOI: 10.1159/000377726
- Liedgens H., Obradovic M., De Courcy J., Holbrook T., Jakubanis R. A burden of illness study for neuropathic pain in Europe // *Clinicoecon Outcomes Res*. – 2016. – Vol. 8. – P. 113–126. DOI: 10.2147/CEOR.S81396
- Соловьёва Э.Ю., Амелина И.П., Плиева Э.К. Индивидуальный подход медикаментозной коррекции пациентов с нейропатической болью //

- Лечащий Врач. 2022. – № 12. – С. 86–94. DOI: 10.51793/OS.2022.25.12.014
15. Бородулина И.В., Рачин А.П. Патогенетические подходы к терапии обострения хронической боли в спине: описание клинического случая // Медицинский совет. – 2019. – № 12. – С. 42–47. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-12-42-47
 16. Schlereth T. Guideline “diagnosis and non interventional therapy of neuropathic pain” of the German Society of Neurology (deutsche Gesellschaft für Neurologie) // *Neurol Res Pract.* – 2020. – Vol. 2. – Art. ID: 16. DOI: 10.1186/s42466-020-00063-3
 17. Давыдов О.С., Яхно Н.Н., Кукушкин М.Л., Чурюканов М.В., Абузарова Г.Р., Амелин А.В., Балязин В.А., Баранцевич Е.Р., Баринов А.Н., Барулин А.Е., Бельская Г.Н., Быков Ю.Н., Данилов А.Б., Доронина О.Б., Древаль О.Н., Евсеев М.А., Загорулько О.И., Исагулян Э.Д., Калинин П.П., Каракулова Ю.В., Каратеев А.Е., Копенкин С.С., Курушина О.В., Медведева Л.А., Парфенов В.А., Сергиенко Д.А., Строков И.А., Хабиров Ф.А., Широков В.А. Невропатическая боль. – Art. ID: клинические рекомендации по диагностике и лечению Российского общества по изучению боли // *Российский журнал боли.* – 2018. – Т. 4, № 58. – С. 5–41. DOI: 10.25731/RASP.2018.04.025
 18. Сорокина Н.Д., Перцов С.С., Селицкий Г.В., Жердева А.С. Противозипелитические препараты в лечении мигрени и невропатической боли // *Российский журнал боли.* – 2021. – Т. 19, № 3. – С. 45–52. DOI: 10.17116/pain20211903145
 19. Bates D., Schultheis B.C., Hanes M.C., Jolly S.M., Chakravarthy K.V., Deer T.R., Levy R.M., Hunter C.W. A Comprehensive algorithm for management of neuropathic pain // *Pain Med.* – 2019. – Vol. 20, Suppl 1. – P. S2–S12. DOI: 10.1093/pm/pnz075. Erratum in: // *Pain Med.* – 2023. – Vol. 24, No. 2. – Art. ID: 219.
 20. Cui C.X., Liu H.Y., Yue N., Du Y.R., Che L.M., Yu J.S. Research progress on the mechanism of chronic neuropathic pain // *IBRO Neurosci Rep.* – 2022. – Vol. 14. – P. 80–85. DOI: 10.1016/j.ibneur.2022.12.007
 21. Hamdan A., Galvez R., Katati M. Shedding light on neuropathic pain: Current and emerging tools for diagnosis, screening, and quantification // *SAGE Open Med.* – 2024. – Vol. 12. – Art. ID: 20503121231218985. DOI: 10.1177/20503121231218985
 22. Deng M., Chen S.R., Pan H.L. Presynaptic NMDA receptors control nociceptive transmission at the spinal cord level in neuropathic pain // *Cell Mol Life Sci.* – 2019. – Vol. 76, No. 10. – P. 1889–1899. DOI: 10.1007/s00018-019-03047-y
 23. Huang Y., Chen H., Jin D., Chen S.R., Pan H.L. NMDA receptors at primary afferent-excitatory neuron synapses differentially sustain chemotherapy- and nerve trauma-induced chronic pain // *J Neurosci.* – 2023. – Vol. 43, No. 21. – P. 3933–3948. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0183-23.2023
 24. Wang L., Chen S.R., Ma H., Chen H., Hittelman W.N., Pan H.L. Regulating nociceptive transmission by VGluT2-expressing spinal dorsal horn neurons // *J Neurochem.* – 2018. – Vol. 147, No. 4. – P. 526–540. DOI: 10.1111/jnc.14588
 25. Taylor C.P., Harris E.W. Analgesia with gabapentin and pregabalin may involve n-methyl-d-aspartate receptors, neurexins, and thrombospondins // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2020. – Vol. 374, No. 1. – P. 161–174. DOI: 10.1124/jpet.120.266056
 26. Varadi G. Mechanism of analgesia by gabapentinoid drugs: Involvement of modulation of synaptogenesis and trafficking of glutamate-gated ion channels // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2024. – Vol. 388, No. 1. – P. 121–133. DOI: 10.1124/jpet.123.001669
 27. Russo M., Graham B., Santarelli D.M. Gabapentin-Friend or foe? // *Pain Pract.* – 2023. – Vol. 23, No. 1. – P. 63–69. DOI: 10.1111/papr.13165
 28. Wu T., Chen S.R., Pan H.L., Luo Y. The $\alpha 2\delta$ -1-NMDA receptor complex and its potential as a therapeutic target for ischemic stroke // *Front Neurol.* – 2023. – Vol. 14. – Art. ID: 1148697. DOI: 10.3389/fneur.2023.1148697
 29. Papassidero P., Wichert-Ana L., Lia E.N., Alexandre-Santos L., Trevisan A.C., Coelho E.B., Della Pasqua O., Lanchote V.L., Dach F. Pharmacodynamic effect of gabapentin on central nervous system in patients with chronic low back pain: a [99mTc]Tc-ECD SPECT study // *Reg Anesth Pain Med.* – 2023. – Vol. 48, No. 8. – P. 408–413. DOI: 10.1136/rapm-2022-104047
 30. Fuller-Bicer G.A., Varadi G., Koch S.E., Ishii M., Bodi I., Kadeer N., Muth J.N., Mikala G., Petrashevskaya N.N., Jordan M.A., Zhang S.P., Qin N., Flores C.M., Isaacsohn I., Varadi M., Mori Y., Jones W.K., Schwartz A. Targeted disruption of the voltage-dependent calcium channel α 2/delta-1-subunit // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2009. – Vol. 297, No. 1. – P. 117–124. DOI: 10.1152/ajpheart.00122.2009
 31. Manville R.W., Abbott G.W. Gabapentin Is a Potent Activator of KCNQ3 and KCNQ5 Potassium Channels // *Mol Pharmacol.* – 2018. – Vol. 94, No. 4. – P. 1155–1163. DOI: 10.1124/mol.118.112953
 32. Yu J., Wang D.S., Bonin R.P., Penna A., Alavian-Ghavanini A., Zurek A.A., Rauw G., Baker G.B., Orser B.A. Gabapentin increases expression of δ subunit-containing GABAA receptors // *EBioMedicine.* – 2019. – Vol. 42. P. 203–213. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.03.008
 33. Hayashida K.I., Obata H. Strategies to Treat Chronic Pain and Strengthen Impaired Descending Noradrenergic Inhibitory System // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, No. 4. – P. 822. DOI: 10.3390/ijms20040822
 34. Chincholkar M. Gabapentinoids: pharmacokinetics, pharmacodynamics and considerations for clinical practice // *Br J Pain.* – 2020. – Vol. 14, No. 2. – P. 104–114. DOI: 10.1177/2049463720912496
 35. Lal R., Ellenbogen A., Gidal B. Interindividual variability in the bioavailability of gabapentin enacarbil extended release in healthy adults: An analysis of data from 6 phase I studies // *Ther Drug Monit.* – 2022. – Vol. 44, No. 3. – P. 448–454. DOI: 10.1097/FTD.0000000000000935
 36. Dickens D., Webb S.D., Antonyuk S., Giannoudis A., Owen A., Rädisch S., Hasnain S.S., Pirmohamed M. Transport of gabapentin by LAT1 (SLC7A5) // *Biochem Pharmacol.* – 2013. – Vol. 85, No. 11. – P. 1672–1683. DOI: 10.1016/j.bcp.2013.03.022
 37. Bockbrader H.N., Wesche D., Miller R., Chapel S., Janiczek N., Burger P. A comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of pregabalin and gabapentin // *Clin Pharmacokinet.* – 2010. – Vol. 49, No. 10. – P. 661–669. DOI: 10.2165/11536200-000000000-00000
 38. Ahmed G.F., Bathena S.P., Brundage R.C., Leppik I.E., Conway J.M., Schwartz J.B., Birnbaum A.K. Pharmacokinetics and saturable absorption of gabapentin in nursing home elderly patients // *AAPS J.* – 2017. – Vol. 19, No. 2. – P. 551–556. DOI: 10.1208/s12248-016-0022-z
 39. Costa A.C.C., de Lima Benzi J.R., Yamamoto P.A., de Freitas M.C.F., de Paula F.J.A., Zanelli C.F., Lauretti G.R., de Moraes N.V. Population pharmacokinetics of gabapentin in patients with neuropathic pain: Lack of effect of diabetes or glycaemic control // *Br J Clin*

- Pharmacol. – 2021. – Vol. 87, No. 4. – P. 1981–1989. DOI: 10.1111/bcp.14594
40. Lindberger M., Luhr O., Johannessen S.I., Larsson S., Tomson T. Serum concentrations and effects of gabapentin and vigabatrin: observations from a dose titration study // *Ther Drug Monit.* – 2003. – Vol. 25, No. 4. – P. 457–462. DOI: 10.1097/00007691-200308000-00007
 41. Gidal B.E., DeCerce J., Bockbrader H.N., Gonzalez J., Kruger S., Pitterle M.E., Rutecki P., Ramsay R.E. Gabapentin bioavailability: effect of dose and frequency of administration in adult patients with epilepsy // *Epilepsy Res.* – 1998. – Vol. 31, No. 2. – P. 91–99. DOI: 10.1016/s0920-1211(98)00020-5
 42. Quintero G.C. Review about gabapentin misuse, interactions, contraindications and side effects // *J Exp Pharmacol.* – 2017. – Vol. 9. – P. 13–21. DOI: 10.2147/JEP.S124391
 43. Yagi T., Naito T., Mino Y., Umemura K., Kawakami J. Impact of concomitant antacid administration on gabapentin plasma exposure and oral bioavailability in healthy adult subjects // *Drug Metab Pharmacokinet.* – 2012. – Vol. 27, No. 2. – P. 248–254. DOI: 10.2133/dmpk.dmpk-11-rg-108
 44. Gomes T., Juurlink D.N., Antoniou T., Mamdani M.M., Paterson J.M., van den Brink W. Gabapentin, opioids, and the risk of opioid-related death: A population-based nested case-control study // *PLoS Med.* – 2017. – Vol. 14, No. 10. – P. e1002396. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002396
 45. Singh H., Handa R., Kak V., Wasilewski A. Complex encephalopathy arising from the combination of opioids and gabapentin // *BMJ Case Rep.* – 2019. – Vol. 12, No. 4. – P. e228354. DOI: 10.1136/bcr-2018-228354
 46. Wiffen P.J., Derry S., Bell R.F., Rice A.S., Tölle T.R., Phillips T., Moore R.A. Gabapentin for chronic neuropathic pain in adults // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2017. – Vol. 6, No. 6. – P. CD007938. DOI: 10.1002/14651858.CD007938.pub4
 47. Davari M., Amani B., Amani B., Khanijahani A., Akbarzadeh A., Shabestan R. Pregabalin and gabapentin in neuropathic pain management after spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis // *Korean J Pain.* – 2020. – Vol. 33, No. 1. – P. 3–12. DOI: 10.3344/kjp.2020.33.1.3
 48. Tong C., Zhengyao Z., Mei L., Dongpo S., Qian H., Fengqun M. Pregabalin and gabapentin in patients with spinal cord injury-related neuropathic pain: A network meta-analysis // *Pain Ther.* – 2021. – Vol. 10, No. 2. – P. 1497–1509. DOI: 10.1007/s40122-021-00302-8
 49. Ko Y.C., Lee C.H., Wu C.S., Huang Y.J. Comparison of efficacy and safety of gabapentin and duloxetine in painful diabetic peripheral neuropathy: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials // *Int J Clin Pract.* – 2021. – Vol. 75. – P. e14576. DOI: 10.1111/ijcp.14576
 50. Meaadi J., Obara I., Eldabe S., Nazar H. The safety and efficacy of gabapentinoids in the management of neuropathic pain: a systematic review with meta-analysis of randomised controlled trials // *Int J Clin Pharm.* – 2023. – Vol. 45, No. 3. – P. 556–565. DOI: 10.1007/s11096-022-01528-y
 51. Cao X., Shen Z., Wang X., Zhao J., Liu W., Jiang G. A meta-analysis of randomized controlled trials comparing the efficacy and safety of pregabalin and gabapentin in the treatment of postherpetic neuralgia // *Pain Ther.* – 2023. – Vol. 12, No. 1. – P. 1–18. DOI: 10.1007/s40122-022-00451-4
 52. Shetty A., Delanerolle G., Cavalini H., Deng C., Yang X., Boyd A., Fernandez T., Phiri P., Bhaskar A., Shi J.Q. A systematic review and network meta-analysis of pharmaceutical interventions used to manage chronic pain // *Sci Rep.* – 2024. – Vol. 14, No. 1. – P. 1621. DOI: 10.1038/s41598-023-49761-3
 53. Sadegh A.A., Gehr N.L., Finnerup N.B. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled head-to-head trials of recommended drugs for neuropathic pain // *PAIN Reports.* – 2024. – Vol. 9, No. 2. – P. e1138. DOI: 10.1097/PR9.0000000000001138
 54. Backonja M., Glanzman R.L. Gabapentin dosing for neuropathic pain: evidence from randomized, placebo-controlled clinical trials // *Clin Ther.* – 2003. – Vol. 25, No. 1. – P. 81–104. DOI: 10.1016/s0149-2918, No. 03)90011-7
 55. Zhang L., Rainka M., Freeman R., Harden R.N., Bell C.F., Chen C., Graff O., Harding K., Hunter S., Kavanagh S., Laurijssens B., Schwartzbach C., Warren S., McClung C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial to assess the efficacy and safety of gabapentin enacarbil in subjects with neuropathic pain associated with postherpetic neuralgia (PXM110748) // *J Pain.* – 2013. – Vol. 14, No. 6. – P. 590–603. DOI: 10.1016/j.jpain.2013.01.768
 56. Cowles V.E., Gordi T., Hou S.Y. Steady-state pharmacokinetics of gabapentin after administration of a novel gastroretentive extended-release formulation in postmenopausal women with vasomotor symptoms // *Clin Drug Investig.* – 2012. – Vol. 32, No. 9. – P. 593–601. DOI: 10.1007/BF0326191
 57. Wang J., Zhu Y. Different doses of gabapentin formulations for postherpetic neuralgia: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials // *J Dermatolog Treat.* – 2017. – Vol. 28, No. 1. – P. 65–77. DOI: 10.3109/09546634.2016.1163315
 58. Finnerup N.B., Attal N., Haroutounian S., McNicol E., Baron R., Dworkin R.H., Gilron I., Haanpää M., Hansson P., Jensen T.S., Kamerman P.R., Lund K., Moore A., Raja S.N., Rice A.S., Rowbotham M., Sena E., Siddall P., Smith B.H., Wallace M. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis // *Lancet Neurol.* – 2015. – Vol. 14, No. 2. – P. 162–173. DOI: 10.1016/S1474-4422, No. 14)70251-0
 59. Xiao H., Ma K., Huang D., Liu X.G., Liu T.H., Liu Q., Liu G.Z., Song T., Tao W., Wu D.S., Wang Y.X., Yang X.Q., Zhang X.M., Liu H., Liu Y.Q. Expert consensus of the Chinese Association for the Study of Pain on ion channel drugs for neuropathic pain // *World J Clin Cases.* – 2021. – Vol. 9, No. 9. – P. 2100–2109. DOI: 10.12998/wjcc.v9.i9.2100
 60. Ma K., Cheng Z., Jiang H., Lin Z., Liu C., Liu X., Lu L., Lu Y., Tao W., Wang S., Yang X., Yi Q., Zhang X., Zhang Y., Liu Y. Expert consensus on ion channel drugs for chronic pain treatment in China // *J Pain Res.* 2024 Mar 8. – Vol. 17. – P. 953–963. DOI: 10.2147/JPR.S445171
 61. Expert Group on Pain Disease Diagnosis and Treatment Special Ability Training Project of National Health Commission Capacity Building and Continuing Education Center. [Chinese guidelines for the treatment of chronic pain disorders with non-opioid analgesics] // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* – 2023. – Vol. 103, No. 39. – P. 3088–3102. Chinese. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20230529-00876
 62. Saxena A.K., Jain P., Dureja G.P., Venkitachalam A., Goswami S., Usmani H., Kothari S., Sahu D., Singh B., Trivedi V., Sharma G., Kamble S., Qamra A., Motlekar S., Jain R. Pharmacological management of neuropathic pain in India: A consensus statement from Indian experts // *Indian Journal of Pain.* – 2018. – Vol. 32, No. 3. – P. 132–144. DOI: 10.4103/ijpn.ijpn_47_18
 63. Price R., Smith D., Franklin G., Gronseth G., Pignone M., David W.S., Armon C., Perkins B.A., Brill V., Rae-Grant A.,

- Halperin J., Licking N., O'Brien M.D., Wessels S.R., MacGregor L.C., Fink K., Harkless L.B., Colbert L., Callaghan B.C. Oral and topical treatment of painful diabetic polyneuropathy: Practice Guideline Update Summary: Report of the AAN Guideline Subcommittee // *Neurology*. – 2022. – Vol. 98, No. 1. – P. 31–43. DOI: 10.1212/WNL.0000000000013038
64. Pop-Busui R., Boulton A.J., Feldman E.L., Bril V., Freeman R., Malik R.A., Sosenko J.M., Ziegler D. Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association // *Diabetes Care*. – 2017. – Vol. 40, No. 1. – P. 136–154. DOI: 10.2337/dc16-2042
65. Moisset X., Bouhassira D., Avez Couturier J., Alchaar H., Conradi S., Delmotte M.H., Lanteri-Minet M., Lefaucheur J.P., Mick G., Piano V., Pickering G., Piquet E., Regis C., Salvat E., Attal N. Pharmacological and non-pharmacological treatments for neuropathic pain: Systematic review and French recommendations // *Rev Neurol (Paris)*. – 2020. – Vol. 176, No. 5. – P. 325–352. DOI: 10.1016/j.neurol.2020.01.361
66. Галстян Г.Р., Старостина Е.Г., Яхно Н.Н., Гурьева И.В., Чурюканов М.В., Строков И.А., Токмакова А.Ю., Кукушкин М.Л., Мартынов А.И., Шестакова М.В. Диагностика и рациональная терапия болевой формы диабетической периферической нейропатии: междисциплинарный консенсус экспертов // *Сахарный диабет*. – 2019. – Т. 22, № 4. – С. 305–327. DOI: 10.14341/DM9625
67. Ziegler D., Keller J., Maier C., Pannek J. Diabetic Neuropathy // *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. – 2021. – Vol. 129, No. S 01. – P. S70–S81. DOI: 10.1055/a-1284-6245
68. Loh E., Mirkowski M., Agudelo A.R., Allison D.J., Benton B., Bryce T.N., Guilcher S., Jeji T., Kras-Dupuis A., Kreutzwiser D., Lanizi O., Lee-Tai-Fuy G., Middleton J.W., Moulin D.E., O'Connell C., Orenczuk S., Potter P., Short C., Teasell R., Townson A., Widerström-Noga E., Wolfe D.L., Xia N., Mehta S. The CanPain SCI clinical practice guidelines for rehabilitation management of neuropathic pain after spinal cord injury: 2021 update // *Spinal Cord*. – 2022. – Vol. 60, No. 6. – P. 548–566. DOI: 10.1038/s41393-021-00744-z
69. Lambrou G., Zakrzewska J., Matharu M. Trigeminal neuralgia: a practical guide // *Pract Neurol*. – 2021. – Vol. 21, No. 5. – P. 392–402. DOI: 10.1136/practneurol-2020-002782
70. Lennox R., Mangin D. Gabapentin misuse // *CMAJ*. – 2019. – Vol. 191, No. 2. – P. E47. DOI: 10.1503/cmaj.180599
71. Mattson C.L., Chowdhury F., Gilson T.P. Notes from the field: trends in gabapentin detection and involvement in drug overdose deaths – 23 States and the District of Columbia, 2019–2020 // *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. – 2022. – Vol. 71, No. 19. – P. 664–666. DOI: 10.15585/mmwr.mm7119a3
72. Finlayson G., Chavarria M., Chang S., Gardner T., Grande A., MacCallum C., deJong J.L., Quesnelle K. Gabapentin in mixed drug fatalities: Does this frequent analyte deserve more attention? // *Acad Forensic Pathol*. – 2017. – Vol. 7, No. 1. – P. 99–111. DOI: 10.23907/2017.012
73. Smith R.V., Havens J.R., Walsh S.L. Gabapentin misuse, abuse and diversion: a systematic review // *Addiction*. – 2016. – Vol. 111, No. 7. – P. 1160–1174. DOI: 10.1111/add.13324
74. Qiu X., Tackett E., Khitan Z. A case of gabapentin overdose induced rhabdomyolysis requiring renal replacement therapy // *Clin Case Rep*. – 2019. – Vol. 7, No. 8. – P. 1596–1599. DOI: 10.1002/ccr3.2302
75. Zhang M., Gao C.X., Ma K.T., Li L., Dai Z.G., Wang S., Si J.Q. A meta-analysis of therapeutic efficacy and safety of gabapentin in the treatment of postherpetic neuralgia from randomized controlled trials // *Biomed Res Int*. – 2018. – Vol. 2018. P. 7474207. DOI: 10.1155/2018/7474207
76. Straube S., Derry S., McQuay H.J., Moore R.A. Enriched enrollment: definition and effects of enrichment and dose in trials of pregabalin and gabapentin in neuropathic pain. A systematic review // *Br J Clin Pharmacol*. – 2008. – Vol. 66, No. 2. – P. 266–275. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2008.03200.x
77. Wei Y.J., Shrestha N., Chiang C., DeKosky S.T. Prevalence and trend of central nervous system-active medication polypharmacy among US commercially insured adults with vs without early-onset dementia: a multi-year cross-sectional study // *Alzheimers Res Ther*. – 2024. – Vol. 16, No. 1. – P. 30. DOI: 10.1186/s13195-024-01405-y
78. Сычев Д.А., Отделёнов В.А., Краснова Н.М., Ильина Е.С. Полипрагмазия: взгляд клинического фармаколога // *Терапевтический архив*. – 2016. – Т. 88, № 12. – С. 94–102. DOI: 10.17116/terarkh2016881294-102
79. Glerum P.J., Yamada W.M., Neely M.N., Burger D.M., Maliepaard M., Neef C. Interchangeability of generic drugs for subpopulations: Bioequivalence simulation from a nonparametric PK model of gabapentin generic drugs // *Br J Clin Pharmacol*. – 2022. DOI: 10.1111/bcp.15629.

АВТОРЫ

Бутранова Ольга Игоревна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры общей и клинической фармакологии Медицинского института ФГАОУ «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы». ORCID ID: 0000-0001-7729-2169. E-mail: butranova-oi@rudn.ru

Зырянов Сергей Кенсаринович – доктор

медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической фармакологии ФГАОУ «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»; заместитель главного врача ГБУЗ «Городская клиническая больница № 24 Департамента здравоохранения города Москвы». ORCID ID: 0000-0002-6348-6867. E-mail: zyryanov_sk@rudn.university



Присоединяйтесь к порталу

VIATRIS CONNECT

Компания VIATRIS приглашает Вас присоединиться к **VIATRISCONNECT** – универсальному portalу для медицинских специалистов.



Зарегистрируйтесь прямо сейчас!

1. Перейдите по ссылке: <https://www.viatrixconnect-ru.com> или отсканируйте QR-код
2. Нажмите на кнопку «Зарегистрироваться»

НА ПОРТАЛЕ ДЛЯ ВАС БУДУТ ДОСТУПНЫ:



Информация
по препаратам
Viatrix



Вебинары,
конференции,
конгрессы



Медицинские
новости



Информация по
терапевтическим
направлениям