



2024 Том / Volume XII

№ 3

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 ВОЛГГМУ 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 23.12.2024; выход в свет 30.12.2024

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 3, 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>Е.В. Машковцева, Н.А. Рудникова, В.С. Копылова, Я.Р. Нарциссов</i> Оценка влияния приёма глицина практически здоровыми лицами на параметры мозгового кровотока по данным транскраниальной доплерографии.....198	<i>E.V. Mashkovtseva, N.A. Rudnikova, V.S. Kopylova, Y.R. Nartsissov</i> Glycine influence on cerebral blood flow parameters in practically healthy individuals evaluated with transcranial Doppler sonography198
<i>В.И. Петров, А.Ю. Рязанова, Н.С. Токарева</i> Оценка риска возникновения вторичных бактериальных инфекций у больных COVID-19 при приёме противовоспалительных генно-инженерных биологических препаратов.....209	<i>V.I. Petrov, A.Yu. Ryazanova, N.S. Tokareva</i> Risk of secondary bacterial infections during treatment with anti-inflammatory genetically engineered biological drugs in COVID-19 patients209
<i>Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова, Р.А. Мухамадияров, О.Д. Сидорова, Е.О. Кривкина, Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев</i> Анализ эффективности действия митохондриально- направленного антиоксиданта SkQ1 на модели ишемии и реперфузии миокарда крыс. Акцент на морфологическом и ультраструктурном исследовании ткани219	<i>E.A. Senokosova, E.A. Velikanova, R.A. Mukhamadiyarov, O.D. Sidorova, E.O. Krivkina, L.V. Antonova, E.V. Grigoriev</i> Analysis of mitochondrial-targeted antioxidant SkQ1 effectiveness on myocardial ischemia-reperfusion injury in a rat model: Focus on morphological and ultrastructural tissue study219
<i>А.С. Аметов, П.А. Белый, К.Я. Заславская, Е.А. Рогожина, В.С. Щербакова, Ю.Г. Казашвили, А.В. Таганов, Т.Г. Бодрова, Е.С. Мищенко, К.Н. Корянова, Л.И. Щербакова</i> Сравнительное исследование фармакокинетических параметров, биоэквивалентности, безопасности, переносимости и иммуногенности лекарственного препарата для лечения ожирения на основе семаглутида231	<i>A.S. Ametov, P.A. Bely, K.Y. Zaslavskaya, E.A. Rogozhina, V.S. Shcherbakova, Y.G. Kazaishvili, A.V. Taganov, T.G. Bodrova, E.S. Mishshenko, K.N. Koryanova, L.I. Shcherbakova</i> Comparative analysis of pharmacokinetic parameters, bioequivalence, safety, tolerability and immunogenicity of semaglutide-based drug for the treatment of obesity231
<i>Е.В. Реброва, Е.В. Ших, В.В. Смирнов, Г.С. Аникин, Л.М. Игнатова, М.М. Богданов</i> Оценка взаимосвязи минимальной равновесной концентрации блокаторов рецепторов ангиотензина II с полиморфными маркерами генов <i>CYP2C9 (Arg144Cys), CYP2C9 (Ile359Leu), AGTR1 (A1166C), AGT (Met235Thr, C4072T), ACE (I/D), CYP11B2 (C-344T)</i> и показателями офисного артериального давления247	<i>E.V. Rebrova, E.V. Shikh, V.V. Smirnov, G.S. Anikin, L.M. Ignatova, M.M. Bogdanov</i> Evaluation of the relationship between the minimum steady-state concentration of angiotensin II receptor blockers and polymorphic markers of <i>CYP2C9 (Arg144Cys), CYP2C9 (Ile359Leu), AGTR1 (A1166C), AGT (Met235Thr, C4072T), ACE (I/D), CYP11B2 (C-344T)</i> genes and office arterial pressure247

УДК 612.15: 615.036.8



Оценка влияния приёма глицина практически здоровыми лицами на параметры мозгового кровотока по данным транскраниальной доплерографии

Е.В. Машковцева^{1,2}, Н.А. Рудникова³, В.С. Копылова¹, Я.Р. Нарциссов^{1,4}

¹ Научно-исследовательский институт цитохимии и молекулярной фармакологии, 115404, Россия, г. Москва, ул. 6-я Радиальная, д. 24, стр. 14

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

³ Академия постдипломного образования федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства России, 125371, Россия, г. Москва, Волоколамское ш., д. 91

⁴ Группа биомедицинских исследований (БиДиФарма ГмБХ), 22962, Германия, Зик, Бюльтбек, д. 5

E-mail: mashkovtseva@icmph.ru

Получена 18.10.2024

После рецензирования 11.11.2024

Принята к печати 15.11.2024

Недостаточность перфузии мозговой ткани может вызывать снижение когнитивных функций, а длительно сохраняющаяся ишемия приводит также к эмоциональным и двигательным нарушениям. При этом контроль состояния церебрального кровотока является важным аспектом мониторинга прогрессирования многих патологических состояний. В неврологической практике уже более 30 лет широко применяется такая аминокислота, как глицин, которая способствует улучшению гемодинамических характеристик и метаболических процессов в тканях мозга.

Цель. Анализ влияния сублингвального приёма глицина на скоростные показатели мозгового кровотока у практически здоровых испытуемых с помощью транскраниальной доплерографии (ТКДГ).

Материал и методы. В пилотное рандомизированное контролируемое исследование было включено 20 здоровых испытуемых в возрасте от 25 до 65 лет, разделённых на 2 группы ($n=10$ для каждой группы). Группа I в течение 30 дней принимала препарат глицин сублингвально в дозе 300 мг/сутки, а группа II была контрольной (препарат не получала). Также в первой группе нагрузочная проба проводилась с 1000 мг глицина, а в контрольной группе – с 1000 мг плацебо. Всем испытуемым проводили оценку показателей кровотока в экстракраниальных и интракраниальных сосудах по данным ТКДГ с использованием стандартных протоколов.

Результаты. В группе I через месяц приёма глицина в левой средней мозговой артерии (СМА) значительно ($p < 0,01$) увеличились пиковая систолическая (на 11,9 см/с) и средняя максимальная (на 6,3 см/с) скорость, а в правой СМА наблюдалось увеличение пиковой систолической (на 9,3 см/с), конечной диастолической (на 2,8 см/с) и средней максимальной (на 5,8 см/с) скоростей. В свою очередь, в контрольной группе значимого прироста скорости не произошло. При нагрузочной пробе с глицином / плацебо относительный прирост пиковой систолической скорости в СМА в основной группе составил 7,6% [1,2; 10,9], в контрольной группе – 1,5% [-3,6; 5,5] ($p=0,03$).

Заключение. Приём глицина в течение 30 дней способствовал достоверному улучшению церебральной гемодинамики у здоровых лиц, которое выражалось в увеличении линейной скорости кровотока по СМА. При этом однократный приём 1000 мг глицина приводил к росту пиковой систолической и средней максимальной скоростей интракраниального кровотока до 10%.

Ключевые слова: транскраниальная доплерография; скорость кровотока; средняя мозговая артерия; глицин

Список сокращений: ТКДГ – транскраниальная доплерография; PS – пиковая систолическая скорость кровотока; ED – конечная диастолическая скорость кровотока; ТАМАХ – средняя по времени максимальная скорость кровотока; ОСА – общая сонная артерия; НСА – наружная сонная артерия; ВСА – внутренняя сонная артерия; ПА – позвоночная артерия; СМА – средняя мозговая артерия; ПМА – передняя мозговая артерия; ЗМА – задняя мозговая артерия.

Для цитирования: Е.В. Машковцева, Н.А. Рудникова, В.С. Копылова, Я.Р. Нарциссов. Оценка влияния приёма глицина практически здоровыми лицами на параметры мозгового кровотока по данным транскраниальной доплерографии. *Фармация и фармакология*. 2024;12(3):198-208. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-198-208

© Е.В. Машковцева, Н.А. Рудникова, В.С. Копылова, Я.Р. Нарциссов, 2024

For citation: E.V. Mashkovtseva, N.A. Rudnikova, V.S. Kopylova, Y.R. Nartsissov. Glycine influence on cerebral blood flow parameters in practically healthy individuals evaluated with transcranial Doppler sonography. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(3):198-208. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-198-208

Glycine influence on cerebral blood flow parameters in practically healthy individuals evaluated with transcranial Doppler sonography

E.V. Mashkovtseva^{1,2}, N.A. Rudnikova³, V.S. Kopylova¹, Y.R. Nartsissov^{1,4}

¹ Institute of Cytochemistry and Molecular Pharmacology, Bldg 14, 24, 6th Radial'naya Str., Moscow, Russia, 115404

² Pirogov Russian National Research Medical University, 1/7 Ostrovityanova Str., Moscow, Russia, 117997

³ Postgraduate Education Academy, Federal Scientific and Clinical Centre for Specialised Types of Medical Care and Medical Technologies, Federal Medical-Biological Agency of Russia, 91 Volokolamskoye Hwy, Moscow, Russia, 125371

⁴ Biomedical Research Group, BiDiPharma GmbH, 5 Bültbek, Siek, Germany, 22962

E-mail: mashkovtseva@icmph.ru

Received 18 Oct 2024

After peer review 11 Nov 2024

Accepted 15 Nov 2024

An insufficient perfusion of the brain tissue can cause a decrease in cognitive functions, and long-term ischemia also leads to emotional and motor disorders. At the same time, check-up of the state of the cerebral blood flow is an important aspect of monitoring the progression of many pathological conditions. The amino acid glycine has been widely used in neurological practice for over 30 years, which helps improve hemodynamic characteristics and metabolic processes in the brain tissue.

The aim of the work was to analyze the effect of a sublingual administration of glycine on the cerebral blood flow velocity in practically healthy subjects using transcranial Doppler (TCD) sonography.

Material and methods. The pilot randomized controlled study included 20 healthy subjects aged 25 to 65 years, equally divided into 2 groups, one of which took glycine sublingually at a dose of 300 mg/day for 30 days, and the second group was a control group and did not receive the drug. In the first group, a load testing was carried out with 1000 mg of glycine, and in the control group – with 1000 mg of placebo. All the subjects underwent an assessment of the blood flow in the extracranial and intracranial vessels using standard protocols of TCD.

Results. In Group I, after a month of glycine intake, the peak systolic (by 11.9 cm/s) and average maximum (by 6.3 cm/s) velocities in the left middle cerebral artery (MCA) increased significantly ($p < 0.01$), while in the right MCA there was an increase in the peak systolic (by 9.3 cm/s), and diastolic (by 2.8 cm/s) and average maximum (by 5.8 cm/s) velocities. In turn, in the control group, there was no significant increase in velocity. During the load testing with glycine / placebo, the relative increase in the peak systolic velocity in the MCA in the main group was 7.6% [1.2; 10.9], in control group was 1.5% [-3.6; 5.5] ($p=0.03$).

Conclusion. Glycine intake for 30 days contributes to a reliable improvement in cerebral hemodynamics in healthy individuals, such as an increase in the linear blood flow velocity in the MCA. At the same time, a single dose of 1000 mg of glycine leads to an increase in the peak systolic and average maximum intracranial blood flow velocities up to 10%.

Keywords: transcranial Doppler sonography; blood flow velocity; middle cerebral artery; glycine

Abbreviations: TCD sonography – transcranial Doppler sonography; PS – peak systolic blood flow rate; ED – end diastolic blood flow rate; TAMAX – Time Averaged Maximum Velocity; PI – pulsatility index; RI – peripheral resistance index; CCA – common carotid artery; ECA – external carotid artery; ICA – internal carotid artery; VA – vertebral artery; MCA – middle cerebral artery; ACA – anterior cerebral artery; PCA – posterior cerebral artery.

ВВЕДЕНИЕ

Головной мозг потребляет в процессе своего функционирования большое количество энергии. Для поддержания таких высоких метаболических потребностей необходим значительный объем приносящей крови. Церебральный кровоток, обеспечивающий поступление кислорода и питательных веществ к тканям мозга, а также удаление продуктов метаболизма, составляет до 20% от общего сердечного выброса [1]. Кровоснабжение головного мозга осуществляется расположенными на его поверхности крупными артериями, которые образуют обширную многократно ветвящуюся

сеть. Даже незначительное ухудшение мозгового кровообращения приводит к когнитивным расстройствам, а значимые нарушения являются одной из основных причин смертности [2].

Снижение перфузии головного мозга может возникать как вследствие микроангиопатий, так и при поражении артерий более крупного калибра, например, при ухудшении эластических свойств сосудистой стенки [3]. Существенным фактором является также недостаточно гибкое изменение кровоснабжения различных отделов мозга в ответ на изменение их энергетических потребностей [4]. Кроме того, нарушение эффективной ауторегуляции,

обеспечивающей постоянство мозгового кровотока даже при значительных колебаниях системного давления, часто наблюдается у пациентов с артериальной гипертензией и атеросклерозом [5]. Данный факт резко увеличивает риск прогрессирования когнитивных нарушений [6].

Таким образом, контроль состояния мозгового кровотока является существенным фактором при исследовании динамики прогрессирования недостаточности перфузии тканей мозга, а также важной составляющей скрининга у пациентов с факторами риска без установленных диагнозов. Одним из способов непосредственной оценки мозгового кровотока, а также «золотым стандартом» в изучении сосудистой реактивности мозга является ПЭТ-КТ (позитронно-эмиссионная томография и компьютерная томография). Однако существуют и другие методы, такие как спектроскопия в ближней инфракрасной области (БИК-спектроскопия), однофотонная эмиссионная компьютерная томография, функциональная магнитно-резонансная томография (фМРТ), а также транскраниальная доплерография (ТКДГ) [7]. ТКДГ является достаточно надёжной, недорогой, широко распространённой неинвазивной методикой оценки гемодинамических параметров внутричерепных сосудов, в частности, скоростных показателей кровотока [8, 9]. Рассчитываемые на основе полученных значений индексы (пульсационный индекс и индекс периферического сопротивления) также дают косвенную оценку перфузии в исследуемом сосудистом бассейне [10].

В неврологической практике широко применяются нейрометаболические стимуляторы, способствующие снижению активности возникающих при ишемии патологических процессов в нервной ткани. К таким препаратам относятся гинкго билоба, холина альфосцерат, глицин, винпоцетин, цитиколин [4, 11]. Важным аспектом терапии является замедление прогрессирования снижения когнитивных функций при различных типах сосудистых поражений головного мозга, поскольку многие препараты не столько оказывают вазодилатирующий эффект, сколько в большей степени влияют на компоненты регуляции сосудистого тонуса, таким образом, улучшая как гемодинамические характеристики, так и метаболические процессы в тканях мозга [6].

Аминокислота глицин давно применяется с целью коррекции нарушений вегетативной нервной системы, а также при когнитивном снижении. Её фармакологические свойства обусловлены как участием во множестве метаболических процессов, так и непосредственным нейромедиаторным действием [12, 13]. Показан терапевтический эффект глицина на клиническое течение острого ишемического инсульта, особенно при его раннем применении [14]. Приём 1000 мг препарата в первые несколько суток способствовал регрессу неврологического дефицита в 68,9% случаев, что

значительно превышало аналогичный показатель в группе плацебо (31,5%) [15]. Добавление глицина к базисной терапии новорождённых детей с перинатальными гипоксическими поражениями ЦНС приводило к нормализации темпов нервно-психического развития, а также улучшению неврологического статуса и поведенческих характеристик [16]. В исследованиях на животных вазодилатирующий эффект раствора глицина, выражающийся в увеличении диаметра артериол на 50–80% при его непосредственном нанесении на пиальные оболочки, возникал в течение нескольких минут [17]. Также экспериментально показано, что сублингвальное применение 200 мг глицина способствовало увеличению концентрации глюкозы в нервной ткани в 1,5 раза по сравнению с исходными данными, непосредственно влияя таким образом на её функционирование [18]. Кроме того, доказана эффективность курсового приёма глицина при дисциркуляторной энцефалопатии: наблюдалось как улучшение микроциркуляторных процессов, улучшение когнитивного компонента, так и снижение тревоги и эмоциональной лабильности [19].

Однако до последнего времени не было показано непосредственного прямого действия приёма препарата на состояние сосудов головного мозга. В связи с этим в данной работе исследовано дилатирующее действие глицина на церебральные сосуды человека. Для изучения данного феномена проводился анализ влияния сублингвального приёма глицина на гемодинамические параметры мозгового кровотока у практически здоровых людей с помощью ТКДГ.

ЦЕЛЬ. Проанализировать влияние сублингвального приёма глицина на скоростные характеристики мозгового кровотока у практически здоровых испытуемых с помощью транскраниальной доплерографии (ТКДГ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

В данное пилотное рандомизированное контролируемое исследование было включено 20 практически здоровых испытуемых в возрасте от 25 до 65 лет. Работу выполняли в период с августа по ноябрь 2022 г. в Научно-исследовательском институте цитохимии и молекулярной фармакологии (г. Москва) в соответствии с Хельсинкской декларацией. Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института цитохимии и молекулярной фармакологии (протокол № 3 от 04.07.2022 г.). Все лица подписали информированное согласие на участие до включения в исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения: мужчины и женщины в возрасте от 25 до 65 лет, у которых при входном

ультразвуковом исследовании (УЗИ) была подтверждена возможность визуализации кровотока по левой и правой средней мозговой артерии (СМА) через транстемпоральное ультразвуковое окно. *Критериями невключения* были: наличие хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы и любых других заболеваний в стадии обострения; установленное при входном обследовании снижение мозгового кровотока по магистральным сосудам более чем на 20% от возрастной нормы; ранее установленная гиперчувствительность к глицину; приём глицина и других ноотропных препаратов в течение месяца до начала исследования; беременность, период кормления ребёнка грудью; отказ пациента от участия в исследовании. *Критерии исключения*: в процессе исследования ни один из пациентов исключен из него не был.

Описание медицинского вмешательства

Исходно всем включённым в исследование пациентам было проведено клиническое обследование, включавшее оценку анамнестических данных: общее состояние испытуемого, наследственность, перенесённые заболевания, наличие хронических заболеваний, а также входное УЗИ магистральных сосудов головы на экстра- и интракраниальном уровнях на аппарате Mindray DC-80 (Mindray, Китай) с помощью линейного датчика L12-3E (3,0–13,5 МГц), конвексного датчика C5-1E (1,3–6,0 МГц), секторального датчика Sp5-1E (1,0–5,0 МГц): оценка показателей кровотока каротидного и вертебробазиллярной недостаточности: общей сонной артерии (ОСА), наружной сонной артерии (НСА), внутренней сонной артерии (ВСА) и позвоночной артерии (ПА), средней мозговой артерии (СМА), передней мозговой артерии (ПМА) и задней мозговой артерии (ЗМА).

Далее пациенты были рандомизированы методом генерации случайных чисел в две группы по 10 человек. Первая группа (Группа I, $n=10$) принимала глицин, таблетки подъязычные 100 мг, в течение 30 дней по 1 таблетке 3 раза в день. Также в первой группе нагрузочная проба проводилась с 1000 мг глицина (10 таблеток по 100 мг). В группе контроля (Группа II, $n=10$) нагрузочная проба проводилась с 1000 мг плацебо (10 таблеток, содержащих 100 мг лактозы и 0,1 мг сукралозы для имитации сладкого вкуса глицина), испытуемые не принимали исследуемый препарат до повторной оценки кровотока. Длительность наблюдения в обеих группах составила 30 дней.

Каждому испытуемому проводилось 4 транскраниальных измерения кровотока в СМА, ПМА и ЗМА с интервалом в 5 минут для нивелирования индивидуальной вариабельности базового уровня. В рамках исследования определяли линейную пиковую

систолическую (PS), конечную диастолическую (ED) и среднюю по времени максимальную скорость кровотока (TAMAX), пульсационный индекс (PI), индекс периферического сопротивления (RI), а также систоло-диастолическое соотношение (S/D) в СМА, ПМА и ЗМА у каждого из пациентов. Угол коррекции потока соответствовал направлению сосуда и сохранялся при последующих измерениях.

Затем пациент сублингвально принимал 1000 мг глицина (группа I), либо 1000 мг плацебо (группа II), после чего показатели в указанных артериях снимались через 5, 10 и 15 мин (Рис. 1). Данная доза является безопасной и рекомендованной¹ для однократного приёма при острых нарушениях мозгового кровообращения (в том числе при подозрениях на их возникновение). Таким образом, оценивался возможный дилатационный эффект глицина на церебральные сосуды у практически здоровых людей. В дальнейшем испытуемые 30 дней принимали глицин (группа I) 3 раза в день в дозировке 100 мг (суммарная суточная доза составляла 300 мг), либо ничего не принимали (группа II). По окончании курса препарата было проведено повторное исследование, включающее измерение кровотока в интракраниальных артериях в состоянии покоя. Для количественного сравнения гемодинамических эффектов были выбраны показатели транскраниальной оценки кровотока в СМА, поскольку эта артерия является прямым продолжением ВСА и снабжает значительную часть мозга. В соответствии с дизайном исследования каждому пациенту проводились многократные измерения величин потоков в состоянии покоя, что даёт возможность для сравнения эффектов курсового приёма глицина на показатели кровотока с контрольной группой, а также оценки реакции церебральных артерий на высокую дозу по сравнению с плацебо.

Статистическая обработка

Для статистической обработки данных применяли программу Statistica 10 (Statsoft, США). Исследуемые признаки не подчинялись нормальному распределению, в связи с чем количественные данные представлены в виде Me [Q25; Q75], где Me – медиана, Q25 – нижний квартиль, Q75 – верхний квартиль; номинальные и категориальные данные – n (%), где n – абсолютная, % – относительная частота встречаемости. Для оценки статистической значимости различий количественных данных использовали U -критерий Манна-Уитни (для независимых выборок) и критерий Уилкоксона (для зависимых выборок). Для сравнения долей (частот)

¹ Регистрационное удостоверение на препарат глицин. Государственный реестр лекарственных средств РФ. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=c73870d4-a6c3-41d5-aa4e-393b4a099a62

применялись точный критерий Фишера и критерий χ^2 Пирсона. Для оценки взаимосвязи признаков использовался непараметрический коэффициент корреляции Спирмена. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Участники исследования

В исследование было включено 20 практически здоровых работающих испытуемых в возрасте от 27 до 46 лет. Клинико-демографические данные добровольцев представлены в таблице 1. Половозрастные характеристики и количество пациентов с заявленными сосудистыми заболеваниями в анамнезе значимо не различались в исследуемых группах.

Основные результаты исследования

Оценка кровотока по магистральным сосудам головы и шеи не выявила значимых различий между группами (табл. 2). Однако в группе II систолическая скорость была несколько выше, чем в группе I. В целом, значения показателей соответствовали возрастным нормам [10] при незначительном отличии линейных скоростей слева и справа.

При первичной транскраниальной оценке параметров кровотока в СМА были выявлены существенные различия потоков слева и справа, однако их значения находились в пределах физиологического диапазона. У восьми испытуемых линейные пиковая систолическая, конечная диастолическая и средняя максимальная скорости были значимо больше слева, у четверых – справа, и у восьми испытуемых различия были незначимыми. При общей статистической оценке значения показателей справа были значимо меньше ($p < 0,05$), причем эта тенденция сохранялась и при втором измерении (табл. 3). Асимметрия церебрального кровотока до 20% считается физиологически допустимой и может объясняться как функциональной асимметрией полушарий головного мозга, так и морфологическими особенностями парных сосудов [20].

Несмотря на схожие характеристики двух групп, исходные показатели кровотока в СМА значимо различались между группами, причём в группе I они были ниже (PS слева и справа, $p < 0,01$; TAMAX слева и справа, $p < 0,01$; ED справа, $p < 0,05$). В связи с выявленной асимметрией в дальнейшем проводился независимый анализ значений потоков слева и справа. Через месяц приёма глицина (в группе I) наблюдалось достоверное увеличение скоростей слева и справа (оценивались медианы как самих значений скоростей, так и приростов при каждом измерении) (Рис. 2). Показано, что слева увеличились пиковая систолическая (на 11,9 см/с) и

средняя максимальная (на 6,3 см/с) скорости, справа увеличились пиковая систолическая (на 9,3 см/с), конечная диастолическая (на 2,8 см/с) и средняя максимальная (на 5,8 см/с) скорости (табл. 3). В группе II справа значимых изменений не произошло, при этом слева достоверно уменьшились конечная диастолическая (на -2,8 см/с, $p < 0,05$) и средняя максимальная (на -2,7 см/с, $p < 0,05$) скорости. В среднем увеличение пиковой систолической скорости составило 10% после 30 дней приёма глицина и -2% в группе I, относительный прирост у одного испытуемого мог достигать 40%. Важно, что в обеих группах показатели кровотока после изменения находились в пределах физиологического диапазона [10].

Для оценки базового уровня кровотока в пробе с 1000 мг глицина / плацебо для каждого испытуемого рассчитывалось среднее значение слева и справа по 4 измерениям в течение 15 минут лёжа в покое. Затем рассчитывалось среднее изменение потока относительно этого значения через 5, 10 и 15 минут после приёма препарата. При пробе с глицином / плацебо относительный прирост пиковой систолической скорости в группе I составил 7,6% [1,2; 10,8], в группе II – 1,5% [-3,6; 5,5] (уровень значимости различий между группами $p = 0,03$). Средняя максимальная скорость при этом выросла на 9,6% [0,6; 15,7] в группе I и на 3,0% [-2,5; 8,0] в группе II (уровень значимости различий между группами $p = 0,08$). Относительные изменения пиковой систолической скорости кровотока в левой и правой средней мозговой артерии представлены на рисунке 3.

При этом было выявлено, что базовый средний уровень в группе I оказался ниже общего среднего значения (для всех испытуемых), -5,4% [-20,0; 7,0], а в группе II – выше 10,7% [-5,1; 18,0]; $p < 0,05$. Изменения у разных пациентов были разнонаправленными, но максимальные отклонения в группе I наблюдались через 5 и 10 минут, тогда как в группе II они были хаотичными. Обнаружена значимая корреляция ($p < 0,05$) между приростом скорости и отклонением индивидуального базового значения скорости от среднего по группе (для PS $r = 0,68$, $p < 0,05$; для TAMAX $r = 0,73$, $p < 0,05$). Другими словами изменения были направлены на коррекцию отклонений от физиологической нормы, а величина изменений тем больше, чем больше были значения отклонений.

Ни у одного из участников исследования не было выявлено нежелательных явлений (включая аллергические реакции и непереносимость), связанных с подъязычным приёмом глицина по 100 мг три раза в день в течение 30 дней, а также однократного приёма 1000 мг, что подтверждает хорошую переносимость данного препарата в указанных дозах.

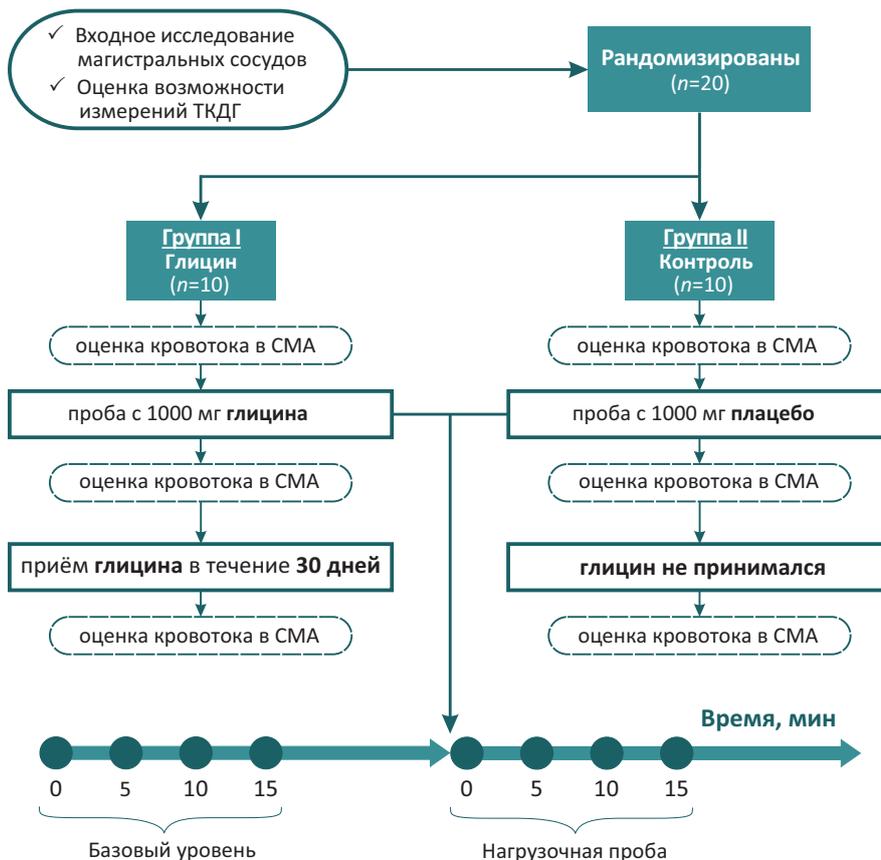


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Примечание: ТКДГ – транскраниальная доплерография; СМА – средняя мозговая артерия.

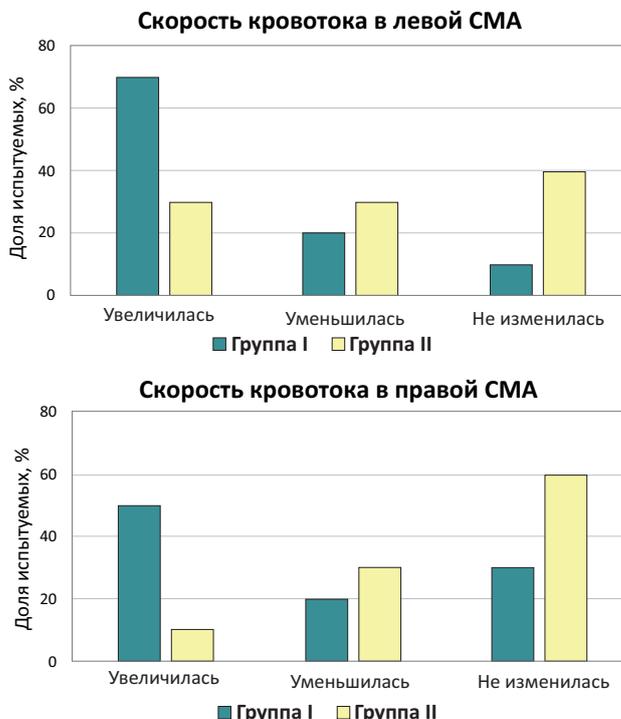


Рисунок 2 – Динамика пиковой систолической скорости кровотока в левой и правой средней мозговой артерии при транскраниальном исследовании через 30 дней после начала исследования в обеих группах

Примечание: СМА – средняя мозговая артерия. Наблюдаемые различия между группами в изменениях скорости кровотока слева ($p=0,02$) и справа ($p < 0,001$) статистически значимы.

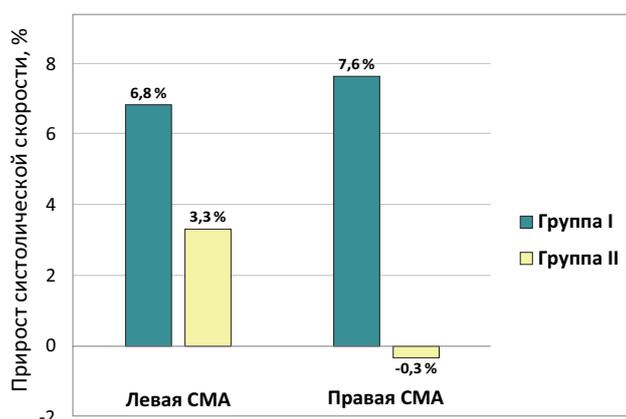


Рисунок 3 – Относительные изменения пиковой систолической скорости кровотока в левой ($p=0,24$) и правой ($p=0,09$) средней мозговой артерии при транскраниальном исследовании после приёма 1000 мг глицина или плацебо

Примечание: СМА – средняя мозговая артерия.

Таблица 1 – Клинико-демографическая характеристика участников

Группа	Группа I (n=10)	Группа II (n=10)	p
Возраст, лет, Ме [Q25; Q75]	35,5 [32; 43]	38,5 [33; 42]	0,496 ¹
Пол, n (%):			
муж	4 (40%)	4 (40%)	1,000 ²
жен	6 (60%)	6 (60%)	
Атеросклероз, n (%):			
нет	8 (80%)	6 (60%)	0,629 ²
да	2 (20%)	4 (40%)	
Мигрень, n (%):			
нет	8 (80%)	9 (90%)	1,000 ²
да	2 (20%)	1 (10%)	
Артериальная гипертензия, n (%):			
нет	7 (70%)	9 (90%)	0,582 ²
да	3 (30%)	1 (10%)	

Примечание: для оценки статистической значимости различий количественных данных использовали: ¹ – U-критерий Манна-Уитни; ² – точный критерий Фишера. Различия между группами по представленным характеристикам статистически незначимы ($p > 0,05$).

Таблица 2 – Базовые пиковые систолические (PS) скорости кровотока по магистральным сосудам головы и шеи в обеих группах

Артерия		Пиковая систолическая скорость кровотока (PS), см/с		p
		Группа I, Ме [Q25; Q75]	Группа II, Ме [Q25; Q75]	
ОСА, (норма 50–169 см/с)	Левая	92,6 [83,7; 116,1]	103,7 [96,7; 117,8]	0,39
	Правая	90,2 [73,7; 118,3]	95,6 [72,5; 103,8]	0,92
НСА, (норма 45–136 см/с)	Левая	84,1 [78,6; 94,0]	106,2 [85,1; 118,5]	0,10
	Правая	101,9 [73,4; 114,1]	109,8 [95,4; 119,3]	0,92
ВСА, (норма 36–115 см/с)	Левая	79,9 [64,5; 103,3]	88,5 [80,8; 117,0]	0,25
	Правая	84,1 [67,2; 103,6]	91,4 [83,1; 115,5]	0,28
ПА, (норма 28–71 см/с)	Левая	47,2 [36,9; 53,8]	47,4 [42,3; 58,7]	0,76
	Правая	38,5 [34,6; 50,1]	48,1 [43,7; 51,4]	0,13

Примечание: ОСА – общая сонная артерия; НСА – наружная сонная артерия; ВСА – внутренняя сонная артерия; ПА – позвоночная артерия. Для оценки статистической значимости различий между группами использовали U-критерий Манна-Уитни. Физиологические нормы скоростей приведены для лиц соответствующего среднего возраста (35 ± 12 лет) [10]. Значения скоростей в каждой из артерий в двух группах статистически не различались ($p > 0,05$).

Таблица 3 – Линейные пиковые систолические (PS) скорости кровотока в левой и правой средней мозговой артерии при транскраниальном исследовании в обеих группах

Артерия	Группа I, Ме [Q25; Q75]				Группа II, Ме [Q25; Q75]				p^{0-11}
	0 день	30 день	p^{0-30}	Δ	0 день	30 день	p^{0-30}	Δ	
Пиковая систолическая скорость кровотока (PS), см/с									
Левая	104,6 [93,9; 117,1]	112,2 [105,3; 120,6]	<0,001 ²	11,9 [-5,9; 18,4]	117,7 [106,2; 124,7]	114,1 [99,5; 127,0]	0,44 ²	-4,8 [-11,6; 9,2]	0,001 ¹
Правая	99,8 [86,0; 110,4]	104,3 [97,0; 116,5]	<0,001 ²	9,3 [-3,7; 19,8]	108,8 [97,0; 119,7]	110,8 [94,0; 119,1]	0,54 ²	-3,9 [-9,8; 7,8]	0,002 ¹
Конечная диастолическая скорость кровотока (ED) см/с									
Левая	45,6 [41,5; 5,9]	48,5 [44,2; 53,1]	0,22 ²	1,1 [-4,2; 6,4]	49,6 [45,3; 54,9]	46,8 [43,2; 52,3]	0,02 ²	-2,8 [-7,2; 3,8]	0,09 ¹
Правая	43,4 [37,9; 48,3]	45,6 [41,1; 50,1]	0,01 ²	2,8 [-3,0; 6,3]	46,4 [42,2; 50,6]	46,3 [40,2; 51,1]	0,61 ²	-1,5 [-6,1; 4,0]	<0,05 ¹
Средняя по времени максимальная скорость кровотока (TAMAX), см/с									
Левая	69,3 [63,1; 79,3]	75,6 [70,1; 82,5]	<0,001 ²	6,3 [-3,9; 13,6]	80,0 [68,6; 86,9]	74,2 [65,4; 86,2]	0,04 ²	-2,7 [-8,1; 4,3]	0,008 ¹
Правая	65,4 [59,8; 76,6]	73,3 [66,6; 79,0]	<0,001 ²	5,8 [-2,7; 12,9]	72,7 [64,1; 81,0]	73,7 [62,9; 80,1]	0,52 ²	-3,2 [-7,7; 5,4]	0,007 ¹

Примечание: Данные представлены в виде Ме [Q25; Q75]. Для оценки статистической значимости различий количественных данных использовали: ¹ – U-критерий Манна-Уитни; ² – критерий Уилкоксона. p^{0-30} – уровень значимости для разницы между значением показателя на 0-й и 30-й день в группе; p^{0-11} – уровень значимости для разницы между значением показателя на 0-й день в обеих группах. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из критических факторов адекватного функционирования головного мозга является поддержание необходимого уровня кровоснабжения с учётом изменяющихся метаболических потребностей, но вне линейной зависимости от системного артериального давления [21]. Как острая, так и хроническая ишемия мозга являются распространёнными причинами снижения трудоспособности, инвалидизации и смертности населения [22, 23].

В ткани мозга, находящейся в состоянии хронической гипоперфузии, а также ишемии-реперфузии, неизбежно наступает дисбаланс метаболических процессов, систем антиоксидантной защиты, и, как следствие, возникают нарушения нейротрансмиссии, снижение нейропластичности, ухудшение когнитивного статуса и общего функционального состояния [4]. Бессимптомные, либо сопровождающиеся лёгким когнитивным снижением церебральные сосудистые нарушения, обычно плохо диагностируются в связи с отсутствием жалоб у пациентов. Однако при таких состояниях, как артериальная гипертензия, атеросклероз, сахарный диабет, и наличии дополнительных факторов риска (гиподинамии, ожирения, курения), контроль за состоянием мозгового кровообращения является одним из важнейших аспектов профилактики инсульта и деменции [6, 24].

Нейропротективные метаболические препараты широко применяются при сосудистых когнитивных нарушениях, поскольку они не только обладают ноотропным эффектом, но и способствуют нормализации энергетического обеспечения

нейронов, проявляют антиоксидантные и антигипоксикантные свойства, мягко корректируют нарушения церебральной гемодинамики [11]. Одним из таких лекарственных препаратов является глицин, который уже более 30 лет применяется как при тяжёлых неврологических состояниях, так и у практически здоровых людей для коррекции вегетососудистых нарушений, снижения уровня тревожности и психоэмоционального напряжения, улучшения когнитивных способностей [15, 19, 25, 26]. Широкий спектр фармакологических свойств препарата обусловлен участием этой аминокислоты в огромном количестве биохимических процессов, а также её уникальными нейромедиаторными характеристиками: взаимодействием с тормозными глициновыми (GlyR), возбуждающими глутаматными (NMDA-R) и метаболитными (mGlyR) рецепторами [13, 27].

В проведённом нами исследовании было подтверждено влияние глицина на состояние церебральных сосудов с помощью УЗИ. ТКДГ является достаточно точным, воспроизводимым неинвазивным методом оценки скоростных показателей кровотока, а также реактивности сосудов головного мозга [28, 29].

Курсовой сублингвальный приём глицина относительно здоровыми добровольцами в течение 30 дней приводил к значимому увеличению линейных показателей кровотока в интракраниальных сосудах. Изменение скорости у отдельных испытуемых достигало 40%, причём максимальные значения прироста наблюдались при исходно пониженных показателях, либо выраженной межполушарной асимметрии. В группе II

входные значения скоростей оказались выше, чем в группе I, несмотря на то, что гемодинамические показатели для церебральных магистральных сосудов, полученные перед рандомизацией, не отличались. У более чем половины испытуемых была обнаружена значимая межполушарная асимметрия потоков, причём, несмотря на индивидуальные различия, показатели справа для всех участников были достоверно ниже. Подобный феномен может быть опосредован отхождением левой сонной артерии непосредственно от дуги аорты, и был также неоднократно показан на животных [1]. Интересно, что кровоток в правой половине головного мозга оказался более стабильным в ходе исследования как после приёма глицина, так и в контрольной группе, где после 30 дней были зафиксированы небольшие, но значимые снижения скоростей слева. Объёмная скорость кровотока достаточно полно характеризует кровенаполнение органа, она зависит как от линейной скорости в сосуде, так и от его диаметра. Однако в связи со сложностью оценки диаметров интракраниальных сосудов, а также их низкой вариабельностью в физиологических условиях, обычно в качестве показателей гемодинамики выбирают линейные скорости [3]. При этом у пациентов с разными калибрами сосудов могут присутствовать различные уровни кровенаполнения при одинаковых значениях линейных скоростей. В дальнейшем более подробное изучение взаимосвязи церебрального кровотока с функциональной деятельностью мозга, в том числе под влиянием препаратов как в норме, так и при различных патологических состояниях, может представлять научный и клинический интерес.

Тем не менее, увеличение скоростей кровотока по церебральным артериям в пределах физиологических норм определённо свидетельствует об увеличении перфузии нервной ткани и может рассматриваться как фактор расширения диапазона функциональной активности мозга. Поскольку курсовой приём глицина приводил к росту показателей в СМА, его можно рекомендовать как при лёгких и средних когнитивных снижениях, так и в периоды высоких умственных нагрузок для поддержания адекватного функционирования головного мозга.

Приём 1000 мг глицина одновременно рекомендован в первые сутки при терапии ишемического инсульта и других острых мозговых катастрофах, а также при подозрении на острое нарушение мозгового кровообращения [15]. Исследование скоростных показателей в СМА после острой пробы с 1000 мг глицина или плацебо позволило оценить влияние высокой дозы препарата на мозговой кровоток практически здоровых людей. Показано, что разовый приём

1000 мг глицина вызывал краткосрочное значимое увеличение линейных скоростей в СМА до 10%. При этом степень изменения была пропорциональна исходному отклонению от средней возрастной нормы: наибольший эффект наблюдался в случае значительного отклонения показателей. Однако очевидно, что подобная дилатация может происходить только при сохранённой сосудистой реактивности, оценка которой также представляет интерес при дальнейшем изучении описанных эффектов на большей выборке пациентов. Таким образом, профилактический приём 1000 мг глицина пациентами при подозрении на возникновение инсульта безопасен и может быть рекомендован, поскольку не приводит к критическому изменению кровотока в случае сохранности внутричерепной гемодинамики.

Ограничения исследования

По мнению авторов, ограничением исследования может являться относительно небольшой объём выборки, в связи с чем некоторые полученные результаты не могли быть подтверждены статистическими методами, а анализ параметров мозгового кровотока проводился в совокупности у мужчин и женщин. Кроме того, описанные в работе эффекты глицина наблюдались у условно здоровых лиц, без учёта возможного влияния на параметры мозгового кровотока возможных сердечно-сосудистых заболеваний. Исследование описанных эффектов на больших группах пациентов, в том числе с различными сосудистыми патологиями, будет представлять практический интерес с точки зрения понимания выявленных закономерностей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в данном исследовании с помощью ТКДГ изучено влияние сублингвального приёма глицина на показатели мозговой гемодинамики. Показано, что курсовой приём глицина приводит к достоверному улучшению интракраниального кровотока по сравнению с контрольной группой. Так, подъязычный приём 100 мг глицина 3 раза в день в течение 30 дней способствовал значимому изменению мозговой гемодинамики. Несмотря на то, что тенденции были разнонаправленными, в группе I наблюдалось гораздо больше пациентов, у которых линейные скорости кровотока по СМА увеличились, по сравнению с группой II, где показатели не изменились или уменьшились. Кроме того, после разового приёма 1000 мг глицина наблюдалось краткосрочное значимое увеличение пиковой систолической и средней максимальной скоростей интракраниального кровотока до 10%, в то время как после приёма плацебо подобный эффект отмечен не был.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность научному сотруднику Научно-исследовательского института цитохимии и молекулярной фармакологии Л.А. Ивонцину за неоценимую помощь при проведении исследования.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «МНПК «БИОТИКИ». Спонсор не оказывал влияния на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е.В. Машковцева – разработка дизайна исследования и концепции статьи, статистическая обработка результатов, написание основного текста рукописи; Н.А. Рудникова – проведение ультразвукового исследований, редактирование статьи; В.С. Копылова – обработка данных ультразвукового исследования, редактирование текста статьи; Я.Р. Нарциссов – участие в разработке дизайна исследования и концепции статьи, утверждение окончательного варианта рукописи.

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. Филатова О.В., Сидоренко А.А. Возрастные и половые особенности гемодинамических характеристик артерий головного мозга // *Acta Biologica Sibirica*. – 2015. – Т. 1, № 3–4. – С. 199–243. DOI: 10.14258/abs.v1i3-4.922
2. Толпыгина С.Н., Загребельный А.В., Чернышева М.И., Воронина В.П., Кутишенко Н.П., Дмитриева Н.А., Лерман О.В., Лукина Ю.В., Благодатских С.В., Лукьянов М.М., Окшина Е.Ю., Парсаданян Н.Г., Марцевич С.Ю., Драпкина О.М. Отдаленная выживаемость больных, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения, в различных возрастных группах в регистре РЕГИОН-М // *Российский кардиологический журнал*. – 2023. – Т. 28, № 2. – С. 5250. DOI: 10.15829/1560-4071-2023-5250
3. Федин А.И., Кузнецов М.Р., Берестень Н.Ф., Холопова Е.А., Тугдумов Б.В., Румянцева Е.И., Павочкина Е.С. Состояние ауторегуляции мозгового кровотока // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. – 2011. – Т. 111, № 1. – С. 68–73.
4. Камчатнов П.Р., Чугунов А.В., Тяжелников А.А., Пышкина Л.И. Патогенез хронических расстройств мозгового кровообращения // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. – 2017. – Т. 117, № 12–2. – С. 70–77. DOI: 10.17116/jnevro201711712270-77
5. Claassen J.A., Thijssen D.H., Panerai RB, Faraci FM. Regulation of cerebral blood flow in humans: physiology and clinical implications of autoregulation // *Physiol Rev*. – 2021. – Vol. 101, No. 4. – P. 1487–1559. DOI: 10.1152/physrev.00022.2020
6. Амелина И.П., Соловьева Э.Ю. Терапия сосудистых коморбидных пациентов с хронической ишемией мозга в эпоху коронавирусной пандемии // *Нервные болезни*. – 2022. – Т. 1. – С. 62–71. DOI: 10.24412/2226-0757-2022-12412
7. Pinto J., Bright M.G., Bulte D.P., Figueiredo P. Cerebrovascular Reactivity Mapping Without Gas Challenges: A Methodological Guide // *Front. Physiol*. – 2021. – Vol. 11. – P. 608475. DOI: 10.3389/fphys.2020.608475
8. Herrera C.R., Beltramini G.C., Avelar W.M., Lima F.O., Li L.M. Cerebral vasomotor reactivity assessment using Transcranial Doppler and MRI with apnea test // *Braz J Med Biol Res*. – 2016. – Vol. 49, No. 11. – P. 5437. DOI: 10.1590/1414-431X20165437
9. Wolf M.E. Functional TCD: regulation of cerebral hemodynamics-cerebral autoregulation, vasomotor reactivity, and neurovascular coupling // *Front Neurol Neurosci*. – 2015. – Vol. 36. P. 40–56. DOI: 10.1159/000366236
10. Schönling M., Walter J., Scheel P. Estimation of cerebral blood flow through color duplex sonography of the carotid and vertebral arteries in healthy adults // *Stroke*. – 1994. – Vol. 25, No. 1. – P. 17–22. DOI: 10.1161/01.str.25.1.17
11. Вахнина Н.В. Современная терапия когнитивных нарушений // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. – 2011. – Т. 3, № 4. – С. 63–69. DOI: 10.14412/2074-2711-2011-349
12. Quintanilla-Villanueva G.E., Rodríguez-Delgado M.M., Villarreal-Chiu J.F., Blanco-Gómez E.A., Luna-Moreno D. The Role of Amino Acid Glycine on Cardiovascular Health and Its Beneficial Effects: A Narrative Review // *J Vasc Dis*. – 2024. – Vol. 3, No. 2. – P. 201–211. DOI: 10.3390/jvd3020016
13. Razak M.A., Begum P.S., Viswanath B., Rajagopal S. Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review // *Oxid Med Cell Longev*. – 2017. – Vol. 2017. – P. 1716701. DOI: 10.1155/2017/1716701
14. Нарциссов Я.Р., Шешегова Е.В., Машковцева Е.В., Максимова Л.Н. Роль глицина в терапии острого ишемического инсульта // *Неврологический вестник*. – 2015. – Т. 47, № 1. – С. 85–90. DOI: 10.17816/nb13927
15. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Комиссарова И.А., Дамбинова С.А., Раевский К.С., Алексеев А.А., Башкатова В.Г., Коваленко А.В., Кудрин В.С., Яковлева Е.В. Нейропротективное действие глицина в остром периоде ишемического инсульта // *Журнал неврологии и психиатрии*. – 1999. – Т. 2. – С. 12–20.
16. Гончарова О.В., Машковцева Е.В., Нарциссов Я.Р. Метаболическая терапия в реабилитации детей с последствиями перинатальной гипоксии // *Вопросы*

- практической педиатрии. – 2023. – Т. 18, № 2. – С. 102–110. DOI: 10.20953/1817-7646-2023-2-102-110
17. Подопригора Г.И., Нарциссов Я.Р. Влияние глицина на микроциркуляцию в сосудах брыжейки крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147, № 3. – С. 279–83.
 18. Blagosklonov O., Podoprigora G.I., Davani S., Nartsissov Y.R., Comas L., Boulahdour H., Cardot J.C. FDG-PET scan shows increased cerebral blood flow in rat after sublingual glycine application // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment. – 2007. – Vol. 571, No. 1–2. – P. 30–32. DOI: 10.1016/j.nima.2006.10.022
 19. Кравченко И.В. Сравнительный анализ терапевтической эффективности Глицина в комплексной терапии больных с хронической вертебро-базилярной недостаточностью // Практическая медицина. – 2015. – Т. 5, № 90. – С. 193–196.
 20. Фокин В.Ф., Медведев Р.Б., Пономарева Н.В., Лагода О.В., Танащян М.М. Асимметрия билатерального кровотока и интегральная оценка когнитивных функций у больных дисциркуляторной энцефалопатией // Асимметрия. – 2020. – Т. 14, № 2. – С. 29–41. DOI: 10.25692/ASY.2020.14.2.003
 21. Ваулина Д.Д., Бутко Д.Ю., Карпов А.А., Галагудза М.М. Нейрогенная регуляция мозгового кровотока // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2023. – Т. 109, № 12. – С. 1725–1741. DOI: 10.31857/S0869813923120130
 22. Евзельман М.А., Митяева Е.В., Лашхия Я.Б., Камчатнов П.Р. Острая церебральная ишемия и воспаление // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т. 119, № 12 (вып. 2). – С. 73–80. DOI: 10.17116/jnevro201911912273
 23. Чуканова Е.И., Чуканова А.С., Багманян С.Д. Хроническая ишемия мозга – междисциплинарная проблема // Терапия. – 2021. – № 5. – С. 149–156. DOI: 10.18565/therapy.2021.5.149-156
 24. Fresnais D., Ihle-Hansen H., Lundström E., Andersson Å.G., Fure B. Cerebrovascular Hemodynamics in Cognitive Impairment and Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis of Transcranial Doppler Studies // Dement Geriatr Cogn Disord. – 2023. – Vol. 52, No. 5–6. – P. 277–295. DOI: 10.1159/000535422
 25. Хабибулина М.М., Шамилов М.Д. Влияние глицина и лизиноприла на качество жизни женщин с артериальной гипертензией и эстрогенодефицитом // Врач. – 2021. – Т. 4. – С. 38–42. DOI: 10.29296/25877305-2021-04-06
 26. Шишкова В.Н., Шишков В.А., Устарбекова Д.Б., Машковцева Е.В., Нарциссов Я.Р. Опыт эффективной коррекции основных проявлений постковидного синдрома // Медицинский совет. – 2023. – Т. 17, № 10. – С. 134–142. DOI: 10.21518/ms2023-237
 27. Laboute T., Zucca S., Holcomb M., Patil D.N., Garza C., Wheatley B.A., Roy R.N., Forli S., Martemyanov K.A. Orphan receptor GPR158 serves as a metabotropic glycine receptor: mGlyR // Science. – 2023. – Vol. 379, No. 6639. – P. 1352–1358. DOI: 10.1126/science.add7150
 28. Байбородина И.В., Завадовская В.Д., Жукова Н.Г., Зоркальцев М.А., Жукова И.А. Комплексная оценка параметров мозгового кровотока и показателей цереброваскулярной реактивности по данным функциональных проб у пациентов с болезнью Паркинсона и сосудистой патологией // Сибирский медицинский журнал. – 2020. – Т. 35, № 2. – С. 140–148. DOI: 10.29001/2073-8552-2020-35-2-140-148
 29. Yazici B., Erdoğan B., Tugay A. Cerebral blood flow measurements of the extracranial carotid and vertebral arteries with Doppler ultrasonography in healthy adults // Diagn Interv Radiol. – 2005. – Vol. 11, No. 4. – P. 195–198.

АВТОРЫ

Машковцева Елена Валерьевна – кандидат физико-математических наук, директор, Научно-исследовательский институт цитохимии и молекулярной фармакологии; доцент кафедры медицинской кибернетики и информатики имени С.А. Гаспаряна ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5899-5491. E-mail: mashkovtseva@icmph.ru

Рудникова Наталья Александровна – старший преподаватель кафедры клинической физиологии и функциональной диагностики Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России. ORCID ID: 0000-0002-4827-0662. E-mail: rudnikova@mail.ru

Копылова Вероника Сергеевна – кандидат

физико-математических наук, старший научный сотрудник сектора математического моделирования и статистической обработки результатов, Научно-исследовательский институт цитохимии и молекулярной фармакологии. ORCID ID: 0000-0002-6334-720X. E-mail: kopilova.veronika@yandex.ru

Нарциссов Ярослав Юрикович – кандидат физико-математических наук, доцент, заведующий сектором математического моделирования и статистической обработки результатов, Научно-исследовательский институт цитохимии и молекулярной фармакологии; руководитель группы, Группа биомедицинских исследований «БиДиФарма ГмбХ», Германия. ORCID ID: 0000-0001-9020-7686. E-mail: yn_brg@icmph.org

УДК 615.065-615.276-578.834.1



Оценка риска возникновения вторичных бактериальных инфекций у больных COVID-19 при приёме противовоспалительных генно-инженерных биологических препаратов

В.И. Петров, А.Ю. Рязанова, Н.С. Токарева

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

E-mail: nastasyakus@mail.ru

Получена 15.02.2024

После рецензирования 08.09.2024

Принята к печати 19.10.2024

Цель. Выявить наличие и степень выраженности связи между применением противовоспалительных генно-инженерных биологических препаратов и развитием вторичных бактериальных инфекций у больных COVID-19.

Материалы и методы. Проанализировано 1296 медицинских карт пациентов, госпитализированных с диагнозом COVID-19 в сентябре 2020 года, марте, сентябре 2021 года, марте, сентябре и ноябре 2022 г. Выполнено исследование «случай-контроль» с использованием метода подбора пар «matched case-control study» (275 пар), идентичных по полу, возрасту (± 2 года), степени тяжести поражения лёгких по данным компьютерной томографии / рентгенографии лёгких, исходу COVID-19, сопутствующими нарушениями углеводного обмена. В качестве «случая» были представлены пациенты с признаками вторичной бактериальной инфекции (по показателям: лейкоциты $\geq 12 \times 10^9/\text{л}$, прокальцитонин $\geq 0,5$ нг/мл и/или вирусно-бактериальная пневмония по данным аутопсии). В качестве «контроля» были пациенты без признаков бактериальной инфекции (лейкоциты $< 11 \times 10^9/\text{л}$, прокальцитонин $< 0,5$ нг/мл, отсутствие описания клинических признаков бактериальной инфекции в медицинской карте на протяжении всей госпитализации). Для указанных групп исследовали назначения 6 противовоспалительных генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП): тоцилизумаб, сарилумаб, олокизумаб, левилимаб, нетакимаб, секукинумаб.

Результаты. Применение любого противовоспалительного ГИБП было ассоциировано с появлением признаков вторичной бактериальной инфекции (ОШ=2,41; 95% ДИ от 1,54 до 3,77; $p < 0,001$): для левилимаба ОШ составило 3,44 (95% ДИ от 1,64 до 7,23; $p < 0,001$), для тоцилизумаба – ОШ=1,75 (95% ДИ от 0,73 до 4,17; $p=0,201$), для олокизумаба – ОШ=1,28 (95% ДИ от 0,81 до 2,03; $p=0,292$).

Заключение. Среди трёх препаратов (тоцилизумаб, олокизумаб, левилимаб) наибольшей безопасностью в отношении предупреждения признаков вторичной бактериальной инфекции был препарат олокизумаб. Стоит отметить, что требуется дальнейшее изучение риска развития бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19 на фоне применения противовоспалительных ГИБП.

Ключевые слова: генно-инженерные биологические препараты; антагонисты интерлейкинов; COVID-19; тоцилизумаб; олокизумаб; левилимаб; исследование «случай-контроль»

Список сокращений: ЛИ – летальный исход; ВБИ – вторичная бактериальная инфекция; ГИБП – генно-инженерные биологические препараты; ОРДС – острый респираторный дистресс синдром; СРБ – С-реактивный белок; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; КТ – компьютерная томография; РГ – рентгенография.

Risk of secondary bacterial infections during treatment with anti-inflammatory genetically engineered biological drugs in COVID-19 patients

V.I. Petrov, A.Yu. Ryazanova, N.S. Tokareva

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

E-mail: nastasyakus@mail.ru

Received 15 Feb 2024

After peer review 08 Sep 2024

Accepted 19 Oct 2024

Для цитирования: В.И. Петров, А.Ю. Рязанова, Н.С. Токарева. Оценка риска возникновения вторичных бактериальных инфекций у больных COVID-19 при приёме противовоспалительных генно-инженерных биологических препаратов. *Фармация и фармакология*. 2024;12(3):209-218. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-209-218

© В.И. Петров, А.Ю. Рязанова, Н.С. Токарева, 2024

For citation: V.I. Petrov, A.Yu. Ryazanova, N.S. Tokareva. Risk of secondary bacterial infections during treatment with anti-inflammatory genetically engineered biological drugs in COVID-19 patients. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(3):209-218. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-209-218

The aim of the work was to identify the presence and strength of association between the use of anti-inflammatory genetically engineered biological drugs and the development of secondary bacterial infections in COVID-19 patients.

Materials and methods. We used 1 296 medical records of patients hospitalized in the infectious diseases hospital of the Volgograd region with a diagnosis of COVID-19 in September 2020, March and September 2021, March, September and November 2022, have been analyzed. A matched case-control study was performed with 275 pairs identical in gender, age (± 2 years), the severity of the lung damage according to computed tomography / chest X-ray, a COVID-19 outcome, concomitant carbohydrate metabolism disorders. Patients with the signs of the secondary bacterial infection (leukocytes $\geq 12 \times 10^9/l$, procalcitonin ≥ 0.5 ng/ml and/or viral-bacterial pneumonia according to the autopsy data) were presented as a case. The "control" group included patients without signs of any bacterial infection (leukocytes $< 11 \times 10^9/l$, procalcitonin < 0.5 ng/ml, no description of clinical signs of the bacterial infection in the medical record during the hospitalization). The prescription of 6 anti-inflammatory genetically engineered biological drugs (tocilizumab, sarilumab, olokizumab, levilimab, netakimab, secukinumab) has been studied for these groups.

Results. The use of any anti-inflammatory genetically engineered biological drug was associated with the development of the secondary bacterial infection signs (OR=2.41; 95% CI: from 1.54 to 3.77; $p < 0.001$): for levilimab, the OR was 3.44 (95% CI: from 1.64 to 7.23; $p < 0.001$), for tocilizumab – OR=1.75 (95% CI: from 0.73 to 4.17; $p=0.201$), for olokizumab – OR=1.28 (95% CI: from 0.81 to 2.03; $p=0.292$).

Conclusion. Among the three drugs (tocilizumab, olokizumab, levilimab), the Russian biosimilar olokizumab, a monoclonal antibody to circulating interleukin-6, has shown itself as the safest drug in terms of preventing the secondary bacterial infection signs. Further studies of developing bacterial complications risk in COVID-19 patients receiving anti-inflammatory genetically engineered biological drugs are required.

Keywords: genetically engineered biological drugs; interleukin antagonists; COVID-19; tocilizumab; olokizumab; levilimab; case-control study

Abbreviations: FO – fatal outcome; SBI – secondary bacterial infection; GEBDs – genetically engineered biological drugs; ARDS – acute respiratory distress syndrome; CRP – C-reactive protein; OR – odds ratio; CI – confidence interval; CT – computed tomography; XR – X-ray.

ВВЕДЕНИЕ

Разнообразные респираторные вирусы часто поражают людей в течение жизни и могут осложняться развитием бактериальных инфекций. До недавнего времени наиболее опасным среди возбудителей острых респираторных вирусных заболеваний был вирус гриппа А [1]. Ретроспективный анализ сохранившихся гистологических образцов после пандемии гриппа АН1N1 в 1918 году привёл к выводу о том, что более 95% случаев летальных исходов (ЛИ) были связаны непосредственно с вторичной бактериальной пневмонией [2]. Около 70–80% ЛИ во времена пандемии гриппа 1957–1958 гг. также были связаны с бактериальной пневмонией [3]. Та же тенденция прослеживалась и у 29–55% умерших в лечебных учреждениях от гриппа А (H1N1) пациентов во время вспышки 2009 года – были выявлены признаки бактериальной инфекции [4].

В конце 2019 г. в Китае были зарегистрированы первые случаи заболевания COVID-19, вызванные новым коронавирусом тяжёлого острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) SARS-CoV-2. Вопрос о бактериальных осложнениях новой инфекции был актуален в самом начале пандемии [5]. В.Л. Langford и соавт. в метаанализе 2020 г. [6], включающем 3 338 пациентов с COVID-19, изучали распространённость бактериальной инфекции дыхательных путей и/или кровотока у больных с подтверждённым диагнозом COVID-19. Бактериальная сопутствующая инфекция (менее 2 суток от момента поступления в стационар)

была выявлена у 3,5% больных COVID-19 и у 14,3% пациентов была установлена вторичная бактериальная инфекция (ВБИ; более 2 суток с момента поступления в стационар). Более 70% больных, госпитализированных с COVID-19 в 2020 г., получали антибиотикотерапию [6].

W.H. Chong и соавт. в метаанализе 2021 г. [7] изучали распространённость ВБИ и грибковой инфекции у госпитализированных пациентов с COVID-19: частота возникновения составила 16% (580 случаев на 3 633 пациента). Только для 9 из 49 включённых в обзор исследований имелись данные о возбудителях. Наиболее часто встречающимися бактериальными агентами, идентифицированными в культурах образцов из дыхательных путей, сообщающих о типе и частоте ВБИ, были *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella species*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Stenotrophomonas maltophilia*. От 60 до 100% пациентов по данным исследований получали антибактериальные препараты [7].

В связи с трудностями, возникающими при дифференциальной диагностике вирусной и бактериальной пневмонии в условиях реальной клинической практики, а также сложностями забора респираторных образцов у пациентов, находящихся в карантинных условиях, истинная распространённость бактериальной сопутствующей и вторичной инфекции у больных COVID-19, по мнению J.M. Farrell и соавт., может быть выше [3].

Как и в случае с гриппом, ВБИ могут

влиять на прогноз пациентов с COVID-19. В ретроспективном когортном исследовании, включающем первых пациентов г. Ухань (Китай), F. Zhou и соавт. [8] обнаружили, что бактериальные инфекции (бактериемия и пневмония) были более распространены случаях COVID-19 с ЛИ по сравнению с выздоровевшими пациентами: 28/191 (15%) пациентов имели бактериальную инфекцию с положительным результатом посева. Количество ЛИ составило – 27 человек. В половине наступивших ЛИ (27/54) была выявлена бактериальная инфекция, в то время как среди выздоровевших пациентов она наблюдалась только в 1 случае (1/137) [8]. Аналогичные закономерности высокой заболеваемости ВБИ среди умерших пациентов были зарегистрированы и в более поздних работах [9, 10].

Исследования последних лет показали, что, независимо от типа респираторного вируса, основным механизмом, способствующим развитию ВБИ, является избыточная продукция интерферона и неконтролируемое воспаление [1]. Генетически модифицированные мыши, дефицитные по рецепторам интерферона типа I, были более устойчивы к развитию ОРДС, бактериальной пневмонии или сепсиса по сравнению с нормальными мышами [11–13]. Таким образом, снижение риска развития и тяжести цитокинового шторма, характерного осложнения новой инфекции, может привести к снижению риска развития не только ОРДС, но и бактериальной суперинфекции. Однако, применяемые для профилактики и лечения цитокинового шторма при COVID-19, противовоспалительные генно-инженерные биологические препараты (ГИБП), такие как тоцилизумаб, сарилумаб и другие, могут вызывать инфекционные осложнения вследствие иммуносупрессии.

У пациентов с ревматоидным артритом на предрегистрационном и последующих этапах клинических исследований тоцилизумаба, наиболее частой нежелательной реакцией была инфекция верхних дыхательных путей [14–16]. Частота возникновения серьёзных инфекций на фоне терапии другим антагонистом интерлейкина-6 сарилумабом также в исследовании пациентов с ревматоидным артритом была сопоставима с частотой осложнений на фоне терапии тоцилизумабом, что позволяет сделать вывод о класс-специфичности указанной нежелательной реакции [17].

A.I. Rutherford и соавт. [18] изучали частоту возникновения серьёзных инфекций среди ГИБП, используемых для лечения ревматоидного артрита, используя данные из Британского регистра

биологических препаратов (British Biologics Register) для лечения ревматоидного артрита. В перспективное наблюдательное когортное исследование было включено 19 282 пациента. Частота серьёзных инфекций составила 5,51 случая на 100 пациенто-лет и, в сравнении с ингибитором фактора некроза опухоли альфа этанерцептом, тоцилизумаб имел более высокий риск развития серьёзных инфекций (отношение рисков (ОР)=1,22; 95% доверительный интервал (ДИ) 1,02–1,47)). Смортность в течение 30-ти дней в результате серьёзных инфекций у пациентов с ревматоидным артритом, получавших атицитокиновую терапию, составила 10,4% (95% ДИ 9,2–11,6%) [18]. Учитывая механизм действия препаратов и данные, полученные в исследованиях пациентов с ревматоидным артритом, у больных COVID-19 ВБИ могут быть связаны с терапией ГИБП и влиять на прогноз COVID-19.

ЦЕЛЬ. Проследить наличие и степень выраженности связи между применением противовоспалительных ГИБП и развитием ВБИ у больных COVID-19 для оценки безопасности биологической терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено одноцентровое ретроспективное наблюдательное исследование «случай-контроль» методом подбора пар. Для анализа отбирались медицинские карты пациентов, госпитализированных в инфекционное отделение ГБУЗ «Городская клиническая больница № 3» г. Волгоградской области с подтверждённым методом ПЦР или предположительным диагнозом COVID-19 в периоды максимальной загруженности стационара: в сентябре 2020 года, марте, сентябре 2021 года и марте, сентябре и ноябре 2022 года и находящихся на стационарном лечении не менее 5 суток (1 296 пациентов). В качестве «случаев» отбирали пациентов, у которых признаки бактериальной инфекции (лейкоцитоз $\geq 12 \times 10^9/\text{л}$ со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, прокальцитонин $\geq 0,5$ нг/мл и/или описание вирусно-бактериальной пневмонии по данным аутопсии) появлялись спустя более 48 ч с момента поступления в стационар. В качестве «контроля» отбирались пациенты, у которых на протяжении всей госпитализации уровень лейкоцитов составлял $< 11 \times 10^9/\text{л}$, прокальцитонин $< 0,5$ нг/мл, а в медицинской карте отсутствовало описание клинических признаков бактериальной инфекции. Для каждого пациента с признаками ВБИ («случай») подбирали пару в соотношении 1:1 среди пациентов без признаков бактериальной инфекции («контроль»), совпадающую со «случаем» по полу,

возрасту (± 2 года), степени поражения лёгких (нет / 1–2 / 3–4 степени по данным компьютерной томографии (КТ) или рентгенографии (РГ) лёгких), исходу («здоров» / «летальный исход») и наличию / отсутствию нарушений углеводного обмена (Рис. 1). При наличии нескольких «случаев» и/или «контроля», совпадающих по всем параметрам, пары подбирались генератором случайных чисел.

Среди 1 296 проанализированных медицинских карт пациентов: в 77 имелись данные о возможной бактериальной инфекции в первые 48 ч после поступления в стационар; в 73 отсутствовали данные, позволяющие подтвердить или исключить возможную бактериальную инфекцию; у 245 пациентов динамика общего анализа крови на фоне терапии системными кортикостероидами была пограничной (лейкоцитоз $11\text{--}12 \times 10^9/\text{л}$). Медицинские карты этих пациентов не включались в дальнейший анализ (см. Рис. 1). В 512 медицинских картах пациентов были выявлены признаки ВБИ, появившиеся спустя 48 ч с момента поступления в стационар («случай»): лейкоцитоз $\geq 12 \times 10^9/\text{л}$, прокальцитонин $\geq 0,5$ нг/мл и/или данные аутопсии (вирусно-бактериальная пневмония). У 389 пациентов на протяжении всей госпитализации уровень лейкоцитов составлял $< 11 \times 10^9/\text{л}$, прокальцитонин $< 0,5$ нг/мл и в медицинской карте отсутствовало описание клинических признаков бактериальной инфекции («контроль»). Среди 512 «случаев» и 389 «контролей» было подобрано 275 пар, совпадающих по полу (мужской / женский), возрасту (допускалось отклонение ± 2 года для достижения необходимого объёма выборки), степени поражения лёгких (нет / 1–2 / 3–4 степени по данным КТ или РГ лёгких), исходу («здоров» / «летальный исход») и наличию / отсутствию нарушений углеводного обмена. Для всех пациентов групп «случай» и «контроль» проводился анализ листов назначений. Было выявлено назначение 6 противовоспалительных ГИБП: тоцилизумаб (Roche, Швейцария); сарилумаб (Sanofi, Франция); олокизумаб (Р-фарм, Россия); левилимаб (Биокад, Россия); нетакимаб (Биокад, Россия); секукинумаб (Novartis, Швейцария). Одним из критериев применения противовоспалительных ГИБП было отсутствие признаков бактериальной инфекции / сепсиса у пациентов перед введением препарата, что подтверждалось при анализе медицинских карт больных с признаками вторичной бактериальной инфекции.

Критерии соответствия

Критериями включения в исследование были: возраст старше 18 лет; информированное согласие на использование и публикацию

персональной медицинской информации в научных целях, подписанное в день госпитализации; подтверждённый диагноз COVID-19; нахождение на стационарном лечении не менее 5 дней; отсутствие клинических признаков бактериальной инфекции в первые 48 ч нахождения в стационаре. Критериями не включения были: наличие клинических признаков бактериальной инфекции в первые 48 ч нахождения в стационаре (77 пациентов), отсутствие данных общего анализа крови или прокальцитонина в динамике (на 5-е и последующие сутки после назначенной фармакотерапии – 73 пациента). Критериями исключения из исследования был лейкоцитоз $11\text{--}12 \times 10^9/\text{л}$ в динамике (на 5-е и последующие сутки после назначенной фармакотерапии – 245 пациентов).

Продолжительность и условия проведения

Исследование выполнено в период с января 2022 по май 2024 гг. на базе кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения (ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, г. Волгоград).

Этическая экспертиза

Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами медицинских исследований с участием человека, изложенными в Хельсинкской декларации. Проведение исследования было одобрено на заседании Локального комитета по этике ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (протокол № 2021/085 от 24.12.2021). У всех пациентов в медицинской карте было получено информированное согласие на использование и публикацию персональной медицинской информации в научных целях, подписанное в день госпитализации.

Статистическая обработка

Минимальный размер выборки для исследования «случай-контроль» с использованием метода подбора пар проводился с помощью онлайн-калькулятора¹. Статистическая мощность 95% для ожидаемого ОШ 2,0, вероятности ошибки менее 5,0% и ожидаемой доли «экспонированных» лиц среди «контролей» – 15% (1/2 от средней частоты применения ГИБП в стационаре) наблюдалась при достижении размера выборки в 272 пары, подобранных 1:1 (544 человека).

Для статистической обработки данных исследования использовались методы

¹ sampsizе.sourceforge.net. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://sampsizе.sourceforge.net/iface/s3.html>

параметрической и непараметрической статистики с помощью пакета прикладных программ STATISTICA v10.0 («StatSoft Inc.», США), Microsoft Excel 2010 для Windows, и статистическое программное обеспечение для эпидемиологии, разработанное Центрами по контролю и профилактике заболеваний США Epi Info™ Version 7.2². Количественные признаки (возраст, койко-день, процент поражения лёгких, данные лабораторных исследований) соответствовали нормальному распределению согласно критерию Шапиро–Уилка. Их описывали в виде среднего арифметического (M) ± стандартного отклонения (σ), а проверку статистической значимости между исследуемыми группами по данным признакам проводили с использованием t -критерия Стьюдента. Качественные признаки описывали с помощью абсолютных значений (n) и долей (%), а проверку статистической значимости между исследуемыми группами по данным признакам проводили с использованием критерия χ^2 Пирсона. Связь между появлением признаков ВБИ и приёмом ГИБП определяли на основании ОШ и 95% ДИ. В исследовании «случай–контроль» с использованием метода подобранных пар определяли количество пар, в которых фактор риска (приём любого или конкретного ГИБП) присутствовал как в «случае», так и в «контроле» (случай+, контроль+), количество пар, в которых фактор риска присутствовал только в «случае» (случай+, контроль-), количество пар, в которых фактор риска присутствовал только в «контроле» (случай-, контроль+) и количество пар, в которых фактор риска отсутствовал (случай-, контроль-) [19]. Значимость различия между группами «случаев» и «контролей» в исследовании «случай–контроль» с помощью метода подобранных пар определяли с помощью критерия Мак-Немара. Статистически значимой считалась разница при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Участники исследования

Среди пациентов с признаками ВБИ доля мужчин и лиц с сопутствующей гипертонической болезнью, перенесших инфаркт миокарда или инсульт, была выше по сравнению с пациентами без признаков инфекции (табл. 1).

Пациенты с признаками ВБИ дольше находились на стационарном лечении, имели больший процент поражения лёгких по данным КТ и/или РГ и чаще умирали (ОШ для ЛИ 5,64; 95% ДИ от 3,54 до 8,98). Были выявлены различия в структуре основных применяемых препаратов для лечения COVID-19. Так пациенты с признаками ВБИ реже получали противовирусные препараты, при этом

им чаще назначались системные кортикостероиды и антибиотики при поступлении в стационар. Достоверных различий в возрасте пациентов с признаками ВБИ и без – выявлено не было (см. табл. 1). Применение метода подбора пар устранило различия между группами «случай» и «контроль» по основным показателям подбора: пол, степень поражения лёгких и исход заболевания, что сопровождалось устранением статистической разницы между группами по сопутствующим заболеваниям и структуре основных применяемых препаратов (табл. 2). Однако среднее количество койко-дней и процент поражения лёгких были значимо выше в группе «случай» и после подбора пар. У пациентов с признаками ВБИ как исходно, так и после подбора пар, были выше максимальные значения уровня лейкоцитов, прокальцитонина и СРБ (табл. 1 и 2).

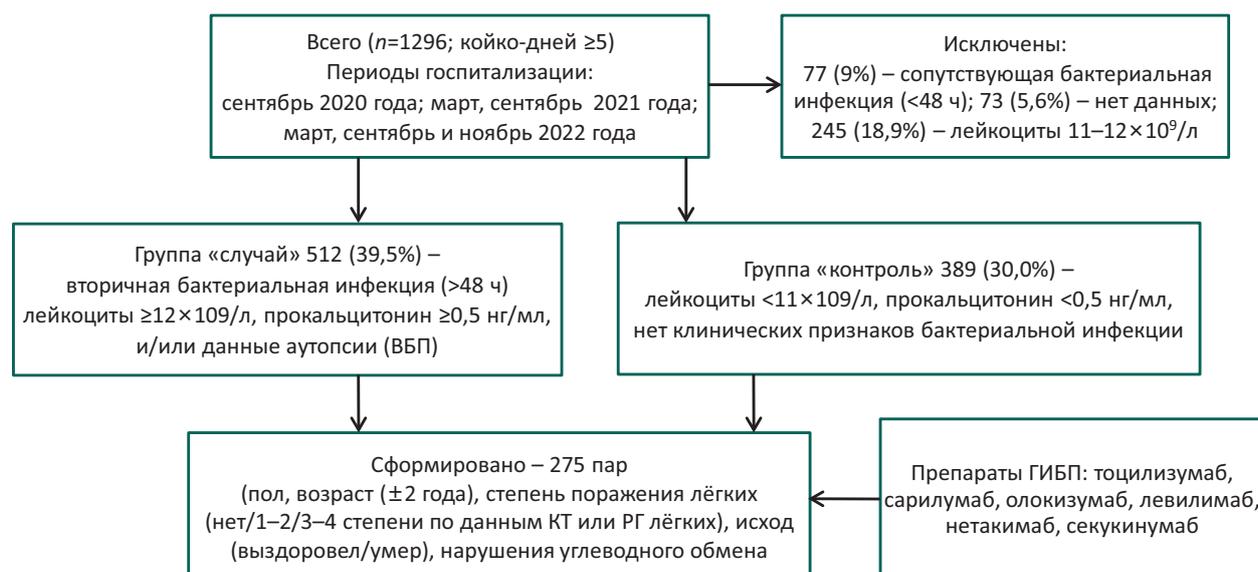
Оценка вероятности обнаружения назначения противовоспалительных ГИБП у пациентов с признаками ВБИ

Назначение хотя бы одного противовоспалительного ГИБП встречалось у 38,2% (196/512) пациентов, у которых в последующем появились признаки ВБИ (группа «случай») и у 26,2% (102/389) пациентов без признаков инфекции на протяжении всей госпитализации (группа «контроль»). Последовательно получали 2 разных противовоспалительных ГИБП 14 пациентов группы «случай» и 4 пациента группы «контроль». Среди противовоспалительных ГИБП наиболее часто назначался олокизумаб – 173/316 назначений (54,7%), левилимаб – 84/316 (26,6%), тоцилизумаб – 49/316 (15,5%). Сарилумаб получали 7 пациентов, нетакимаб – 2 и секукинумаб – 1 пациент (табл. 3).

В связи с высокой частотой появления признаков ВБИ у пациентов, госпитализированных с COVID-19, только для 53,7% «случаев» удалось подобрать пару «контроль», идентичную по полу, возрасту (± 2 года), степени тяжести и исходу COVID-19, наличию или отсутствию нарушений углеводного обмена. Наибольшее количество «случаев», для которых не удалось подобрать пару, были отмечены среди самых молодых или самых пожилых пациентов. Для пациентов, получавших нетакимаб и секукинумаб, не удалось подобрать пару, а частота назначения сарилумаба была крайне низкой для расчёта ОШ (табл. 4).

Вероятность обнаружения назначения любого противовоспалительного ГИБП и левилимаба был значимо выше у пациентов с признаками ВБИ как в классическом исследовании «случай–контроль» (табл. 3), так и в исследовании «случай–контроль» методом подбора пар (табл. 4).

² Epi Info™. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>

**Рисунок 1 – Дизайн исследования**

Примечание: ВБП – вирусно-бактериальная пневмония; КТ – компьютерная томография; РГ – рентгенография; ГИБП – генно-инженерные биологические препараты.

Таблица 1 – Исходная характеристика пациентов

Показатель	«случай» n=512		«контроль» n=389		p
	есть		нет		
Признаки бактериальной инфекции					
Мужчины / Женщины, n (%)	211/301 (41,2/58,8)		120/269 (30,8/69,2)		0,002
Средний возраст, лет, M±σ	65,5±14,6		64,7±15,9		0,432
Койко-день, M±σ	15,3±7,5		12,1±5,6		<0,001
Процент поражения лёгких, M±σ	44,8±23,1		29,5±23,5		<0,001
Поражение лёгких нет / КТ(РГ)1-2 / КТ(РГ)3-4, n (%)	35/253/224 (6,8/49,4/43,8)		93/224/72 (23,9/57,6/18,5)		<0,001
Выздоровел / умер, n (%)	378/134 (73,8/26,2)		366/23 (94,1/5,9)		<0,001
Гипертоническая болезнь, n (%)	366 (71,5)		252 (64,8)		0,032
Фибрилляция предсердий, n (%)	74 (14,5)		43 (11,1)		0,133
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	55 (10,7)		25 (6,4)		0,025
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе, n (%)	22 (4,3)		20 (5,1)		0,552
Нарушения углеводного обмена, n (%)	166 (32,4)		114 (29,3)		0,317
Лейкоциты* 10 ⁹ /л, M±σ	17,0±6,2		8,3±1,8		<0,001
Прокальцитонин*, нг/мл, M±σ	2,1±8,2		0,2±0,2		<0,001
СРБ* мг/мл, M±σ	164,2±162,3		76,4±111,8		<0,001
Противовирусные препараты, n (%)	201 (39,3)		220 (56,6)		<0,001
Системные кортикостероиды, n (%)	478 (93,4)		337 (86,6)		<0,001
Антикоагулянты, n (%)	501 (97,9)		376 (96,7)		0,271
Антибиотики при поступлении, n (%)	307 (59,9)		172 (44,2)		<0,001

Примечание: * – максимальное значение в медицинской карте за период госпитализации, p – критерий Стьюдента для количественных признаков, критерий χ^2 Пирсона для качественных признаков; M – среднее арифметическое; σ – стандартное отклонение; КТ – компьютерная томография; РГ – рентгенография лёгких; СРБ – С-реактивный белок. Значения p < 0,05 выделены полужирным шрифтом.

Таблица 2 – Исходная характеристика подобранных пар пациентов

Показатель	«случай» (n=275)		«контроль» (n=275)		p
	есть		нет		
Признаки бактериальной инфекции					
Мужчины/Женщины, n (%)	91/184 (33,1/66,9)		91/184 (33,1/66,9)		1,000
Средний возраст, лет, M±σ	66,3±13,9		66,2±13,9		0,898
Койко-день, M±σ	16,0±7,1		12,4±5,5		<0,001
Процент поражения лёгких, M±σ	39,1±21,6		35,0±21,9		0,035
Поражение лёгких нет / КТ(РГ)1-2 / КТ(РГ)3-4, n (%)	19/184/72 (6,9/66,9/26,2)		19/184/72 (6,9/66,9/26,2)		1,000
Выздоровел/умер, n (%)	253/22 (92,0/8,0)		253/22 (92,0/8,0)		1,000
Гипертоническая болезнь, n (%)	199 (72,4)		180 (65,5)		0,079
Фибрилляция предсердий, n (%)	37 (13,5)		32 (11,6)		0,520
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	23 (8,4)		20 (7,3)		0,634
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе, n (%)	9 (3,3)		17 (6,2)		0,108
Нарушения углеводного обмена, n (%)	77 (28,0)		77 (28,0)		1,000
Лейкоциты* 10 ⁹ /л, M±σ	16,6±5,8		8,4±1,8		<0,001
Прокальцитонин*, нг/мл, M±σ	1,5±4,9		0,2±0,2		0,006
СРБ* мг/мл, M±σ	148,3±151,5		82,1±109,6		<0,001
Противовирусные препараты, n (%)	117 (42,5)		138 (50,2)		0,073
Системные кортикостероиды, n (%)	257 (93,5)		252 (91,6)		0,417
Антикоагулянты, n (%)	272 (98,9)		268 (97,6)		0,202
Антибиотики при поступлении (%)	142 (51,6)		122 (44,4)		0,088

Примечание: * – максимальное значение в медицинской карте за период госпитализации; p – критерий Стьюдента для количественных признаков, критерий χ^2 Пирсона для качественных признаков; M – среднее арифметическое; σ – стандартное отклонение; КТ – компьютерная томография; РГ – рентгенография лёгких; СРБ – С-реактивный белок. Значения p < 0,05 выделены полужирным шрифтом.

Таблица 3 – Вероятность обнаружения назначения противовоспалительных генно-инженерных противовоспалительных препаратов у пациентов с признаками вторичной бактериальной инфекции

Фактор риска	«случай» (n=512)		«контроль» (n=389)		ОШ	95% ДИ	p
	+	-	+	-			
Любой ГИБП	196	316	102	287	1,75	1,31, 2,33	<0,001
Тоцилизумаб	33	479	16	373	1,61	0,87, 2,96	0,126
Сарилумаб	6	506	1	388	4,60	0,55, 38,37	0,121
Олоклизумаб	107	406	66	323	1,29	0,92, 1,81	0,142
Левилимаб	61	451	23	365	2,15	1,30, 3,54	0,002
Нетакимаб	2	510	0	389	-	-	-
Секукинумаб	1	511	0	389	-	-	-

Примечание: p – критерий χ^2 Пирсона; ГИБП – генно-инженерные биологические препараты; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал. Значения ОШ и p при уровне значимости < 0,05 (выделены полужирным шрифтом).

Таблица 4 – Вероятность обнаружения назначения противовоспалительных генно-инженерных противовоспалительных препаратов у пациентов с признаками вторичной бактериальной инфекции (метод подбора пар)

Фактор риска	Количество пар, подверженных (+) и не подверженных (-) фактору риска				ОШ	95% ДИ	p
	«случай» +	«случай» -	«контроль» +	«контроль» -			
Любой ГИБП	45	65	27	138	2,41	1,54, 3,77	<0,001
Тоцилизумаб	2	14	8	251	1,75	0,73, 4,17	0,201
Сарилумаб	0	2	1	272	-	-	-
Олоклизумаб	22	41	32	180	1,28	0,81, 2,03	0,292
Левилимаб	2	31	9	233	3,44	1,64, 7,23	<0,001

Примечание: p – критерий Мак-Немара; ГИБП – генно-инженерные биологические препараты; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал. Значения ОШ и p при уровне значимости < 0,05 (выделены полужирным шрифтом).

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то, что для COVID-19 по сравнению с вирусом гриппа, характерна более низкая частота бактериальных осложнений, широкое применение иммуносупрессоров для борьбы с цитокиновым штормом, ассоциировано с более высоким риском возникновения вторичных бактериальных осложнений, как показывает наше исследование и ряд других [20–22]. В ретроспективном одноцентровом когортном исследовании 2020 г. [20] с подбором групп в соотношении 2:1 (74 пациента получали тоцилизумаб, 148 – стандартную терапию) применение тоцилизумаба у пациентов с тяжёлым и крайне тяжёлым течением COVID-19 было ассоциировано с меньшей летальностью, но с большей длительностью госпитализации. Увеличение сроков госпитализации R. Rossotti и соавт. связывают, в том числе, и с развитием инфекционных осложнений, которые наблюдались у 32,4% пациентов, получающих тоцилизумаб [20]. V. Minihan и соавт. [21] на основании ретроспективного анализа медицинских карт больных, госпитализированных с тяжёлым и крайне тяжёлым течением COVID-19, пришли к выводу о том, что серьёзные бактериальные и грибковые инфекции возникали среди 41 пациента, получивших тоцилизумаб, по сравнению с 33 пациентами, получавшими стандартную терапию (ОШ=2,67; 95% ДИ 1,04-6,86; $p=0,042$). V. Moreno-Torres и соавт. [22] изучали распространённость и факторы риска возникновения бактериальных инфекций у 1594 госпитализированных больных COVID-19. Пациенты с бактериальной инфекцией (135/1594) чаще получали тоцилизумаб по сравнению с пациентами без признаков бактериальной инфекции (40% против 16,9%, $p < 0,001$) [21]. Не во всех исследованиях, посвящённых изучению бактериальных инфекций у больных COVID-19, описана методика диагностики этих осложнений. Однако в исследовании V. Moreno-Torres и соавт. [21], как и в нашем исследовании, указано, что у лиц, у которых невозможно было провести бактериологическое исследование, критериями для подтверждения бактериальной инфекции являлись нейтрофильный лейкоцитоз и повышение уровня прокальцитонина.

Не во всех исследованиях выявлена достоверная связь применения тоцилизумаба и бактериальных осложнений. Так в ретроспективном когортном исследовании с подобранными группами 1:1 (59 пациентов получали терапию тоцилизумабом), не было выявлено достоверных различий в частоте развития ВБИ и грибковых инфекций [23]. В нашем исследовании несмотря на то, что применение любого ГИБП достоверно чаще встречалось у пациентов с признаками ВБИ для тоцилизумаба, данная тенденция не достигла уровня достоверности (см. табл. 3 и 4).

Тоцилизумаб – первый представитель ГИБП блокаторов рецептора интерлейкина-6, вместе с биосимиляром сарилумабом входит в международные рекомендации по ведению больных COVID-19 [24]. Большинство данных об эффективности и безопасности противовоспалительных ГИБП получено именно для тоцилизумаба [20–24]. В 2020 году два отечественных биосимиляра олокизумаб и левилимаб были разрешены для применения на территории РФ и стали использоваться в качестве альтернативы тоцилизумаба. Именно эти два ГИБП наиболее часто применялись в изучаемом нами стационаре, однако достоверная связь между развитием ВБИ и применением ГИБП была выявлена только для левилимаба. Мишенью действия олокизумаба является непосредственно интерлейкин-6, избыток которого циркулирует в плазме крови при развитии «цитокинового шторма», в то время как левилимаб, аналогично тоцилизумабу и сарилумабу, блокирует рецепторы интерлейкина-6 на иммунокомпетентных клетках. Возможно, различие в механизме действия олокизумаба по сравнению с другими антицитокиновыми препаратами, а именно – блокада избытка свободно циркулирующего интерлейкина-6, а не его рецептора на иммунокомпетентных клетках, обуславливает более низкую частоту развития бактериальных осложнений вследствие иммуносупрессивной терапии. Данный факт требует дальнейшего изучения не только у пациентов с COVID-19, но и у пациентов с ревматоидным артритом и другими системными воспалительными заболеваниями соединительной ткани.

Ограничения исследования

Основное ограничение нашего исследования является общим для всех анализов типа «случай-контроль» по сравнению с рандомизированными контролируемыми испытаниями: хотя выбор подходящей контрольной группы кажется эффективным, полностью исключить вероятность систематической ошибки отбора нельзя. Ретроспективный характер исследования также снижает достоверность наблюдений, а выявление ВБИ основывается преимущественно на клинических данных, а не данных бактериологического исследования. Большинство пациентов при поступлении в стационар получали эмпирическую антибактериальную терапию, в результате чего бактериологическое исследование не проводилось или результаты были неинформативны, а показатели уровней прокальцитонина могли быть занижены на фоне терапии иммуносупрессорами, как это было показано в исследовании E.J. Kooistra и соавт. [25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение любого противовоспалительного ГИБП было ассоциировано с появлением признаков

ВБИ (ОШ=2,41; 95% ДИ от 1,54 до 3,77; $p < 0,001$): для левилимаба ОШ=3,44 (95% ДИ от 1,64 до 7,23; $p < 0,001$), для тоцилизумаба – ОШ=1,75 (95% ДИ от 0,73 до 4,17; $p=0,201$), для олокизумаба – ОШ=1,28 (95% ДИ от 0,81 до 2,03; $p=0,292$). Среди трёх препаратов (тоцилизумаб, олокизумаб, левилимаб), по данным проведённого

исследования, наибольшей безопасностью в отношении появления признаков ВБИ обладает отечественный препарат олокизумаб. Стоит отметить, что, несмотря на вышесказанное, требуется дальнейшее изучение рисков развития бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19 на фоне применения противовоспалительных ГИБП.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

В.И. Петров – разработка дизайна исследования, редактирование и окончательное утверждение текста статьи; А.Ю. Рязанова – обработка данных, написание текста статьи и окончательное утверждение статьи; Н.С. Токарева – сбор материала, обработка данных и окончательное утверждение текста 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. Егоров А.Ю. Проблема бактериальных осложнений при респираторных вирусных инфекциях // *Microbiology Independent Research Journal*. – 2018. – Т. 5, № 1. – С. 1–11. DOI: 10.18527/2500-2236-2018-5-1-1-11
2. Morens D.M., Taubenberger J.K., Fauci A.S. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness // *J Infect Dis*. – 2008. – Vol. 198, No. 7. – P. 962–970. DOI: 10.1086/591708
3. Farrell J.M., Zhao C.Y., Tarquinio K.M., Brown S.P. Causes and Consequences of COVID-19-Associated Bacterial Infections // *Front Microbiol*. – 2021. – Vol. 12. – P. 682571. DOI: 10.3389/fmicb.2021.682571
4. Chieng Yeo C., Teo J., Clarke S.C., Morris D.E., Cleary D.W. Secondary Bacterial Infections Associated with Influenza Pandemics // *FrontMicrobiol*. – 2012. – Vol. 8. – P. 1041. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01041
5. Mirzaei R., Goodarzi P., Asadi M., Soltani A., Aljanabi H.A.A., Jeda A.S., Dashtbin S., Jalalifar S., Mohammadzadeh R., Teimoori A., Tari K., Salari M., Ghiasvand S., Kazemi S., Yousefimashouf R., Keyvani H., Karampoor S. Bacterial co-infections with SARS-CoV-2 // *IUBMB Life*. – 2020. – Vol. 72, No. 10. – P. 2097–2111. DOI: 10.1002/iub.2356
6. Langford B.J., So M., Raybardhan S., Leung V., Westwood D., MacFadden D.R., Soucy J.R., Daneman N. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis // *Clin Microbiol Infect*. – 2020. – Vol. 26, No. 12. – P. 1622–1629. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.07.016.
7. Chong W.H., Saha B.K., Ananthakrishnan Ramani, Chopra A. State-of-the-art review of secondary pulmonary infections in patients with COVID-19 pneumonia // *Infection*. – 2021. – Vol. 49, No. 4. – P. 591–605. DOI: 10.1007/s15010-021-01602-z
8. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., Xiang J., Wang Y., Song B., Gu X., Guan L., Wei Y., Li H., Wu X., Xu J., Tu S., Zhang Y., Chen H., Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395, No. 10229. – P. 1054–1062. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3
9. Wang L., He W., Yu X., Hu D., Bao M., Liu H., Zhou J., Jiang H. Coronavirus disease 2019 in elderly patients: Characteristics and prognostic factors based on 4-week follow-up // *J Infect*. – 2020. – Vol. 80, No. 6. – P. 639–645. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.03.019
10. Ferrando C., Mellado-Artigas R., Gea A., Arruti E., Aldecoa C., Bordell A., Adalia R., Zattera L., Ramasco F., Monedero P., Maseda E., Martínez A., Tamayo G., Mercadal J., Muñoz G., Jacas A., Ángeles G., Castro P., Hernández-Tejero M., Fernandez J., Gómez-Rojo M., Candela Á., Ripollés J., Nieto A., Bassas E., Deiros C., Margarit A., Redondo F.J., Martín A., García N., Casas P., Morcillo C., Hernández-Sanz M.L.; de la Red de UCI Española para COVID-19. Patient characteristics, clinical course and factors associated to ICU mortality in critically ill patients infected with SARS-CoV-2 in Spain: A prospective, cohort, multicentre study // *Rev Esp Anestesiol Reanim (Engl Ed)*. – 2020. – Vol. 67, No. 8. – P. 425–437. English, Spanish. DOI: 10.1016/j.redar.2020.07.003
11. DeJager L., Vandevyver S., Ballegeer M., Van Wouterghem E., An L.L., Riggs J., Kolbeck R., Libert C. Pharmacological inhibition of type I interferon signaling protects mice against lethal sepsis // *J Infect Dis*. – 2014. – Vol. 209, No. 6. – P. 960–970. DOI: 10.1093/infdis/jit600.
12. Li W., Moltedo B., Moran T.M. Type I interferon induction during influenza virus infection increases susceptibility to secondary Streptococcus pneumoniae infection by negative regulation of gammadelta T cells // *J Virol*. – 2012. – Vol. 86, No. 22. – P. 12304–12312. DOI: 10.1128/JVI.01269-12
13. Shahangian A., Chow E.K., Tian X., Kang J.R., Ghaffari A., Liu S.Y., Belperio J.A., Cheng G., Deng J.C. Type I IFNs mediate development of postinfluenza bacterial pneumonia in mice // *J Clin Invest*. – 2009. – Vol. 119, No. 7. – P. 1910–1920. DOI: 10.1172/JCI35412
14. Петров В.И., Рязанова А.Ю., Некрасов Д.А., Свинухов В.И., Привальцева Н.С. Вопросы

- безопасности терапии тоцилизумабом и другими ингибиторами интерлейкинов // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2022. – Т. 10, № 1. – С. 34–47. DOI: 10.30895/2312-7821-2022-10-1-34-47
15. Schiff M.H., Kremer J.M., Jahreis A., Vernon E., Isaacs J.D., van Vollenhoven R.F. Integrated safety in tocilizumab clinical trials // *Arthritis Res Ther.* – 2011. – Vol. 13, No. 5. – P. R141. DOI: 10.1186/ar3455
 16. Saki A., Rajaei E., Rahim F. Safety and efficacy of tocilizumab for rheumatoid arthritis: a systematic review and metaanalysis of clinical trial studies // *Reumatologia/Rheumatology.* – 2021. – Vol. 59, No. 3. – P. 169–179. DOI: 10.5114/reum.2021.107026
 17. Choy E., Freemantle N., Proudfoot C., Chen C.I., Pollissard L., Kuznik A., Van Hoogstraten H., Mangan E., Carita P., Huynh T.M. Evaluation of the efficacy and safety of sarilumab combination therapy in patients with rheumatoid arthritis with inadequate response to conventional disease-modifying antirheumatic drugs or tumour necrosis factor α inhibitors: systematic literature review and network meta-analyses // *RMD Open.* – 2019. – No. 5. – P. e000798. DOI: 10.1136/rmdopen-2018-000798
 18. Rutherford A.I., Subesinghe S., Hyrich K.L., Galloway J.B. Serious infection across biologic-treated patients with rheumatoid arthritis: results from the british society for rheumatology biologics register for rheumatoid arthritis // *Ann Rheum Dis.* – 2018. – Vol. 77, No. 6. – P. 905–910. DOI: 10.1136/annrheumdis-2017-212825
 19. Гржибовский А.М., Иванов С.В., Горбатова М.А. Исследования типа «Случай-контроль» в здравоохранении // *Наука и здравоохранение.* – 2015. – Т. 4. – С. 5–17.
 20. Rossotti R., Travi G., Ughi N., Corradin M., Baiguera C., Fumagalli R., Bottiroli M., Mondino M., Merli M., Bellone A., Basile A., Ruggeri R., Colombo F., Moreno M., Pastori S., Perno C.F., Tarsia P., Epis O.M., Puoti M.; Niguarda COVID-19 Working Group. Safety and efficacy of anti-il6-receptor tocilizumab use in severe and critical patients affected by coronavirus disease 2019: A comparative analysis // *J Infect.* – 2020. – Vol. 81, No. 4. – P. e11–e17. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.07.008
 21. Minihan B., McAuliffe E., Powell J., Wong S.L., Wilkie K., Murphy C., Maher A., Power L., O'Connell N.H., Dunne C.P. Association between tocilizumab treatment of hyperinflammatory patients with COVID-19 in a critical care setting and elevated incidence of hospital-acquired bacterial and invasive fungal infections // *J Hosp Infect.* – 2022. – Vol. 126. – P. 29–36. DOI: 10.1016/j.jhin.2022.04.007.
 22. Moreno-Torres V., de Mendoza C., de la Fuente S., Sánchez E., Martínez-Urbistondo M., Herráiz J., Gutiérrez A., Gutiérrez Á., Hernández C., Callejas A., Maínez C., Royuela A., Cuervas-Mons V.; Puerta de Hierro COVID-19 working group. Bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19 // *Intern Emerg Med.* – 2022. – Vol. 17, No. 2. – P. 431–438. DOI: 10.1007/s11739-021-02824-7
 23. Moore J.L., Stroever S.J., Rondain P.E., Scatena R.N. Incidence of Secondary Bacterial Infections Following Utilization of Tocilizumab for the Treatment of COVID-19 – A Matched Retrospective Cohort Study // *J Glob Infect Dis.* – 2021. – Vol. 13, No. 2. – P. 67–71. DOI: 10.4103/jgid.jgid_358_20
 24. Agarwal A., Hunt B., Stegemann M., Rochweg B., Lamontagne F., Siemieniuk R.A., Agoritsas T., Askie L., Lytvyn L., Leo Y.S., Macdonald H., Zeng L., Alhadyan A., Muna A., Amin W., da Silva A.R.A., Aryal D., Barragan F.A.J., Bausch F.J., Burhan E., Calfee C.S., Cecconi M., Chacko B., Chanda D., Dat V.Q., De Sutter A., Du B., Freedman S., Geduld H., Gee P., Haider M., Gotte M., Harley N., Hashimi M., Hui D., Ismail M., Jehan F., Kabra S.K., Kanda S., Kim Y.J., Kisson N., Krishna S., Kuppalli K., Kwizera A., Lado Castro-Rial M., Lisboa T., Lodha R., Mahaka I., Manai H., Mendelson M., Migliori G.B., Mino G., Nsutebu E., Peter J., Preller J., Pshenichnaya N., Qadir N., Ranganathan S.S., Relan P., Rylance J., Sabzwari S., Sarin R., Shankar-Hari M., Sharland M., Shen Y., Souza J.P., Swanstrom R., Tshokey T., Ugarte S., Uyeki T., Evangelina V.C., Venkatapuram S., Vuyiseka D., Wijewickrama A., Tran L., Zeraatkar D., Bartoszko J.J., Ge L., Brignardello-Petersen R., Owen A., Guyatt G., Diaz J., Kawano-Dourado L., Jacobs M., Vandvik P.O. A living WHO guideline on drugs for COVID-19 // *BMJ.* – 2022. – Vol. 377. – P. o1045. DOI: 10.1136/bmj.o1045
 25. Kooistra E.J., van Berkel M., van Kempen N.F., van Latum C.R.M., Bruse N., Frenzel T., van den Berg M.J.W., Schouten J.A., Kox M., Pickkers P. Dexamethasone and tocilizumab treatment considerably reduces the value of C-reactive protein and procalcitonin to detect secondary bacterial infections in COVID-19 patients // *Crit Care.* – 2021. – Vol. 25, No. 1. – P. 281. DOI: 10.1186/s13054-021-03717-z

АВТОРЫ

Петров Владимир Иванович – доктор медицинских наук, профессор, 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; академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-0258-4092. E-mail: brain@sprintnet.ru

Рязанова Анастасия Юрьевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-4778-5015. E-mail: nastasyakus@mail.ru

Токарева Наталья Сергеевна – ассистент, аспирант кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID: 0000-0002-2578-6228 E-mail: nata5847@yandex.ru

УДК 57.085.1:615.038



Анализ эффективности действия митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 на модели ишемии и реперфузии миокарда крыс. Акцент на морфологическом и ультраструктурном исследовании ткани

Е.А. Сенокосова¹, Е.А. Великанова¹, Р.А. Мухамадияров¹, О.Д. Сидорова²,
Е.О. Кривкина¹, Л.В. Антонова¹, Е.В. Григорьев¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»,
650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый б-р, д. 6

² Государственное бюджетное профессиональное образовательное учреждение
«Кузбасский медицинский колледж»,
650991, Россия, г. Кемерово, ул. Николая Островского, д. 10

E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

Получена 06.02.2024

После рецензирования 11.10.2024

Принята к печати 20.11.2024

Митохондриально-направленный антиоксидант SkQ1 демонстрирует высокую эффективность на разных экспериментальных моделях и может занять важное место в минимизации постоперационных осложнений при проведении операций на открытом сердце в условиях искусственного кровообращения или консервации трансплантата.

Цель. Оценить степень сохранности и изменений изолированного сердца крысы, которое подверглось длительной кардиоплегической ишемии, при условии донации разных концентраций SkQ1.

Материалы и методы. Исследование эффективности SkQ1 (12 нг/мл, 120 нг/мл и контрольная группа – без донации SkQ1) проведено на модели изолированного сердца крыс линии Wistar ($n=15$) по Лангендорфу. Провели биохимический анализ (супероксиддисмутаза 2 [СОД-2], малонового диальдегида [МДА] тропонин-I, сердечного белка, связывающего жирные кислоты [с-БСЖК]), гистологию ткани (окраска гематоксилин-эозином), сканирующую электронную микроскопию в обратно-рассеянных электронах и иммунофлуоресцентную окраску на цитохром С и редуктазу цитохрома Р-450. Количественные данные обрабатывали в программе GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, США).

Результаты. Наибольшая сохранность ткани миокарда выявлена при поддержке SkQ1 в концентрации 12 нг/мл: наименьшие концентрации МДА (49,5 [41,1; 58,9] мкмоль/г), тропонин-I (22,3 [20,3; 23,9] пг/мл), с-БСЖК (0,8 [0,6; 16,0] нг/мл) логично сочетались с обширными зонами с сохранением поперечной исчерченности, умеренным интерстициальным отёком. Также выявлены недеформированные митохондрии, расположенные между сократительными волокнами, иммунофлуоресценция цитохрома С была распределена локально, интенсивность свечения на 40% выше в сравнении с контролем ($p < 0,0001$). Увеличение концентрации SkQ1 до 120 нг/мл скорее способствовало усугублению окислительного стресса: концентрации МДА (63,8 [62,5; 83,0] мкмоль/г) и с-БСЖК (12,8 [4,1; 15,3] нг/мл) была ближе к контрольным значениям. Миокард данной группы охарактеризован резко выраженным отёком, фрагментацией мышечных волокон, некоторые группы кардиомиоцитов находились в состоянии глыбчатого распада, миоцитолита и внутриклеточного отёка. Цитохром С был распределён равномерно в цитозоле кардиомиоцитов.

Заключение. SkQ1 в концентрации 12 нг/мл проявлял выраженные антиоксидантные свойства в отношении ишемизированного миокарда, что позволило получить более высокую степень сохранности сердечной мышцы в сравнении с применением SkQ1 в концентрации 120 нг/мл, которая усугубила окислительный стресс и структурные изменения ткани.

Ключевые слова: пластомитин; SkQ1; изолированное сердце крысы; окислительный стресс; ишемия-реперфузия; перфузия по Лангендорфу; гистология; сканирующая электронная микроскопия; иммунофлуоресценция

Список сокращений: АФК – активные формы кислорода; АТФ – аденозинтрифосфат; СОД – супероксиддисмутаза; ОС – окислительный стресс; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ИК – искусственное кровообращение; SkQ1 – ионы Скулачёва с пластохиноном; МДА – малоновый диальдегид; с-БСЖК – сердечный белок, связывающий жирные кислоты; ИФА – иммуноферментный анализ; СЭМ – сканирующая электронная микроскопия.

Для цитирования: Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова, Р.А. Мухамадияров, О.Д. Сидорова, Е.О. Кривкина, Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев. Анализ эффективности действия митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 на модели ишемии и реперфузии миокарда крыс. Акцент на морфологическом и ультраструктурном исследовании ткани. *Фармация и фармакология*. 2024;12(3):219-230. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-219-230

© Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова, Р.А. Мухамадияров, О.Д. Сидорова, Е.О. Кривкина, Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев, 2024

For citation: E.A. Senokosova, E.A. Velikanova, R.A. Mukhamadiyarov, O.D. Sidorova, E.O. Krivkina, L.V. Antonova, E.V. Grigoriev. Analysis of mitochondrial-targeted antioxidant skq1 effectiveness on myocardial ischemia-reperfusion injury in a rat model: Focus on morphological and ultrastructural tissue study. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(3):219-230. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-219-230

Analysis of mitochondrial-targeted antioxidant SkQ1 effectiveness on myocardial ischemia-reperfusion injury in a rat model: Focus on morphological and ultrastructural tissue study

E.A. Senokosova¹, E.A. Velikanova¹, R.A. Mukhamadiyarov¹, O.D. Sidorova²,
E.O. Krivkina¹, L.V. Antonova¹, E.V. Grigoriev¹

¹ Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
6 Barbarash Blvd., Kemerovo, Russia, 650002

² Kuzbass Medical College,
10 N. Ostrovskiy Str., Kemerovo, Russia, 650991

E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

Received 06 Feb 2024

After peer review 11 Oct 2024

Accepted 20 Nov 2024

Mitochondrial-targeted antioxidant SkQ1 demonstrates a high efficiency in animal models and potentially can be used for minimizing postoperative complications in an on-pump open-heart surgery.

The aim of study was to the assessment of preservation degree and changes in the isolated rat heart characterized by prolonged cardioplegic ischemia, under the condition of donation of different SkQ1 concentrations.

Material and methods. Isolated Langendorff-perfused rat hearts of Wistar line ($n=15$) were included in the presented study; the effectiveness of 12 ng/mL and 120 ng/mL of SkQ1 was analyzed. A biochemical analysis (superoxide dismutase 2 [SOD2], malondialdehyde [MDA], Troponin-I, heart-type fatty acid-binding protein [H-FABP]), a histological analysis of tissues (hematoxylin and eosin staining), scanning electron microscopy using backscattered electrons and immunofluorescence staining for cytochrome C and cytochrome P450 reductase were performed. The quantitative data were processed using GraphPad Prism 7 (Graph Pad Software, USA).

Results. The optimal myocardial preservation was discovered while using 12 ng/mL of SkQ1: the lowest concentrations of MDA (49.5 [41.1; 58.9] mmol/g), Troponin-I (22.3 [20.3; 23.9] pg/mL) and H-FABP (0.8 [0.6; 16.0] ng/mL) were associated with extensive areas of tissues with preserved transverse dark and light bands and a moderate interstitial edema. Moreover, non-deformed mitochondria were located mainly between the contractile fibers. Cytochrome C immunofluorescence was distributed locally, the luminescence intensity was 40% higher compared to the control group ($p < 0.0001$). Increasing SkQ1 concentration to 120 ng/mL contributed to the aggravation of oxidative stress: MDA (63.8 [62.5; 83.0] mmol/g) and H-FABP (12.8 [4.1; 15.3] ng/mL) concentrations were closer to the control group values. Myocardial tissue in this group was characterized by a pronounced edema and a fragmentation of muscle fibers. There were signs of cardiomyocyte decay, myocytolysis and an intracellular edema. Cytochrome C was distributed evenly.

Conclusion. 12 ng/mL of SkQ1 demonstrates pronounced antioxidant effects in the ischemic myocardium leading to a higher degree preservation of the heart muscle compared to 120 ng/mL of SkQ1 that was associated with an aggravated oxidative stress and structural changes of the tissue.

Keywords: plastomitin; SkQ1; isolated rat heart; oxidative stress; ischemia-reperfusion injury; Langendorff perfusion; histology; scanning electron microscopy; immunofluorescence

Abbreviations: ROS – reactive oxygen species; ATP – adenosine triphosphate; SOD – superoxide dismutase; OS – oxidative stress; CVDs – coronary vascular diseases; AC – artificial circulation; SkQ1 – Skulachov's ions with plastoquinone; MDA – malondialdehyde; H-FABP – heart-type fatty acid-binding protein; ELISA – enzyme-linked immunoassay; SEM – scanning electron microscopy.

ВВЕДЕНИЕ

Антиоксиданты представляют собой молекулы, которые ингибируют реакции свободных радикалов с другими биологическими молекулами, тем самым поддерживая клеточный окислительно-восстановительный гомеостаз, и, как конечный итог, – антиоксиданты сохраняют функцию и структурную целостность клетки [1]. Свободные радикалы в живых системах (в основном активные формы кислорода [АФК]), в норме образуются в митохондриях при окислительном метаболизме генерации аденозинтрифосфата (АТФ): пероксид водорода, супероксид, синглетный кислород, гидроксильный радикал и некоторые другие [2, 3]. Антиоксиданты разделяются на эндогенные – синтезируемые в

организме (супероксиддисмутазы [СОД], каталаза, глутатионпероксидаза, α -токоферолом, глутатион и другие) [4–6], и экзогенные – синтетические, поступающие в организм с пищей или инъекционным путём (каротиноиды, флавоноиды, ликопин, лютеин, витамины) [7–10].

При многих патологических процессах происходит рост АФК и развитие окислительного стресса (ОС) по механизму обратной связи [11, 12]. Различные сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) несут в себе ОС как звено патологического процесса [13]. ОС оказывает особую нагрузку на миокард при операциях на открытом сердце в условиях искусственного кровообращения (ИК) и вносит свой вклад в процесс послеоперационного восстановления пациента

[14]. Также ОС играет важную роль в пригодности трансплантата: способы консервации изучаются и совершенствуются и в настоящее время [15, 16]. Нарушение баланса «антиоксидант–оксидант» требует дополнительной антиоксидантной поддержки, и, принимая во внимание тот факт, что главенствующая роль митохондрий в генерировании АФК, а именно депонирование в них антиоксидантов, является перспективным направлением в синтезе и изучении митохондриально-направленных антиоксидантов.

В конце 1960-х академик В.П. Скулачёв впервые разработал молекулу, которая успешно накапливалась в митохондриях – это трифенилфосфоний. Дальнейшие исследования привели к выделению целого класса соединений на её основе, которому дали название «ионы Скулачёва» [17].

Наша работа посвящена изучению одного из «самых сильных ионов Скулачёва», особенностью которого является наличие пластохинона (SkQ1) как антиоксидантной составляющей молекулы [18]; в нее также входят декаметиленовый линкер и липофильный катион, которые способствуют успешному проникновению и встраиванию антиоксиданта в мембрану митохондрий [19–21]. Проведение экспериментального исследования *ex vivo* на изолированном сердце крысы позволило смоделировать клиническое состояние миокарда, которое подвергали ИК, изучить изменения на тканевом и клеточном уровнях и определить наиболее эффективную концентрацию SkQ1.

ЦЕЛЬ. Оценить степень сохранности и изменений изолированного сердца крысы, которое подверглось длительной кардиоплегической ишемии, при условии донации разных концентраций SkQ1.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Блок-схема дизайна представлена на рисунке 1.

Продолжительность исследования и условия проведения

Препарат «Пластомитин» (концентрат SkQ1 – 1,7 мг/мл) был предоставлен в рамках договора о научном сотрудничестве с ООО «Митотех» (Москва, Россия). Рабочие растворы SkQ1 были приготовлены путём разведения концентрата перфузионным раствором.

Эксперименты над здоровыми крысами линии Wistar (♂, средняя масса 300±50 г, n=30) проводили в соответствии с правилами Европейской конвенции (Strasbourg, France, 1986). Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. Световой день составлял 8 часов свет и 16 часов животные пребывали без света при влажности 68%. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (протокол № 22 от 10 декабря 2015 г.). Исследование проводили с ноября по декабрь 2022 года на научно-технической базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (Кемерово, Россия).

Перфузию изолированного сердца проводили по Лангендорфу при постоянном давлении столба жидкости 80 см вод. ст. Для перфузии был использован раствор Кребса-Гензелейта (ммоль/л): натрия хлорид – 118,0, натрия гидрокарбонат – 25,0, глюкоза – 11,0, калия хлорид – 4,8, калия гидрофосфат – 1,2, магния сульфат – 1,2; кальция (II) хлорид – 1,2, обогащённый смесью газов – 95% кислорода и 5% оксида углерода (II), pH=7,4 с поддержанием температуры от 37 до 38°C.

Протокол перфузирования

Стабилизацию сокращений сердца (перфузия раствором Кребса-Гензелейта) проводили 20 минут; подключение 2-го потока перфузионного раствора с SkQ1 – 10 минут; гипоперфузию (20 мл/ч) охлаждённым (t=4°C) кардиоплегическим раствором (кустодиол, Dr. F.KOHLER CHEMIE, GmbH, Германия) – 10 минут; глобальную кардиоплегическую ишемию – 240 минут (t=8°C); реперфузию – 30 минут. Сердца первой опытной группы перфузировали двойным потоком раствором Кребса–Гензелейта с SkQ1 в концентрации 120 нг/мл. Сердца второй опытной группы перфузировали аналогично 1 группе с отличием в концентрации SkQ1, которая составила 12 нг/мл.

Сформированные группы

Первая опытная группа сердец «SkQ1 120 нг» (n=10), вторая – «SkQ1 12 нг» (n=10), перфузируемые по вышеописанному протоколу. Контрольная группа (n=10) исключала добавление SkQ1 во 2-й поток перфузионного раствора.

Исследуемые параметры

Биохимические показатели

Методом иммуноферментного анализа измерены митохондриальная супероксиддисмутаза (СОД-2; EU2577, Wuhan Fine Biotech, Китай), сердечный белок, связывающий жирные кислоты (с-БСЖК; НК414, HycultBiotech, Нидерланды), сердечный тропонин (тропонин I; CSB-E08594r, CUSABIO BIOTECH Co., Китай). Малоновый диальдегид (МДА) определен с помощью набора OxiSelect™ TBARS Assay Kit MDA Quantitation (STA-330, Cell Biolabs, США).

Гистология

Эксплантированные образцы фиксировали в 10% забуференном формалине (B06-001/М, ООО «Биовитрум», Россия) в течение 24 ч, затем промывали водой для удаления фиксирующего

раствора и обезвоживали в IsoPrep 06-002/M (ООО «Биовитрум», Россия), оставляя в последней порции на 18 ч. Затем образцы пропитывали 3 порциями парафина при 56°C в течение 60 мин в каждой порции. Пропитанные образцы заливали гистомиксом 247 (ООО «Биовитрум», Россия). Далее изготавливали срезы толщиной 8 мкм с помощью микротомы HM 325 (Thermo Scientific, США), помещали в термостат и сушили 18 ч при 37°C. После образцы депарафинизировали в 3 порциях о-ксилла (103118 АО «ЛенРеактив», Россия) в течение 1–2 мин и дегидратировали в 3 порциях 96% спирта также в течение 1–2 мин. Срезы окрашивали гематоксилином Гарриса (05-004, ООО «Биовитрум», Россия) в течение 15–20 мин, с дальнейшей промывкой в воде до 10 мин. Далее на срез наносили несколько капель эозина (05-011/L, ООО «Биовитрум», Россия) на 30°C и промывали в воде. После срез помещали в 96% спирт. Просветление срезов проводили в о-ксилле несколько минут с его дальнейшим удалением. На последнем этапе срезы заключали в монтирующую среду Витрогель (12-005, ООО «Биовитрум», Россия). Образцы исследовали методом световой микроскопии с использованием микроскопа AXIO Imager A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении объективов $\times 50$, $\times 200$ и $\times 400$.

Сканирующая электронная микроскопия

Образцы фиксировали в 4% забуференном формалине в течение 24 ч, затем постфиксировали 1% тетраоксидом осмия в 0,1 М фосфатном буфере (10010001, Gibco, США) и окрашивали 2% тетраоксидом осмия (7563, Sigma-Aldrich, США) в бидистиллированной воде в течение 48 ч. Далее образцы обезвоживали в серии этанола возрастающей концентрации (50, 60, 70, 80 и 95%), окрашивали 2% уранилацетатом (22400-2, Electron Microscopy Sciences, США) в 95% этаноле, обезвоживали 99,7% изопропанолом (06-002/M, ООО «Биовитрум», Россия) в течение 5 ч и ацетоном (ОКП241811ОНО, ООО АО РЕАХИМ, Россия) в течение 1 ч, пропитывали смесью ацетона с эпоксидной смолой Epon (14910, Electron Microscopy Sciences, США) в соотношении 1:1 (6 ч). После образцы переносили в свежую порцию эпоксидной смолы (на 24 ч) и далее проводили её полимеризацию в емкостях FixiForm (40300085, Struers, Дания) при 60°C. Затем образцы в эпоксидных блоках подвергали шлифовке и полировке на установке TegraPol-11 (60799, Struers, Дания). Контрастирование цитратом свинца проводили по Рейнольдсу в течение 7 мин путём нанесения раствора на поверхность шлифованного образца с последующей его отмывкой бидистиллированной водой. Далее проводили напыление на полированную поверхность эпоксидных блоков углерода (толщина покрытия 10–15 нм) с помощью вакуумного напылительного поста EM ACE200 (Leica, Германия). Визуализацию

структуры образцов проводили при помощи сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах на электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) в режиме BSECOMP при ускоряющем напряжении 10 кВ.

Конфокальная микроскопия

Из замороженных образцов миокарда крыс (8 образцов сердца) с помощью криотома Microm HM 525 (Thermo Scientific, США) готовили серийные криосрезы толщиной 8 мкм с интервалом 100 мкм. Препараты фиксировали в 4% растворе параформальдегида в течение 10 мин. Для пермеабиллизации срезы обрабатывали 0,1% раствором Triton-X100 (Sigma-Aldrich, США) в течение 15 мин. Далее на срезы наносили смесь первичных антител (мышинные антитела к цитохрому С (ab13575, Abcam, Великобритания) и кроличьи антитела к редуктазе цитохрома P-450 (ab180597, Abcam, Великобритания) и икубировали 18 ч при 4°C. Затем срезы промывали и инкубировали со смесью вторичных антител (антитела козы к IgG кролика, конъюгированные с Alexa Fluor 488-conjugated (A11034, Thermo Fisher Scientific, США) и антитела козы к IgG мыши, конъюгированные с Alexa Fluor 555-conjugated (A31570, Thermo Fisher Scientific, США) в течение 1 ч при комнатной температуре. На всех этапах окрашивания для промежуточной отмывки срезов использовали фосфатно-солевой буфер с добавлением 0,1% твина-20 (P9416, Sigma-Aldrich, США). Для удаления автофлуоресценции срезы обрабатывали Autofluorescence Eliminator Reagent (2160, Merck KGaA, Германия) по методике, предложенной производителем. Ядра клеток докрасивали DAPI (10 мкг/мл, D9542, Sigma-Aldrich, США) в течение 30 мин. Готовые препараты заключали под покровное стекло с использованием монтирующей среды ProLong Gold Antifade Mountant (P36930, Thermo Fisher Scientific, США). После высушивания препараты анализировали с помощью конфокального микроскопа LSM700 (Carl Zeiss, Германия).

Для каждого препарата делали снимки 10-ти случайно выбранных полей зрения. Полученные фотографии анализировали с помощью программы ImageJ (Wayne Rasband (NIH), США) и измеряли среднюю интенсивность флуоресцентного сигнала для каждого снимка.

Статистический анализ

Полученные данные обрабатывали в программе GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, США). Характер распределения данных в выборках оценивали по критериям Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. В связи с не нормальностью распределения полученных данных, результаты интерпретировали в виде Me [25%; 75%]. Межгрупповые отличия оценивали с использованием критерия Краскела–

Уоллиса с поправкой Данна. Статистически значимыми считали различия при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биохимические показатели

Супероксиддисмутаза (СОД) – один из важнейших металлосодержащих ферментов клеточной антиоксидантной системы и неотъемлемый критерий оценки ОС. Митохондриальная изоформа (СОД-2) может охарактеризовать локальную антиоксидантную систему клетки и степень дисфункции митохондрий [22–24]. Концентрация СОД-2 после экспериментального моделирования 240-минутной холодовой кардиоплегии не имела статистически значимых отличий между группами с дополнительной антиоксидантной поддержкой и без таковой.

Малоновый диальдегид (МДА) – еще один параметр ОС, продукт окисления ω -3 и ω -6 жирных кислот, реактивный альдегид, может ковалентно связываться с липидами белками и ДНК, тем самым нарушая их функцию, является мутагеном [25–27]. Максимальное количество МДА на 1 г ткани миокарда обнаружено в контрольной группе без поддержки SkQ1 и достигало 70,9 [58,7; 87,8] мкмоль/г. Минимальная концентрация МДА отмечена в группе «SkQ1 12 нг» 49,4 [41,1; 58,9] мкмоль/г, что было статистически значимо ниже контрольных значений ($p=0,02$). Сердечный белок, связывающий жирные кислоты (с-БСЖК), находясь в цитоплазме клеток поперечнополосатой мускулатуры, быстро высвобождается в ответ на повреждающее действие, поэтому является чувствительным ранним маркером ишемического повреждения миокарда [28, 29]. Медиана, отражающая уровень высвобожденного с-БСЖК в миокардиальный отток к концу реперфузии, была ниже в группе «SkQ 12 нг» и достигала 0,8 нг/мл, что более чем на 90% ниже остальных групп исследования, однако, без статистической значимости. Сердечный тропонин – клинический биомаркер диагностики инфаркта миокарда [30]. Концентрация тропонина-I почти на 50% статистически значимо ниже в группах «SkQ1 12 нг» и «SkQ1 120 нг» в сравнении с контрольной группой ($p=0,03$; табл. 1).

Дополнительная антиоксидантная поддержка SkQ1 в концентрации 12 нг/мл отразилась в сдерживании развития ОС и снижении высвобождения маркеров повреждения миокарда в условиях 240-минутной холодовой кардиоплегической ишемии с последующей реперфузией.

Гистологическое исследование

Данные гистологического анализа в большей мере согласуются с биохимическими параметрами. Наиболее выраженные структурные изменения миокарда обнаружены в группе

контроля и «SkQ1 120 нг», которые коснулись как кардиомиоцитов, так и сосудов, и стромы. Так в срезах контрольного миокарда в интерстиции отметили диффузный отёк (Рис. 2А). Сосуды паретически расширены, запустевшие с набухшим эндотелием. В интрамуральных зонах мышечные волокна истончены, дисконкомплексированы, волнообразно деформированы и неравномерно окрашены. В субэпикардальных и субэндокардиальных зонах обширные участки фрагментации мышечных волокон. Цитоплазма кардиомиоцитов гомогенная оксифильная без поперечной исчерченности (Рис. 2Б).

Гистологическая картина при введении в перфузионный раствор SkQ1 120 нг/мл представлена глубокими структурными изменениями, несмотря на установленные биохимические параметры. В миокарде данной группы выявлен резко выраженный отёк (Рис. 2В) преимущественно в периваскулярных пространствах и межмышечных прослойках. Паретическая дилатация сосудов, как и в контроле, с отслойкой эндотелия в некоторых из них. Фрагментация и дисконкомплексация кардиомиоцитов более выражена в субэпикардальных и субэндокардиальных зонах. Фрагментация, истощение мышечных волокон сочетались с их волнистостью и полихромазией. В значительной части нарушена целостность сарколеммы. Выявлены группы кардиомиоцитов в состоянии глыбчатого распада и миоцитолита, а также внутриклеточного отёка. Ядра клеток деформированы, с расплывчатым контуром и диффузным просветлением хроматина, неравномерно увеличены и отёчны. Отмечен очаговый липофусциноз (Рис. 2Г).

Миокард группы «SkQ1 12 нг» имел наименее выраженные и наименее масштабные структурные изменения. Обширные участки компактного расположения кардиомиоцитов чередовались с зонами фрагментации волокон. В интерстиции отмечен умеренный отёк, преимущественно периваскулярный. Ядра кардиомиоцитов хорошо различимы, располагались ближе к центру цитоплазмы, в которой сохранялась поперечная исчерченность. Однако имелись группы клеток с набуханием цитоплазмы и плохо различимыми ядрами с нечёткими контурами (Рис. 2Д и 2Е).

Таким образом, во всех изученных группах выявлены дисциркуляторные, дистрофические и деструктивные изменения миокарда. Однако данные изменения были менее выражены при дополнительной антиоксидантной поддержке изолированных сердец в период аноксии в концентрации SkQ1 12 нг/мл и имели мозаичный характер, сочетаясь с обширными зонами относительно сохранного миокарда.

Сканирующая электронная микроскопия в обратнорассеянных электронах

Снимки образцов с большим увеличением, полученные с применением сканирующей

электронной микроскопии (СЭМ), позволили детализировать внутриклеточные изменения. Без антиоксидантной поддержки SkQ1 отмечали наличие зон со «стёртой» поперечной исчерченностью. В этих зонах митохондрии «слипались» и образовывали электронноплотные структуры, не имеющие четкого разделения на отдельные органеллы. Ядра были сжавшимися, округлой формы без четкой границы, плотно прилегали к электроноплотному содержимому цитоплазмы, хроматин располагался неупорядоченно (Рис. 3А и 3Б). При больших увеличениях наблюдалось нарушение структуры сократительных волокон, не имевших четкой структуры, вероятно, вследствие лизиса (Рис. 3В). Пространство между клетками было расширено и заполнено волокнистым содержимым.

В группе «SkQ1 120 нг» выявлены расширенные пространства между кардиомиоцитами, в которых наблюдали наличие фрагментов капилляров и клеток (Рис. 3Г). В цитоплазме кардиомиоцитов в областях локализации митохондрий обнаружены вакуолеподобные структуры с прозрачным содержимым (Рис. 3Д). Митохондрии имели разнообразную форму и обладали высокой электронной плотностью, часть из них имела поверхностные выросты. Данные органеллы часто образовывали плотные скопления и соседствовали со свободными пространствами. В некоторых участках митохондрии имели тесный контакт с сократительными волокнами (Рис. 3Е). В данной группе ядра кардиомиоцитов были светлые, вытянутые, ядерная мембрана имела неровности, ядрышки и эухроматин практически отсутствовали (Рис. 3Д).

В группе «SkQ1 12 нг» поперечная исчерченность образцов миокарда была хорошо выражена. Сократительные волокна и кардиомиоциты имели высокую сохранность (Рис. 3Ж–И). Митохондрии с четкими границами, в большинстве случаев располагались в виде слоёв между сократительными волокнами (Рис. 3З и 3И). Ядра кардиомиоцитов были вытянутые, поверхность гладкая. Эухроматин располагался пристеночно, ядрышки в центре ядер. Между наружной поверхностью ядра и сократительными волокнами обычно присутствовали свободные пространства.

Подтверждена и детализирована высокая структурная и внутриклеточная сохранность миокарда при антиоксидантной поддержке SkQ1 в концентрации 12 нг/мл.

Конфокальная микроскопия

Цитохром С – глобулярный белок, ковалентно связанный с группой гема. Выполняет множество важных функций. В митохондриальной цепи переноса электронов действует как электронный носитель от комплекса III к комплексу IV [31]. Цитохром С,

высвобождаясь из митохондрии, становится активирующим фактором апоптоза клетки [32]. Распределение и интенсивность свечения цитохрома С в исследуемых образцах тканей отличались в зависимости от концентрации SkQ1. Наиболее выраженное увеличение иммунофлуоресценции было отмечено в обеих группах с антиоксидантной поддержкой, контрольная группа обладала крайне низкой иммунофлуоресценцией. (Рис. 4А–В). Количественный анализ подтвердил визуальные наблюдения: свечение цитохрома С в ткани миокарда группы «SkQ 12 нг» было на 40% статистически значимо выше в сравнении с контролем ($p < 0,0001$; Рис. 4Г). Между опытными группами статистическая разница отсутствовала. Однако стоит отметить, что при антиоксидантной поддержке миокарда SkQ1 в концентрации 12 нг/мл было отмечено наибольшее количество локального увеличения свечения цитохрома С в зонах структурной сохранности ткани. При дозации SkQ1 в 120 нг/мл иммунофлуоресценция цитохрома С была относительно равномерной, что может говорить о высвобождении фермента в цитозоль.

Редуктаза цитохрома Р-450 (POR) входит в систему цитохрома Р-450, локализуется в мембране гладкого эндоплазматического ретикулума. Фермент необходим для переноса электронов от NADP к цитохрому Р-450 в микросомах, а также к гемоксигеназе и цитохрому В5 [33]. POR визуально слабо дифференцирована в ткани и не имела статистических различий между группами сравнения (Рис. 4А–Г).

В данной статье мы представили результаты эффективности митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 в зависимости от концентрации на модели изолированного сердца крысы по Лангендорфу. Выбранная модель позволила нам судить непосредственно об эффекте изучаемого антиоксиданта, его кардиотоксичности, исключая влияние гормонов, вегетативной нервной системы и других органов [34]. Этапы перфузирования сердца были построены с целью моделирования клинического состояния сердца при операциях в условиях ИК или условиях, близких к трансплантации. Ранее нами уже были проведены подобные исследования [35].

Мы обнаружили, что меньшая из рассматриваемых концентраций SkQ1 (12 нг/мл) способствовала наибольшей сохранности миокарда на тканевом и клеточном уровнях. При помощи гистологического исследования и СЭМ выявлены обширные зоны с недеформированными мышечными волокнами, неповреждёнными сарколеммой и органеллами кардиомиоцитов. Эти данные полностью соответствовали низким уровням маркёров ОС и повреждения миокарда. Данная концентрация способствовала вероятному

связыванию SkQ1 с кардиолипином и снижению пероксидазной активности цитохрома С, которое соответственно привело к снижению развития ОС в митохондриях, к их структурной сохранности, что в итоге не позволило цитохрому С выйти в цитозоль [36]. Л.Е. Бакеева с соавт. провели *ex vivo* и *in vivo* исследования по изучению дозозависимого эффекта SkQ1 на крысах линии Wistar и также пришли к выводам, что очень низкие концентрации SkQ1 могут оказать выраженный антиоксидантный эффект при ОС [37]. В 2021 году М. Named и соавт. опубликовали результаты исследования безопасности и эффективности MitoQ (соединение с убехиноном, один из аналогов SkQ, которое было разработано в Новой Зеландии) на модели ишемии и реперфузии почки в зависимости от концентрации от 50 до 250 мкмоль/л. В итоге, наименьшая изучаемая концентрация (50 нмоль/л) оказала выраженный антиоксидантный эффект, который привел к повышению общего кровотока и диуреза в почках свиней и человека [38].

В собственных экспериментах при повышении концентрации SkQ1 в 10 раз (120 нг/мл) было спровоцировано усугубление ОС при моделировании ишемических и реперфузионных повреждений изолированного сердца. Наблюдали обширные зоны с деформированными и разобщёнными мышечными волокнами, отёком, глыбчатым распадом – признаке острого некроза ткани, с относительно высокими уровнями маркеров ОС и повреждения миокарда и одновременно «сплошной» внутриклеточной иммунофлуоресценцией цитохрома С, сигнализирующей о нарушении структуры и функции митохондрий и возможном запуске апоптоза. Авторы пришли к выводу, что перфузия изолированного сердца в течение 10 мин («SkQ1 120 нг/мл») до периода глобальной ишемии оказывала выраженный кардиотоксичный эффект, в связи с чем можно предположить, что концентрация митохондриально-направленного антиоксиданта играет важную роль в коррекции ОС.

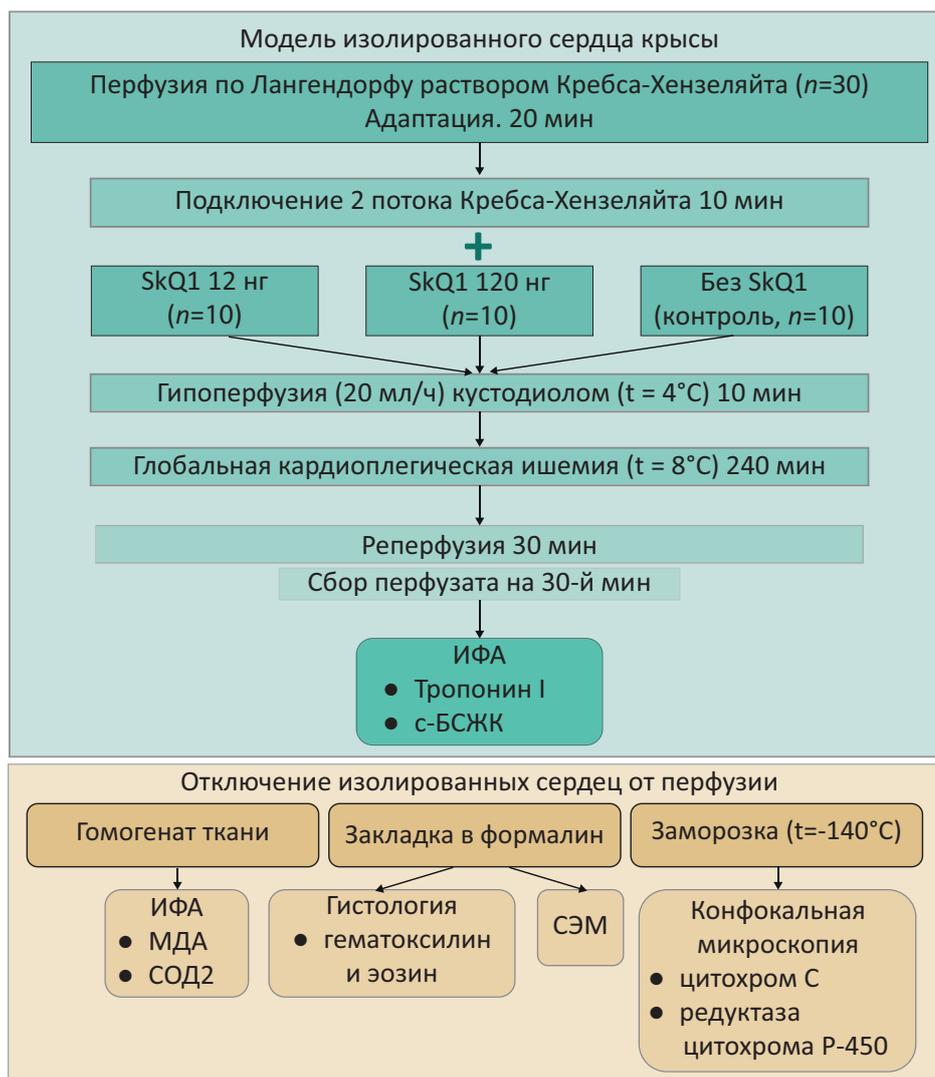


Рисунок 1 – Блок-схема дизайна исследования

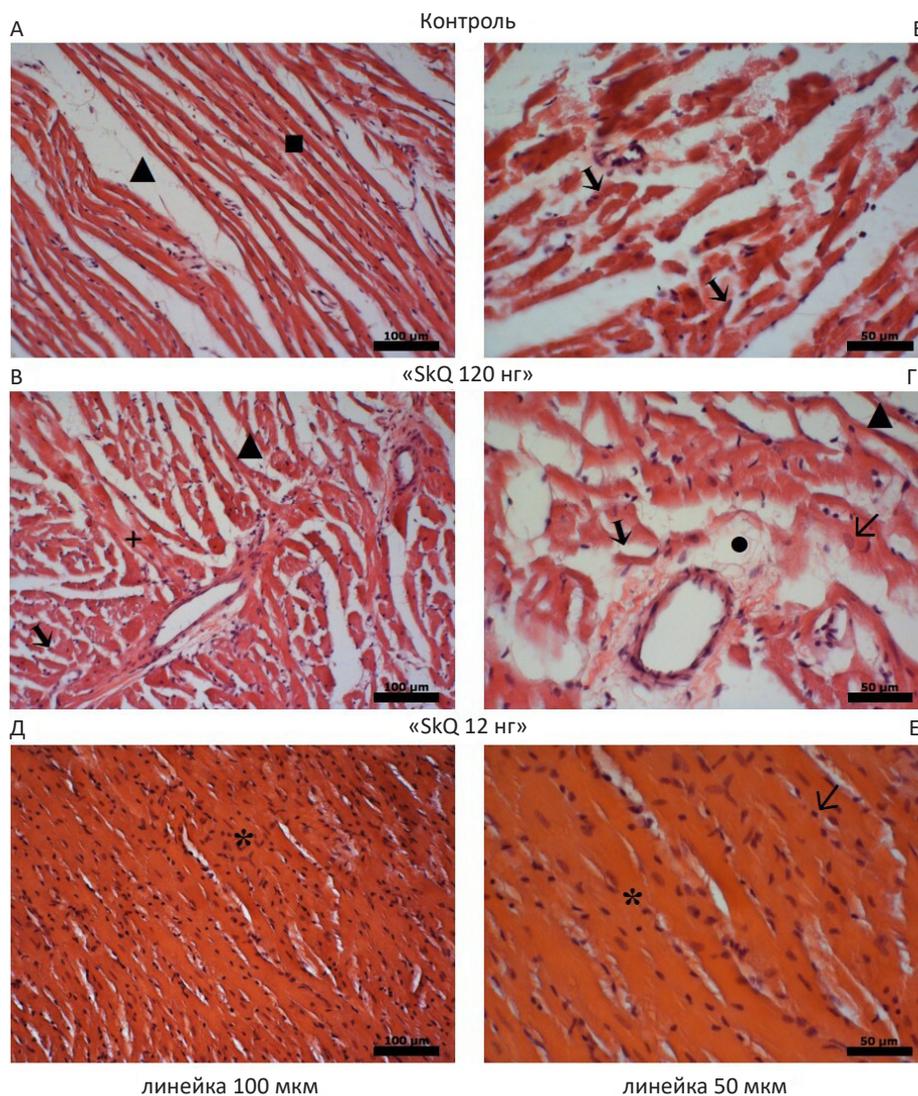


Рисунок 2 – Гистологическая окраска срезов миокарда гематоксилин-эозином.

Примечание: А – диффузный интерстициальный отёк (▲), растяжение и истончение мышечных волокон (■), ув. ×20; Б («SkQ1 120 нг») – фрагментация мышечных волокон, дисконплексаия кардиомиоцитов (↓), оксифилия цитоплазмы кардиомиоцитов, ув. ×40; В – разобшение, фрагментация (↓) и полихромазия мышечных волокон, интерстициальный отёк (▲), миоцитоллиз и внутриклеточный отёк кардиомиоцитов (+), ув. ×20; Г («SkQ1 12 нг») – фрагментация мышечных волокон (↓), периваскулярный (●) и интерстициальный отёк (▲), набухание ядер кардиомиоцитов (↓), ув. ×20; Д – компактное расположение мышечных волокон (*), ув. ×20; Е – компактное расположение мышечных волокон (*), хорошо различимые ядра кардиомиоцитов (↓), сохранение сарколеммы, ув. ×40.

Таблица 1 – Параметры окислительного стресса и повреждения миокарда

Группы	Исследуемые параметры, Ме [25%; 75%]			
	СОД-2, нг/мл	МДА, мкмоль/г	Тропонин-I, пг/мл	с-БСЖК, нг/мл
Контроль	13,0 [8,3; 18,3]	70,9 [58,7; 87,8]	47,7 [29,3; 54,2]	9,0 [2,1; 17,6]
SkQ1 120 нг	14,4 [11,6; 20,4]	63,8 [62,5; 83,0]	24,2 [23,5; 25,9]*	12,8 [4,1; 15,3]
SkQ1 12 нг	16,0 [8,4; 17,9]	49,5 [41,1; 58,9]*	22,3 [20,3; 23,9]*	0,8 [0,6; 6,0]

Примечание: * $p < 0,05$ при сравнении со значениями группы контроля; СОД – супероксиддисмутаза; МДА – малоновый диальдегид; БСЖК – белок, связывающий жирные кислоты.

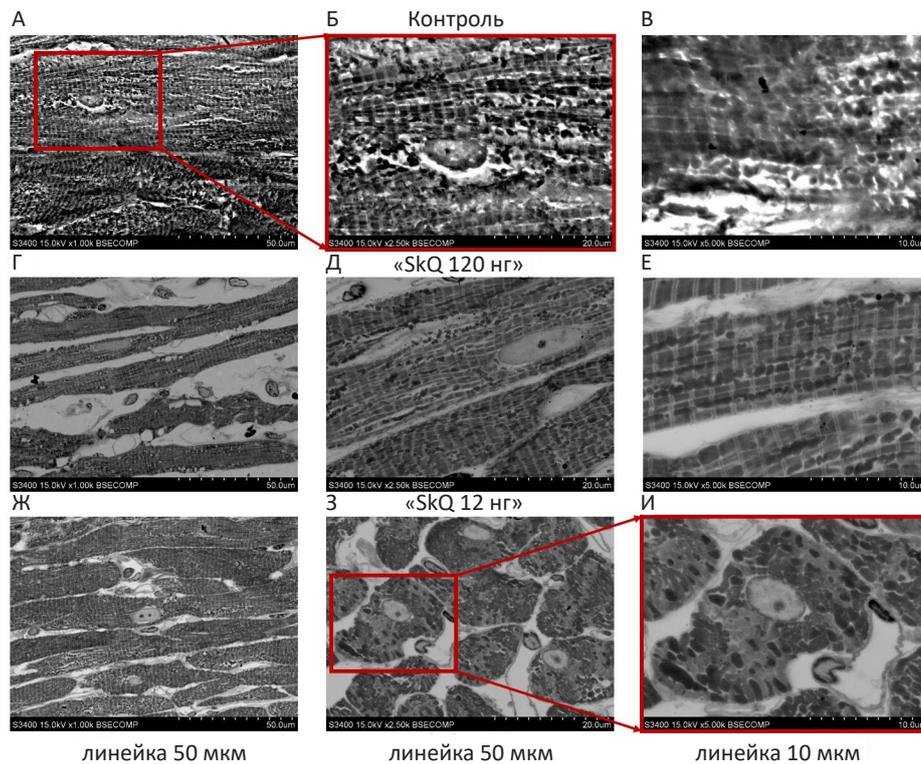


Рисунок 3 – Сканирующая электронная микроскопия миокарда

Примечание: А – волнообразная деформация, зоны «стёртой исчерченности», ув. $\times 1000$; Б – сжавшееся ядро, ув. $\times 2500$; В («SkQ1 120 нг») – «стёртая» исчерченность, нарушение структуры сократительных волокон, ув. $\times 5000$; Г – разобщение кардиомиоцитов, ув. $\times 1000$; Д – вакуолоподобные пространства вокруг митохондрий, ув. $\times 2500$; Е («SkQ1 12 нг») – скопления митохондрий, ув. $\times 5000$; Ж – сохранность исчерченности кардиомиоцитов, ув. $\times 1000$; З, И – слои митохондрий вокруг мышечных волокон, вытянутые ядра, ув. $\times 2500$ и $\times 5000$.

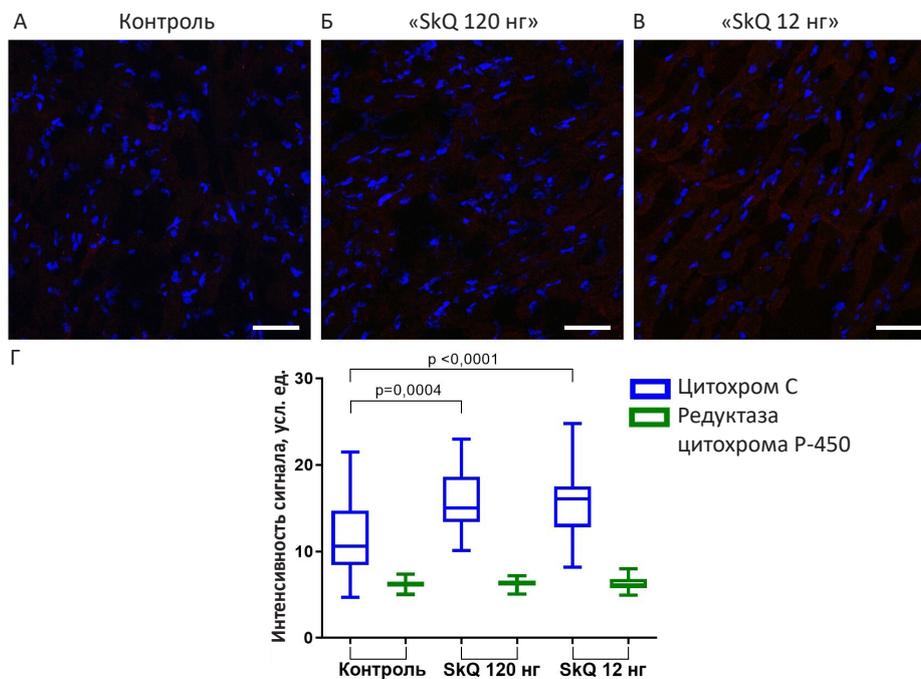


Рисунок 4 – Иммунофлуоресцентное окрашивание срезов ткани миокарда

Примечание: А – контроль, слабое свечение иммунофлуоресцентных меток; Б – «SkQ1 120 нг», наличие дифференцированного свечения цитохрома С; В – «SkQ1 12 нг», наличие хорошо дифференцированного и зонального свечения цитохрома С; Г – количественный анализ цитохрома С и редуктазы цитохрома Р-450. Данные представлены в виде медианы и межквартирного размаха, максимальным и минимальным значениями. Линейка 50 мкм, цитохром С – красный, редуктаза цитохрома Р-450 – зеленый, клеточное ядро – синий.

Ограничения исследования

На полученные результаты мог повлиять небольшой размер выборки наблюдений, равный 10 сердцам в каждой группе исследования. Также стоит отметить, что при всём преимуществе и простоте модели изолированного сердца, отсечение системного влияния также могло выступить в роли ограничения по регуляции деятельности сердечной мышцы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Митохондриально-направленный антиоксидант SkQ1 в концентрации 12 нг/мл оказал выраженный антиоксидантный и кардиопротективный эффекты на модели ишемии и реперфузии изолированного сердца крысы, отражённый в высокой степени

сохранности сократительного аппарата миокарда и органелл. Тогда как концентрация 120 нг/мл, наоборот, усугубила ОС и привела к деструктивным повреждениям ткани. Данный антиоксидант крайне перспективен в области создания кардиопротективных препаратов для кардиохирургии и трансплантации, в связи с чем требуется проведение дальнейших исследований.

SkQ1 в концентрации 12 нг/мл проявил выраженные антиоксидантные свойства в отношении ишемизированного миокарда, что позволило получить более высокую степень сохранности сердечной мышцы в сравнении с применением SkQ1 в концентрации 120 нг/мл, которая усугубила окислительный стресс и структурные изменения ткани.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Коллектив авторов благодарит кандидата биологических наук М.В. Скулачева, ведущего научного сотрудника Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского (ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова») за предоставление пластомитина и консультацию по постановке эксперимента.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0001 «Молекулярные, клеточные и биомеханические механизмы патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний в разработке новых методов лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы на основе персонализированной фармакотерапии, внедрения малоинвазивных медицинских изделий, биоматериалов и тканеинженерных имплантатов».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е.А. Сенокосова, Е.В. Григорьев – разработка концепции и дизайна исследования; Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова, Р.А. Мухамадияров, О.Д. Сидорова, Е.О., Кривкина Л.В. Антонова – проведение исследований, обработка и анализ результатов; Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова – статистическая обработка полученных результатов; Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова, Р.А. Мухамадияров – написание текста рукописи; Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев – редактирование текста рукописи.

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. Soeur J., Eilstein J., Lereaux G., Jones C., Marrot L. Skin resistance to oxidative stress induced by resveratrol: from Nrf2 activation to GSH biosynthesis // *Free Radic. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 78. – P. 213–223. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed
2. Cadenas E., Davies K.J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging // *Free Radic Biol Med.* – 2000. – Vol. 29, No. 3–4. – P. 222–230. DOI: 10.1016/s0891-5849(00)00317-8
3. Pisoschi A.M., Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review // *Eur J Med Chem.* – 2015. – Vol. 5, No. 97. – P. 55–74. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040
4. He L., He T., Farrar S., Ji L., Liu T., Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species // *Cell Physiol Biochem.* – 2017. – Vol. 44, No. 2. – P. 532–553. DOI: 10.1159/000485089
5. Zerres S., Stahl W. Carotenoids in human skin // *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* – 2020. – Vol. 1865, No. 11. – P. 158588. DOI: 10.1016/j.bbalip.2019.158588
6. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance // *Plant Sci.* – 2012. – Vol. 196. – P. 67–76. DOI: 10.1016/j.plantsci.2012.07.014
7. Grabowska M., Wawrzyniak D., Rolle K., Chomczynski P., Oziewicz S., Jurga S., Barciszewski J. Let food be your medicine: nutraceutical properties of lycopen // *Food Funct.* – 2019. – Vol. 10, No. 6. – P. 3090–3102. DOI: 10.1039/c9fo00580c
8. Bhat I., Mamatha B.S. Genetic factors involved in modulating lutein bioavailability // *Nutr Res.* – 2021. – Vol. 91. – P. 36–43. DOI: 10.1016/j.nutres.2021.04.007

9. Berger M.M. Can oxidative damage be treated nutritionally? // *Clin Nutr.* – 2005. – Vol. 24, No. 2. – P. 172–183. DOI: 10.1016/j.clnu.2004.10.003
10. Lopez-Alarcon C., Denicola A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays // *Anal Chim Acta.* – 2013. – Vol. 6, No. 763. – P. 1–10. DOI: 10.1016/j.aca.2012.11.051
11. Kattoor A.J., Pothineni N.V.K., Palagiri D., Mehta J.L. Oxidative Stress in Atherosclerosis // *Curr Atheroscler Rep.* – 2017. – Vol. 19, No. 11. – P. 42. DOI: 10.1007/s11883-017-0678-6
12. Betteridge D.J. What is oxidative stress? // *Metabolism.* – 2000. – Vol. 49. – P. 3–8. DOI: 10.1016/s0026-0495(00)80077-3
13. Senoner T., Dichtl W. Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: Still a Therapeutic Target? // *Nutrients.* – 2019. – Vol. 11, No. 9. – P. 2090. DOI: 10.3390/nu11092090
14. Богданов М.В., Воронцова Н.Л., Матвеева В.Г., Головкин А.С., Ларионов М.В., Григорьев Е.В. Динамика показателей окислительного стресса и эндогенной интоксикации в веночном синусе и периферической крови у пациентов с ИБС во время аортокоронарного шунтирования // *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* – 2013. – № 4. – С. 65–70. DOI: 10.17802/2306-1278-2013-4-65-70
15. Kura B., Szeiffova Bacova B., Kalocayova B., Sykora M., Slezak J. Oxidative Stress-Responsive MicroRNAs in Heart Injury // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, No. 1. – P. 358. DOI: 10.3390/ijms21010358
16. Sponga S., Bonetti A., Ferrara V., Beltrami A.P., Isola M., Vendramin I., Finato N., Ortolani F., Livi U. Preservation by cold storage vs ex vivo normothermic perfusion of marginal donor hearts: clinical, histopathologic, and ultrastructural features // *J Heart Lung Transplant.* – 2020. – Vol. 39, No. 12. – P. 1408–1416. DOI: 10.1016/j.healun.2020.08.021
17. Liberman E.A., Topaly V.P., Tsofina L.M., Jasaitis A.A., Skulachev V.P. Mechanism of coupling of oxidative phosphorylation and the membrane potential of mitochondria // *Nature.* – 1969. – Vol. 222, No. 5198. – P. 1076–1078. DOI: 10.1038/2221076a0
18. Skulachev V.P. Cationic antioxidants as a powerful tool against mitochondrial oxidative stress // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2013. – Vol. 441, No. 2. – P. 275–279. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.10.063
19. Skulachev M.V., Antonenko Y.N., Anisimov V.N., Chernyak B.V., Cherepanov D.A., Chistyakov V.A., Egorov M.V., Kolosova N.G., Korshunova G.A., Lyamzaev K.G., Plotnikov E.Y., Roginsky V.A., Savchenko A.Y., Severina I.I., Severin F.F., Shkurat T.P., Tashlitsky V.N., Shidlovsky K.M., Vysokikh M.Y., Zamyatnin A.A. Jr., Zorov D.B., Skulachev V.P. Mitochondrial-targeted plastoquinone derivatives. Effect on senescence and acute age-related pathologies // *Curr Drug Targets.* – 2011. – Vol. 12, No. 6. – P. 800–826. DOI: 10.2174/138945011795528859
20. Antonenko Y.N., Roginsky V.A., Pashkovskaya A.A., Rokitskaya T.I., Kotova E.A., Zasp A.A., Chernyak B.V., Skulachev V.P. Protective effects of mitochondria-targeted antioxidant SkQ in aqueous and lipid membrane environments // *J Membr Biol.* – 2008. – Vol. 222, No. 3. – P. 141–149. DOI: 10.1007/s00232-008-9108-6
21. Anisimov V.N., Egorov M.V., Krasilshchikova M.S., Lyamzaev K.G., Mansikh V.N., Moshkin M.P., Novikov E.A., Popovich I.G., Rogovin K.A., Shabalina I.G., Shekarova O.N., Skulachev M.V., Titova T.V., Vygodin V.A., Vysokikh M.Y., Yurova M.N., Zabezhinsky M.A., Skulachev V.P. Effects of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on lifespan of rodents // *Aging (Albany NY).* – 2011. – Vol. 3, No. 11. – P. 1110–1119. DOI: 10.18632/aging.100404
22. Mizobuti D.S., Fogaça A.R., Moraes F.D.S.R., Moraes L.H.R., Mancio R.D., Hermes T.A., Macedo A.B., Valduga A.H., de Lourenco C.C., Pereira E.C.L., Minatel E. Coenzyme Q10 supplementation acts as antioxidant on dystrophic muscle cells // *Cell Stress Chaperones.* – 2019. – Vol. 24, No. 6. – P. 1175–1185. DOI: 10.1007/s12192-019-01039-2
23. Bayrak S., Aktaş S., Altun Z., Çakir Y., Tütüncü M., Kum Özşengezer S., Yılmaz O., Olgun N. Antioxidant effect of acetyl-L-carnitine against cisplatin-induced cardiotoxicity // *J Int Med Res.* – 2020. – Vol. 48, No. 8. – P. 300060520951393. DOI: 10.1177/0300060520951393
24. Förstermann U., Xia N., Li H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis // *Circ Res.* – 2017. – Vol. 120, No. 4. – P. 713–735. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309326
25. Esterbauer H., Eckl P., Ortner A. Possible mutagens derived from lipids and lipid precursors // *Mutat Res.* – 1990. – Vol. 238, No. 3. – P. 223–233. DOI: 10.1016/0165-1110(90)90014-3
26. Esterbauer H., Schaur R.J., Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes // *Free Radic Biol Med.* – 1991. – Vol. 11, No. 1. – P. 81–128. DOI: 10.1016/0891-5849(91)90192-6
27. Weismann D., Binder C.J. The innate immune response to products of phospholipid peroxidation // *Biochim Biophys Acta.* – 2012. – Vol. 1818, No. 10. – P. 2465–2475. DOI: 10.1016/j.bbamem.2012.01.018
28. Liebetrau C., Nef H.M., Dörr O., Gaede L., Hoffmann J., Hahnel A., Rolf A., Trold C., Lackner K.J., Keller T., Hamm C.W., Möllmann H. Release kinetics of early ischaemic biomarkers in a clinical model of acute myocardial infarction // *Heart.* – 2014. – Vol. 100. – P. 652–657. DOI: 10.1136/heartjnl-2013-305253
29. Vupputuri A., Sekhar S., Krishnan S., Venugopal K., Natarajan K.U. Heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) as an early diagnostic biomarker in patients with acute chest pain // *Indian Heart J.* – 2015. – Vol. 67, No. 6. – P. 538–542. DOI: 10.1016/j.ihj.2015.06.035
30. Collet J.P., Thiele H., Barbato E., Barthelémy O., Bauersachs J., Bhatt D.L., Dendale P., Dorobantu M., Edvardsen T., Folliguet T., Gale C.P., Gilard M., Jobs A., Juni P., Lambrinou E., Lewis B.S., Mehilli J., Meliga E., Merkely B., Mueller C., Roffi M., Rutten F.H., Sibbing D., Siontis G.C.M.; ESC Scientific Document Group. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation // *Eur Heart J.* – 2021. – Vol. 42, No. 14. – P. 1289–1367. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa575
31. Li K., Li Y., Shelton J.M., Richardson J.A., Spencer E., Chen Z.J., Wang X., Williams R.S. Cytochrome c deficiency causes embryonic lethality and attenuates stress-induced apoptosis // *Cell.* – 2000. – Vol. 101, No. 4. – P. 389–399. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80849-1
32. Kulikov A.V., Shilov E.S., Mufazalov I.A., Gogvadze V., Nedospasov S.A., Zhivotovsky B. Cytochrome C: the Achilles' heel in apoptosis // *Cell Mol Life Sci.* – 2012. – Vol. 69, No. 11. – P. 1787–1797. DOI: 10.1007/s00018-011-0895-z

33. Strobel H.W., Dignam J.D., Gum J.R. NADPH cytochrome P-450 reductase and its role in the mixed function oxidase reaction // *Pharmacol Ther.* – 1980. – Vol. 8, No. 3. – P. 525–537. DOI: 10.1016/0163-7258(80)90075-3
34. Olejnickova V., Novakova M., Provaznik I. Isolated heart models: cardiovascular system studies and technological advances // *Med Biol Eng Comput.* – 2015. – Vol. 53, No. 7. – P. 669–678. DOI: 10.1007/s11517-015-1270-2
35. Senokosova E.A., Krutitskiy S.S., Velikanova E.A., Tsepokina A.V., Kuzmina A.A., Tretjak V.M., Denisova S.V., Gruzdeva O.V., Antonova L.V., Grigoriev E.V. Ability of N(2)-L-alanyl-L-glutamine to restore the function of ischemic myocardium // *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* – 2017. – No. 1. – P. 44–50. DOI: 10.17802/2306-1278-2017-1-44-50
36. Firsov A.M., Kotova E.A., Orlov V.N., Antonenko Y.N., Skulachev V.P. A mitochondria-targeted antioxidant can inhibit peroxidase activity of cytochrome c by detachment of the protein from liposomes // *FEBS Lett.* – 2016. – Vol. 590, No. 17. – P. 2836–2843. DOI: 10.1002/1873-3468.12319
37. Bakeeva L.E., Barskov I.V., Egorov M.V., Isaev N.K., Kapelko V.I., Kazachenko A.V., Kirpatovsky V.I., Kozlovsky S.V., Lakomkin V.L., Levina S.B., Pisarenko O.I., Plotnikov E.Y., Saprunova V.B., Serebryakova L.I., Skulachev M.V., Stelmashook E.V., Studneva I.M., Tskitishvili O.V., Vasilyeva A.K., Victorov I.V., Zorov D.B., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 2. Treatment of some ROS- and age-related diseases (heart arrhythmia, heart infarctions, kidney ischemia, and stroke) // *Biochemistry (Mosc.)* – 2008. – Vol. 73, No. 12. – P. 1288–1299. DOI: 10.1134/s000629790812002x
38. Hamed M., Logan A., Gruszczak A.V., Beach T.E., James A.M., Dare A.J., Barlow A., Martin J., Georgakopoulos N., Gane A.M., Crick K., Fouto D., Fear C., Thiru S., Dolezalova N., Ferdinand J.R., Clatworthy M.R., Hosgood S.A., Nicholson M.L., Murphy M.P., Saeb-Parsy K. Mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorates ischaemia-reperfusion injury in kidney transplantation models // *Br J Surg.* – 2021. – Vol. 108, No. 9. – P. 1072–1081. DOI: 10.1093/bjs/znab108

АВТОРЫ

Сенокосова Евгения Андреевна – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией клеточных технологий ФГБНУ НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-9430-937X. E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

Великанова Елена Анатольевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-1079-1956. E-mail: veliea@kemcardio.ru

Мухамадияров Ринат Авхадиевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины ФГБНУ НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-5558-3229. E-mail: muhara@kemcardio.ru

Сидорова Ольга Дмитриевна – кандидат медицинских наук, преподаватель, доцент ГБПОУ

«КМК». ORCID ID: 0000-0003-2731-6294. E-mail: sod-0204@yandex.ru

Кривкина Евгения Олеговна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-2500-2147. E-mail: kriveo@kemcardio.ru

Антонова Лариса Валерьевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-8874-0788. E-mail: antolv@kemcardio.ru

Григорьев Евгений Валерьевич – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной и лечебной работе ФГБНУ НИИ КПССЗ; профессор РАН. ORCID ID: 0000-0001-8370-3083. E-mail: grigev@kemcardio.ru

УДК 615.032



Сравнительное исследование фармакокинетических параметров, биоэквивалентности, безопасности, переносимости и иммуногенности лекарственного препарата для лечения ожирения на основе семаглутида

А.С. Аметов¹, П.А. Белый², К.Я. Заславская³, Е.А. Рогожина⁴, В.С. Щербакова⁵, Ю.Г. Казаишвили⁵, А.В. Таганов⁶, Т.Г. Бодрова², Е.С. Мищенко⁷, К.Н. Корянова⁷, Л.И. Щербакова⁷

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

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127006, Россия, г. Москва, ул. Долгоруковская, д. 4

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва», 430005, Россия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет», 119454, Россия, г. Москва, пр-кт Вернадского, д. 78

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 170100, Россия, г. Тверь, ул. Советская, д. 4

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

⁷ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Россия, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, д. 11

E-mail: kiryonok@yandex.ru

Получена 30.07.2024

После рецензирования 15.10.2024

Принята к печати 23.11.2024

Одним из новых классов препаратов для снижения массы тела при избыточном весе и ожирении, безопасность и эффективность которых доказаны в масштабных исследованиях, являются агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (АР ГПП-1). Отдельно стоит выделить основного представителя из класса АР ГПП-1 — семаглутид. Данный препарат в дозе 2,4 мг продемонстрировал клинически значимые результаты в отношении уменьшения массы тела и улучшения параметров кардиометаболического здоровья.

Цель. Оценить фармакокинетические параметры, биоэквивалентность, безопасность, переносимость и иммуногенность отечественного лекарственного препарата Велгия® (WRYC12301) в дозировках 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) в сравнении с референтным препаратом Wegovy® (Ново Нордиск А/С, Дания) в дозировках 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл).

Материалы и методы. Исследование было проведено в период с марта по июнь 2024 года. Добровольцы (n=60) были рандомизированы в 4 группы (n=15 в каждой) в соотношении 1:1 для исследования дозировки семаглутида 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) — Группа 1, 2 и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) — Группа 3, 4. Исследуемый препарат и препарат

Для цитирования: А.С. Аметов, П.А. Белый, К.Я. Заславская, Е.А. Рогожина, В.С. Щербакова, Ю.Г. Казаишвили, А.В. Таганов, Т.Г. Бодрова, Е.С. Мищенко, К.Н. Корянова, Л.И. Щербакова. Сравнительное исследование фармакокинетических параметров, биоэквивалентности, безопасности, переносимости и иммуногенности лекарственного препарата для лечения ожирения на основе семаглутида. *Фармация и фармакология*. 2024;12(3):231-246. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-231-246

© А.С. Аметов, П.А. Белый, К.Я. Заславская, Е.А. Рогожина, В.С. Щербакова, Ю.Г. Казаишвили, А.В. Таганов, Т.Г. Бодрова, Е.С. Мищенко, К.Н. Корянова, Л.И. Щербакова, 2024

For citation: A.S. Ametov, P.A. Bely, K.Y. Zaslavskaya, E.A. Rogozhina, V.S. Shcherbakova, Y.G. Kazaishvili, A.V. Taganov, T.G. Bodrova, E.S. Mishshenko, K.N. Koryanova, L.I. Shcherbakova. Comparative analysis of pharmacokinetic parameters, bioequivalence, safety, tolerability and immunogenicity of semaglutide-based drug for the treatment of obesity. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(3):231-246. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-231-246

сравнения вводили подкожно в переднюю брюшную стенку. Были изучены фармакокинетические параметры, биоэквивалентность, безопасность, переносимость и иммуногенность исследуемого препарата семаглутида (раствор для подкожного введения, АО «Биохимик», Россия). Определены некоторые показатели, регламентирующие качество активной фармацевтической субстанции семаглутид.

Результаты. Полученные 90%-ные доверительные интервалы (ДИ) для отношения значений C_{max} и $AUC_{(0-t)}$ исследуемого и референтного препарата (Группа 1, 2) в дозировке 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) составили для C_{max} — 85,19–114,36% и $AUC_{(0-t)}$ — 81,35–112,60%, соответственно, для Группы 3, 4 дозировки 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) — C_{max} составил 83,18–111,3%, а $AUC_{(0-t)}$ — 91,70–120,89%, соответственно. Полученные 90% ДИ лежат в установленных границах, что подтверждает биоэквивалентность исследуемого и референтного препаратов. Все зарегистрированные в ходе исследования нежелательные явления были лёгкой степени тяжести. По результатам анализа параметров иммуногенности у добровольцев не были выявлены антитела к семаглутиду в сыворотке крови.

Заключение. В ходе проведённого исследования была подтверждена биоэквивалентность исследуемого и референтного препаратов. Был продемонстрирован высокий профиль безопасности и отсутствие иммуногенности у российского препарата Велгия® (WRYC12301, семаглутид, раствор для подкожного введения, АО «Биохимик», Россия) в сравнении с зарубежным референтным препаратом (семаглутид, раствор для подкожного введения, Ново Нордиск А/С, Дания) в дозировках 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл).

Ключевые слова: семаглутид; агонист рецепторов глюкагоноподобного пептида-1; ожирение; подкожное введение; безопасность; переносимость; иммуногенность; фармакокинетические параметры

Список сокращений: СД 2 — сахарный диабет 2 типа; МАЖБП — метаболически ассоциированная жировая болезнь печени; ГПП-1 — глюкагоноподобный пептид-1; АР ГПП-1 — агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида-1; HbA1c — гликированный гемоглобин; ИФА — иммуноферментный анализ; ИМТ — индекс массы тела; ЖКТ — желудочно-кишечный тракт; БАД — биологически активная добавка; ЧСС — частота сердечных сокращений; ЧДД — частота дыхательных движений; ЭКГ — электрокардиография; НЯ — нежелательное явление; СНЯ — серьёзное нежелательное явление; ДИ — доверительный интервал; АФС — активная фармацевтическая субстанция.

Comparative analysis of pharmacokinetic parameters, bioequivalence, safety, tolerability and immunogenicity of semaglutide-based drug for the treatment of obesity

A.S. Ametov¹, P.A. Bely², K.Y. Zaslavskaya³, E.A. Rogozhina⁴, V.S. Shcherbakova⁵, Y.G. Kazaishvili⁵, A.V. Taganov⁶, T.G. Bodrova², E.S. Mishshenko⁷, K.N. Koryanova⁷, L.I. Shcherbakova⁷

¹ Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Bld.1, 2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, Russia, 125993

² Russian University of Medicine, 4, Dolgorukovskaya Str., Moscow, Russia, 127006

³ National Research Mordovia State University, 68, Bolshevistskaya Str., Saransk, Russia, 430005

⁴ MIREA, Russian Technological University, 78, Vernadsky Ave., Moscow, Russia, 119454

⁵ Tver State Medical University, 4, Sovetskaya Str., Tver, Russia, 170100

⁶ Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), 6, Miklukho-Maklay Str., Moscow, Russia, 117198

⁷ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: kiryonok@yandex.ru

Received 30 July 2024

After peer review 15 Oct 2024

Accepted 23 Nov 2024

One of the new classes of drugs for weight loss in overweight and obesity, the safety and efficacy of which have been proven in large-scale studies, are glucagon-like peptide-1 receptor agonists (GLP-1 agonists). Separately, it is worth highlighting the main representative from the GLP-1 agonists class, semaglutide. At a dose of 2.4 mg, this drug demonstrated clinically significant results in terms of the body weight reduction and improvement of cardiometabolic health.

The aim of the work was to evaluate pharmacokinetic parameters, bioequivalence, safety, tolerability and immunogenicity of the Velgia® (WRYC12301) at doses of 0.25 mg (0.68 mg/mL) and 2.4 mg (3.2 mg/mL) in comparison with the reference drug Wegovy® (Novo Nordisk A/S, Denmark) at the doses of 0.25 mg (0.68 mg/mL) and 2.4 mg (3.2 mg/mL).

Materials and methods. The study was conducted between March and June 2024. The volunteers ($n=60$) were randomised into 4 groups ($n=15$ in each) in a 1:1 ratio to study the semaglutide dosages of 0.25 mg/dose (0.68 mg/mL) in Groups 1, 2 and 2.4 mg/dose (3.2 mg/mL) in Groups 3, 4. The study drug and the reference drug were injected subcutaneously into the anterior abdominal wall. Pharmacokinetic parameters, bioequivalence, safety, tolerability and immunogenicity of

semaglutide (solution for subcutaneous administration, JSC Biochemik, Russia) were studied. Some parameters regulating the quality of the active pharmaceutical substance semaglutide, were determined.

Results. The obtained 90% confidence intervals (CIs) for the ratio of C_{max} and $AUC_{(0-t)}$ values of the study and reference drugs (Groups 1, 2) at a dose of 0.25 mg (0, 68 mg/mL) were 85.19–114.36% for C_{max} and 81.35–112.60% for $AUC_{(0-t)}$, respectively, while for Groups 3, 4, at a dose of 2.4 mg (3.2 mg/mL), C_{max} was 83.18–111.3% and $AUC_{(0-t)}$ was 91.70–120.89%, respectively. The obtained 90% CI lies within the established limits, which confirms the bioequivalence of the study and reference drugs. All adverse events registered during the study were of mild severity. According to the results of the immunogenicity parameters analysis, no antibodies to semaglutide were detected in the serum of volunteers.

Conclusion. In the course of the study, the bioequivalence of the study and reference drugs was confirmed. A high safety profile and absence of immunogenicity were demonstrated for the Russian drug Velgia® (WRYC12301, semaglutide, solution for a subcutaneous administration, JSC Biochemik, Russia) in comparison with the reference drug (semaglutide, solution for a subcutaneous administration, Novo Nordisk A/S, Denmark) in doses of 0.25 mg/dose (0.68 mg/mL) and 2.4 mg/dose (3.2 mg/mL).

Keywords: semaglutide; glucagon-like peptide-1 receptor agonist; obesity; subcutaneous administration; safety; tolerability; immunogenicity; pharmacokinetic parameters

Abbreviations: T2D — type 2 diabetes; MAFLD — metabolic-associated fatty liver disease; GLP-1 — glucagon-like peptide-1; GLP-1 agonists — glucagon-like peptide-1 receptor agonists; HbA1c — glycated haemoglobin; ELISA — enzyme-linked immunosorbent assay; BMI — body mass index; GI — gastrointestinal tract; BAC — biologically active compound; HR — heart rate; RR — respiratory rate; ECG — electrocardiography; AE — adverse event; SAE — serious adverse event; CI — confidence interval; API — active pharmaceutical ingredients.

ВВЕДЕНИЕ

Ожирение стало одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения в современном мире. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2022 году каждый восьмой человек на планете страдал ожирением. Согласно прогнозам, к 2025 году около 46% взрослого населения планеты будут иметь избыточную массу тела [1].

Ожирение (индекс массы тела [ИМТ] >30 кг/м²) и избыточная масса тела (ИМТ=25–29,9 кг/м²) относят к хроническим заболеваниям, которые характеризуются избыточным накоплением жировой ткани в организме в результате превышения энергетической ценности (калорийности) рациона питания над физиологическими потребностями человека. Наличие ожирения и избыточной массы тела относят к основным факторам риска развития ряда хронических заболеваний, включая сахарный диабет 2 типа (СД 2), сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), метаболически ассоциированная жировая болезнь печени (МАЗБП), онкологические заболевания, заболевания опорно-двигательного аппарата, нарушения ментального здоровья и др. [2].

Доказано, что снижение массы тела на 5–10% способствует улучшению гликемического контроля, снижению факторов риска развития ССЗ, а также инсулинорезистентности, артериальной гипертензии, нарушения липидного обмена, включая показатели концентрации холестерина и триглицеридов, маркёров воспаления и эндотелиальной дисфункции. Лечение ожирения и избыточной массы тела основано на комплексном подходе, включающем правильное питание, физическую активность, фармакологическую терапию и, при необходимости, эндоскопические процедуры или, в отдельных случаях, бариатрическую хирургию [3]. При этом модификация образа жизни без дополнительной терапии обеспечивает клинически

значимое снижение массы тела лишь у небольшой категории больных. Согласно данным статистических исследований удерживать достигнутый вес после похудения удаётся лишь 10% людей, остальные возвращаются к прежним привычкам и к исходным параметрам веса [4, 5]. Стоит отметить, что лечение ожирения и избыточной массы тела с помощью бариатрической хирургии связано с целым рядом ограничений и возможными осложнениями как во время, так и после хирургического вмешательства [1, 6, 7].

Последние научные достижения в изучении патогенеза ожирения позволили разработать и внедрить в клиническую практику новые перспективные препараты для снижения избыточного веса и удержания достигнутого результата. Учитывая роль глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) в регуляции обмена глюкозы и энергобаланса, а также значимые эффекты в отношении других органов и систем, были разработаны препараты, способные стимулировать рецепторы ГПП-1 подобно нативному гормону — АР ГПП-1 [7, 8].

Семаглутид представляет собой аналог человеческого ГПП-1, имеющий 94% гомологичности. Период полувыведения семаглутида (около 1 недели) позволяет применять его подкожно 1 раз в неделю. Применение у больных с СД 2 способствовало не только эффективному контролю гликемии, но и приводило к достоверному снижению веса и контролю рисков ССЗ. Первоначально семаглутид был одобрен для лечения СД 2 в дозе 0,5 или 1,0 мг в неделю, в 2021 году FDA¹ одобрила дозировку 2,4 мг [9, 10].

¹ U.S. Food and Drug Administration. FDA Approves New Drug Treatment for Chronic Weight Management, First Since 2014 (For Immediate Release: June 04, 2021). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-drug-treatment-chronic-weight-management-first-2014>

В ходе клинического исследования SUSTAIN, а также в реальной клинической практике было отмечено дозозависимое действие семаглутида на снижение массы тела у больных СД 2. В связи с этим, для оценки влияния семаглутида на вес у пациентов без сахарного диабета были проведены клинические исследования 2 фазы, в которых были выявлены эффективные дозы и концентрации семаглутида, соответствующие 1,7 мг и 2,4 мг [11].

Согласно результатам клинического исследования STEP 1: в группе семаглутида 9 пациентов из 10 достигли клинически значимого снижения веса на 5% и более, а каждый третий — уменьшения массы тела на 20% и более. Среднее снижение массы тела составило 16,9% от исходной (17,2 против 2,7 кг в группе плацебо). Снижение массы тела происходило, в основном, за счёт жировой ткани — минус 10,4 кг в группе семаглутид (2,4 мг) и минус 1,17 кг в группе плацебо. Терапия семаглутидом в дозе 2,4 мг оказывала более благоприятное влияние на кардиометаболическое здоровье: данная дозировка способствовала уменьшению окружности талии (-15,22 см), нормализации липидного профиля и артериального давления [12, 13].

В клиническом исследовании STEP 2 оценивали влияние терапии семаглутидом в отношении снижения веса (0,25, 0,5, 1,0, 1,7 и 2,4 мг) по сравнению с семаглутидом для лечения СД 2 (0,25, 0,5 и 1,0 мг) у больных с сахарным диабетом (HbA1c: 7–10%, стаж диабета в среднем — 8 лет). Участники исследования, получавшие семаглутид для лечения ожирения продемонстрировали клинически значимое снижение массы тела на 9,64% от исходной по сравнению с 6,99% при применении препарата в дозе 1,0 мг. Доля пациентов, достигших уменьшения веса на 10% и более составила 45,6% в группе семаглутида (2,4 мг) против 28,7% в группе семаглутида (1,0 мг). Обращают на себя внимание результаты клинического исследования, полученные на 8–12 неделе, когда больные принимали одинаковые дозы препарата 0,5–1,0 мг: снижение массы тела имеет статистические различия ($p < 0,05$) в пользу препарата от ожирения. В данном исследовании показано, что не только доза, но и специально подобранная и научно обоснованная концентрация определяет динамику снижения веса, поскольку позволяет максимально эффективно преодолевать физиологические барьеры и воздействовать на рецепторы ГПП-1, в частности, в мозговых структурах системы вознаграждения. Именно это определяет выраженное действие препарата в отношении формирования рационального пищевого поведения и снижения тяги к сладкой и жирной пище [14].

В ходе двухлетнего клинического исследования STEP 5 применение семаглутида в отношении ожирения способствовало не только значимому

снижению веса (-15,2 против -2,6%), но и удержанию достигнутого результата на протяжении всего периода наблюдения. По результатам терапии в когорте пациентов, получавших семаглутид в дозе 2,4 мг, 83,3% пациентов снизили вес на $\geq 5\%$ и более, 67,4% — на $\geq 10\%$, 56,8% — на $\geq 15\%$, 39,4% — на $\geq 20\%$ [15].

В многоцентровом рандомизированном плацебо контролируемом исследовании SELECT с участием 17 604 пациентов из 41 страны продемонстрировано, что назначение семаглутида в дозе 2,4 мг пациентам с ССЗ и ожирением / избыточной массой тела без сахарного диабета приводит к снижению риска сердечно-сосудистых катастроф (MACE) на 20%, в том числе к снижению смертельных исходов, снижению рисков нефатального инфаркта, что кардинально меняет сценарий лечения ожирения в долгосрочной перспективе [13]. Накопленные данные по применению семаглутида в дозировке 2,4 мг позволили включить препарат в клинические рекомендации по профилактике инсульта, что доказывает эффективность данного вида терапии в достижении основной цели лечения ожирения — снижение рисков осложнений и восстановление метаболического здоровья [16, 17].

Важно отметить, что за счёт сходства с физиологическими гормонами повышение дозировки не коррелирует с повышением частоты побочных эффектов. Семаглутид в дозировке 2,4 мг характеризуется благоприятным профилем безопасности, аналогичным профилю безопасности семаглутида 1,0 мг [18, 19].

Семаглутид в дозировке 2,4 мг для лечения ожирения и избыточной массы тела, в том числе у пациентов с СД 2, зарегистрирован в Европе и США под торговым наименованием Wegovy^{®2,3}. Данный препарат не зарегистрирован в России и до недавнего времени российские специалисты не имели возможности использовать данный препарат в клинической практике.

ПАО «Промомед» более 20 лет обеспечивает систему здравоохранения надежными препаратами для лечения ожирения и избыточной массы тела с высоким уровнем доказательности, и первая в стране разработала собственную технологию полного цикла для препаратов AP ГПП-1 (лираглутид, семаглутид) — от химического синтеза и выделения активных фармацевтических субстанций до производства готовой лекарственной формы. Препараты на основе лираглутида 3,0 мг (Энлигрия[®]) и семаглутид 1,0 мг (Квинсента[®]) были зарегистрированы во второй половине 2023 года и в полном объёме стали заменителями «ушедших» с рынка иностранных предшественников.

² Там же.

³ EMA. Wegovy. Overview. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/wegovy>

ЦЕЛЬ. Оценить фармакокинетические параметры, биоэквивалентность, безопасность, переносимость и иммуногенность лекарственного препарата Велгия® (WRYC12301, семаглутид) в дозировках 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) в сравнении с референтным препаратом Wegovy® (Ново Нордиск А/С, Дания) в дозировках 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено открытое рандомизированное параллельное исследование биоэквивалентности в условиях однократного подкожного введения, исследуемого препарата / препарата сравнения натощак здоровым добровольцам. Блок-схема дизайна (с учётом продолжительности) представлена на рисунке 1.

Процедура рандомизации

Добровольцы, успешно прошедшие процедуру скрининга (соответствовавшему критериям отбора), были рандомизированы в клиническое исследование. Каждому рандомизированному добровольцу был присвоен в соответствии с планом рандомизации с использованием программного обеспечения WinPeri 11.65 (модуль ETCETERA 3.26) методом генерации случайных чисел (с присвоением номеров добровольцам – от 01 до 60). Добровольцы ($n=60$) были рандомизированы в 4 группы в соотношении 1:1.

В случае досрочного выбывания добровольца из клинического исследования его рандомизационный номер повторно не использовался, и доброволец впоследствии уже не мог вернуться в исследование.

Объекты исследования и критерии соответствия

В исследовании было рандомизировано 60 здоровых добровольцев мужского и женского пола в возрасте от 18 до 65 лет включительно с ИМТ= 25–30 кг/м² включительно, соответствовавших всем критериям включения и не соответствовавшим ни одному критерию не включения.

Все участники подписали форму информированного согласия, а также изъявили способность и желание выполнять все предписания Протокола исследования.

Основными критериями включения были:

- мужчины и женщины в возрасте от 18 до 65 лет;
- масса тела >50 кг;
- ИМТ=25–30 кг/м² включительно;
- верифицированный диагноз «здоров» по данным стандартных клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования;
- отрицательные результаты тестов на

употребление алкоголя, психотропных и наркотических веществ и готовность отказаться от употребления алкоголя в течение участия в исследовании.

Участники были предупреждены о необходимости использовать надежные методы контрацепции и воздержаться от донорства спермы на протяжении всего исследования и в течение 2-х мес после его окончания.

К основным критериям не включения относили:

- наличие отягощённого аллергологического анамнеза, лекарственной непереносимости, хронических заболеваний различных систем органов;
- психических заболеваний;
- гиперчувствительность к препаратам исследования;
- применение в анамнезе семаглутида или других аналогов человеческого ГПП-1 (в течение менее 6 мес до скрининга);
- приём лекарственных препаратов, оказывающих выраженное влияние на гемодинамику и/или функцию печени в течение менее 2-х мес до скрининга;
- приём других лекарственных препаратов, включая растительные и гомеопатические препараты, витаминов и/или биологически активных добавок (БАД), в течение менее 4 недель до скрининга;
- невозможность проведения подкожных инъекций;
- любые трудности с отбором крови в анамнезе или любые вазовагальные приступы во время отбора крови;
- хирургические вмешательства на ЖКТ (за исключением аппендэктомии) в анамнезе.

Также участники не рассматривались для включения в исследование в случае наличия следующих заболеваний и состояний: медуллярный рак щитовидной железы в анамнезе, в том числе в семейном; множественная эндокринная неоплазия 2-го типа в анамнезе; тяжёлая депрессия; суицидальные мысли или поведение, в том числе в анамнезе; острые инфекционные заболевания или симптомы ОРВИ в течение менее 4-х недель до скрининга.

Добровольцев исключали из исследования в случае отказа от участия в клиническом исследовании, при приёме препаратов запрещённой терапии и положительном тесте на употребление алкоголя, психотропных и/или наркотических веществ, при наличии грубых нарушений требований и процедур протокола исследования, возникновения нежелательных явлений (НЯ), а также при появлении в ходе исследования у добровольца любых заболеваний или состояний, которые делали невозможным дальнейшее его участие в

исследовании. Врач-исследователь мог принять решение об исключении добровольца в интересах самого добровольца.

Оценку сопутствующей терапии и критериев исключения проводили на протяжении всего исследования. Общая продолжительность исследования для каждого добровольца составила не более 35 дней (с учётом периода скрининга).

Условия проведения и продолжительность исследования

Исследование было проведено на базе государственного бюджетного учреждения здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 3» (Ярославль, Россия) в период с марта по июнь 2024 года.

Характеристика используемых препаратов

Для проведения исследования были использованы: исследуемый препарат (Велгия®; WRYC12301; ИП; семаглутид, раствор для подкожного введения, АО «Биохимик», Россия) в дозировках 0,25 и 2,4 мг/мл и препарат сравнения (Wegovy®; ПС; семаглутид, препарат для подкожного введения, Ново Нордиск А/С, Дания) в дозировках 0,68 и 2,4 мг/мл.

Введение препаратов

Добровольцы получали препараты утром натощак подкожно в переднюю брюшную стенку. Группа 1 ($n=15$) и Группа 2 ($n=15$) получала исследуемый препарат и референтный препарат в дозе 0,5 мг (однократное введение 2 доз по 0,25 мг/доза), Группа 3 ($n=15$) и Группа 4 ($n=15$) — в 2,4 мг (однократное введение 1 дозы 2,4 мг/доза).

Подготовка и отбор проб

После рандомизации и перед отбором исходных проб крови для оценки фармакокинетических параметров и параметров иммуногенности добровольцам был установлен кубитальный гепаринизированный катетер, который был удалён после отбора пробы крови в точке 12 ч (день 1). После удаления катетера отбор крови у добровольцев проводился путём венепункции.

Отбор проб крови для определения фармакокинетических параметров осуществляли в следующие временные точки: 1, 0,5 и 0 ч (день 1) до введения исследуемого препарата / препарата сравнения и далее через 2, 8, 12 (день 1), 24 (день 2), 36 (день 2), 48 (день 3), 72 (день 4), 96 (день 5), 144 (день 7), 192 (день 9), 240 (день 11), 360 (день 16) и 480 ч (день 21) после введения ИП / ПС.

Отбор проб крови для изучения иммуногенности осуществляли у добровольцев, получавших ИП в дозировке 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) (Группа 3) и ПС в дозировке 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) (Группа 4) не более чем за 15 мин до введения исследуемого

препарата / препарата сравнения (исходная (0) проба) и через 480 ч (день 21) после их введения. Отбор проб крови для анализа параметров иммуногенности осуществляли отдельно от проб крови для оценки фармакокинетических параметров.

Таким образом, в исследовании проводился отбор 16 проб крови для каждого добровольца (по 6 мл каждый) для исследования фармакокинетических параметров и 2 пробы крови для добровольцев из Групп 3 и 4 (по 6 мл каждый) для исследования иммуногенности.

На скрининге проводился отбор крови объёмом не более 25 мл для проведения стандартного клинического, биохимического, серологического анализов и определения уровня глюкозы в крови с помощью глюкометра.

Отбор образцов крови проводили в пробирки для получения сыворотки с активатором свертывания. Далее образцы аккуратно перемешивали 5–8 раз для лучшего контакта крови с активатором свертывания. Затем пробирки с образцами крови оставляли на столе в вертикальном положении при температуре 18–25°C до полного свертывания (образования сгустка). После образования сгустка пробирки центрифугировали при 1500 g в течение 10 мин при температуре 18–25°C (центрифуга медицинская Eppendorf 5702 R № 0006208, Eppendorf, Германия). Полученную сыворотку аккуратно переносили в предварительно промаркированные криопробирки, разделяя сыворотку на три аликвоты по 500 мкл — две для основного анализа (аликвоты А и В), третья для повторных анализов (аликвота С). Образцы сыворотки замораживали сразу после получения и переноса в криопробирки и хранили при температуре не выше -70°C.

Аналитический метод

Расчёт фармакокинетических параметров проводился по концентрации семаглутида в сыворотке крови. Количественное определение семаглутида осуществлялось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС). Хроматографическое разделение и детектирование проводили на жидкостном хроматографе LC-20 Prominence Nexera XR (Shimadzu, Япония) и тандемном масс-спектрометрическом детекторе LCMS-8040 (тройной квадруполь) с использованием колонки Phenomenex Kinetex C18, 100×3,0 мм, 5 мкм. Для определения параметров иммуногенности использовался метод иммуноферментного анализа (ИФА).

Оценку иммуногенности проводили на добровольцах, у которых были обнаружены антитела к семаглутиду. Количественное определение антител к семаглутиду в калибровочных образцах и

образцах контроля качества проводилось с помощью фотометра для микропланшетов HiPo MPP-96 (Biosan, Латвия) с использованием ИФА-набора «KRIBIOLISA™ Anti-Semaglutide (Ozempic™) ELISA (competitive)» (Krishgen BioSystems, США).

Оценка безопасности и переносимости

Для оценки безопасности ИП учитывали частоту и степень тяжести НЯ, зарегистрированных по данным отклонений от нормы результатов лабораторных анализов, физикального осмотра, оценки основных жизненно важных показателей, электрокардиограммы (ЭКГ); количество случаев досрочного прекращения участия в исследовании из-за развития НЯ и/или серьезных (СНЯ), в том числе связанных с ИП / ПС. Переносимость препарата оценивалась врачом-исследователем по шкале Лайкерта.

Среди критериев оценки иммуногенности учитывали: количество (%) добровольцев, у которых были обнаружены антитела к семаглутиду.

Этическая экспертиза

Проведение исследования было одобрено Локальным этическим комитетом государственного бюджетного учреждения здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 3» (выписка из протокола № 202 от 21.03.2024 г.).

Статистический анализ

Принципы расчёта размера выборки

Расчёт проводился на основании данных о межиндивидуальной вариабельности (CV_{inter}) семаглутида, представленных в Clinical Review (S) Semaglutide [1].

Так как значение CV_{inter} семаглутида не было опубликовано напрямую, оно было рассчитано на основании представленных данных в программной среде R, с помощью пакета PowerTOST с использованием функции «CV from CI». Расчёт необходимой численности был выполнен при помощи программы PASS 11 (PASS 11 PLUS, Великобритания). Для стандартных условий дизайна с двумя параллельными группами, принимая в расчёт, что 90% ДИ составят 80,00–125,00%, $CV_{inter} = 17\%$, $\alpha = 0,05$, мощность исследования – 80%, отношение ИП / ПС составит 0,95, необходимо включение не менее 26 здоровых добровольцев (по 13 в каждую дозовую группу), которые полностью завершат исследование и будут приняты в статистический анализ.

Методы статистического анализа данных

Целью исследования была оценка фармакокинетических параметров, биоэквивалентности, безопасности, переносимости и параметров

иммуногенности ИП в дозировках 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) в сравнении с ПС.

База первичных данных была создана в программе MS Excel 19 (Microsoft Corp., США) при обработке регистрационных карт, полученных из исследовательского центра. Расчёт фармакокинетических параметров, статистический анализ показателей безопасности и оформление результатов проводились с использованием статистических пакетов (StatSoft Statistica версии 10.0/13.3, IBM SPSS Statistics 22 и с помощью программы R project (актуальная версия, лицензия GPL-2/GPL-3) с расширением bear). Были рассчитаны следующие фармакокинетические переменные: C_{max} — максимальная концентрация вещества в сыворотке крови; t_{max} — время достижения C_{max} ; $AUC_{(0-t)}$ — площадь под кривой «концентрация — время» с момента введения лекарственного препарата до последней определяемой концентрации во временной точке t ; $AUC_{(0-\infty)}$ — площадь под фармакокинетической кривой, начиная с нулевого значения времени до бесконечности; $AUC_{(0-t)}/AUC_{(0-\infty)}$ — отношение значений $AUC_{(0-t)}$ к $AUC_{(0-\infty)}$; K_{el} — константа скорости терминальной элиминации; $t_{1/2}$ — период полувыведения; V_d — объём распределения; $AUC_{(t-\infty)}$ — остаточная (экстраполируемая) площадь под кривой, определяемая по формуле $AUC_{(t-\infty)} = AUC_{(0-t)}/AUC_{(0-\infty)}$. Вывод о биоэквивалентности сравниваемых препаратов делали по отношению параметров C_{max} и $AUC_{(0-t)}$ исследуемого лекарственного препарата к референтному лекарственному препарату, которые должны были лежать в интервале 80,00–125,00% при 90% доверительном интервале (ДИ).

Для всех фармакокинетических показателей рассчитывались следующие статистические параметры: среднее арифметическое (Mean), стандартное отклонение среднего (SD), коэффициент вариации (CV), медиана (Me), минимальное (Min) и максимальное значения (Max), разброс.

Для анализа частотных показателей было проведено сравнение долей при помощи двустороннего варианта точного критерия Фишера (или критерия χ^2 («хи-квадрат»). Для сравнения количественных непрерывных показателей использовался t -критерий Стьюдента (в случае нормального распределения) или критерий Манна-Уитни (в случае распределения, отличного от нормального). Проверка на нормальность распределения данных проводилась общепринятыми методами (критерий Шапиро-Уилка или критерий Колмогорова-Смирнова). Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Контроль качества активной фармацевтической субстанции семаглутида

Оценку внешнего вида всех исследуемых образцов активной фармацевтической субстанции (АФС) семаглутида проводили визуально. Определение значений удельного оптического вращения проводили в соответствии с требованиями Фармакопеи Евразийского экономического Союза (ФЕАЭС) общая фармакопейная статья (ОФС) 2.1.2.7. «Оптическое вращение».

Масс-спектры высокого разрешения записывали на приборе LCMS-9030 (Shimadzu, Япония) методом ионизационного электрораспыления (ESI-MS). Для работы использовали следующие параметры: напряжение на капилляре — 4,0 кВ; диапазон сканирования масс — 500–2000 m/z ; внешняя калибровка раствором натрия йодида в MeOH / H_2O ; осушающие и подогревающие газы — азот (по 10 л/мин); распыляющий газ — азот (3 л/мин); температура интерфейса — 300°C. Молекулярные ионы в спектрах анализировали в программе LabSolutions v.5.114 (LabSolutions Series, Shimadzu, Япония).

Метод контроля по показателю «Пептидное картирование» включал ферментативное расщепление белков до образования пептидных фрагментов с последующим их разделением и идентификацией с помощью ВЭЖХ (ФЕАЭС ОФС 2.1.2.39. «Пептидное картирование»). Для исследования использовали жидкостной хроматограф высокого давления с УФ-детектором Agilent (Agilent Technologies, США) и колонку 150×4,6 мм, заполненную сорбентом XBridge Peptide BEH C18 (4,6×150 мм, 3,5 мкм), режим элюирования — градиентный. Детекцию проводили при длине волны 214 нм.

Определение количественного содержания и идентификацию родственных примесей в образцах субстанции семаглутида проводили методом ВЭЖХ (ФЕАЭС ОФС 2.1.2.28. «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Для исследования использовали жидкостной хроматограф высокого давления с УФ-детектором Agilent, колонку Kinetex 2,6 мкм C18 100 Å, LC Column 150×4,6 мм, режим элюирования — градиентный. Детекцию проводили при длине волны 210 нм.

Определение содержания уксусной и трифторуксусной кислоты проводили методом ВЭЖХ (ФЕАЭС ОФС 2.1.2.28. «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Для исследования использовали жидкостной хроматограф высокого давления с УФ-детектором Agilent, колонку Luna C18(2) 5 мкм 4,6×250 мм, режим элюирования — градиентный. Детекцию проводили при длине волны 210 нм.

Оценку содержания бактериальных эндотоксинов проводили в соответствии с ФЕАЭС

ОФС 2.1.6.8. «Бактериальные эндотоксины». Общее количество аэробных бактерий, дрожжей и плесени определяли согласно ФЕАЭС ОФС 2.3.1.2. «Требования к микробиологической чистоте лекарственных препаратов, фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ для их производства».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основным результатом исследования была оценка фармакокинетических параметров, биоэквивалентности, безопасности, переносимости и иммуногенности лекарственного препарата Велгия® в дозировках 0,25 (0,68 мг/мл) и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) в сравнении с референтным препаратом Wegovy® (Ново Нордиск А/С, Дания) в дозировках 0,25 (0,68 мг/мл) и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл).

Популяция

В исследовании приняли участие 60 добровольцев мужского и женского пола. Основные антропометрические характеристики и распределение по полу приведены в таблице 1.

Оценка биоэквивалентности

Средние значения основных и дополнительных фармакокинетических параметров для исследуемого препарата и препарата сравнения представлены в таблице 2.

На рисунке 2 представлены усреднённые фармакокинетические профили после введения исследуемого препарата и препарата сравнения в дозировке 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл). Как видно из сравниваемых кривых, наблюдается сопоставимость характера зависимости «концентрация–время» для изучаемых препаратов.

На рисунке 3 представлены усреднённые фармакокинетические профили со стандартными отклонениями и без них после введения исследуемого препарата и препарата сравнения в дозировке 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл). Как видно из сравниваемых кривых, характер зависимости «концентрация–время» для сравниваемых препаратов также практически не отличался.

По результатам статистического анализа полученные 90%-ные ДИ для отношения значений C_{max} и $AUC_{(0-t)}$ исследуемого препарата Велгия® и референтного препарата Wegovy® в дозировке 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) — Группа 1, 2 — составили для C_{max} — 85,19–114,36% и $AUC_{(0-t)}$ — 81,35–112,60%, соответственно, для дозировки 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) — Группа 3, 4 — C_{max} составил 83,18–111,3%, а $AUC_{(0-t)}$ — 91,70–120,89%, соответственно. Полученные ДИ лежат в установленных границах, что подтверждает биоэквивалентность исследуемых препаратов.

Оценка безопасности и переносимости

Все добровольцы завершили исследование полностью в соответствии с утвержденным протоколом исследования. В ходе исследования у добровольцев Группы 1 и Группы 2 (дозировка 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл)) не было зарегистрировано НЯ. В Группе 3 и Группе 4 (дозировка 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл)) у добровольцев были зарегистрированы единичные случаи НЯ, сходные по типу (тошнота или рвота), частоте проявления и степени тяжести, как в группе исследуемого препарата, так и группе препарата сравнения. Все зарегистрированные в ходе исследования НЯ были лёгкой степени тяжести. Характер и частота НЯ соответствовал известному профилю для семаглутида и не требовал отмены терапии.

Переносимость ИП / ПС в дозировке 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл) и 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл) была оценена как «хорошая» и «удовлетворительная» в 100% случаев и была сопоставима с препаратом сравнения.

СНЯ в ходе проведения исследования и после его завершения у добровольцев не выявлено. Смертельные случаи не наблюдались. Случаев возникновения беременности половой партнерши участника исследования во время проведения исследования и после его завершения зарегистрировано не было. Не обнаружено отклонений от нормы по результатам клинического и биохимического анализа крови, определения уровня глюкозы в крови, общего анализа мочи, параметров основных жизненно важных показателей, физического осмотра и ЭКГ.

Оценка иммуногенности

По результатам анализа параметров иммуногенности у добровольцев не были выявлены антитела к семаглутиду в сыворотке крови, что свидетельствовало об отсутствии иммуногенности препарата. Неожиданные результаты при проведении исследования не отмечены, что подтверждает концепцию преимущества химического «происхождения» препарата.

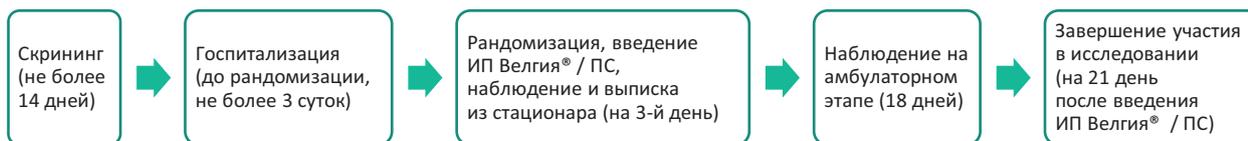


Рисунок 1 — Дизайн исследования

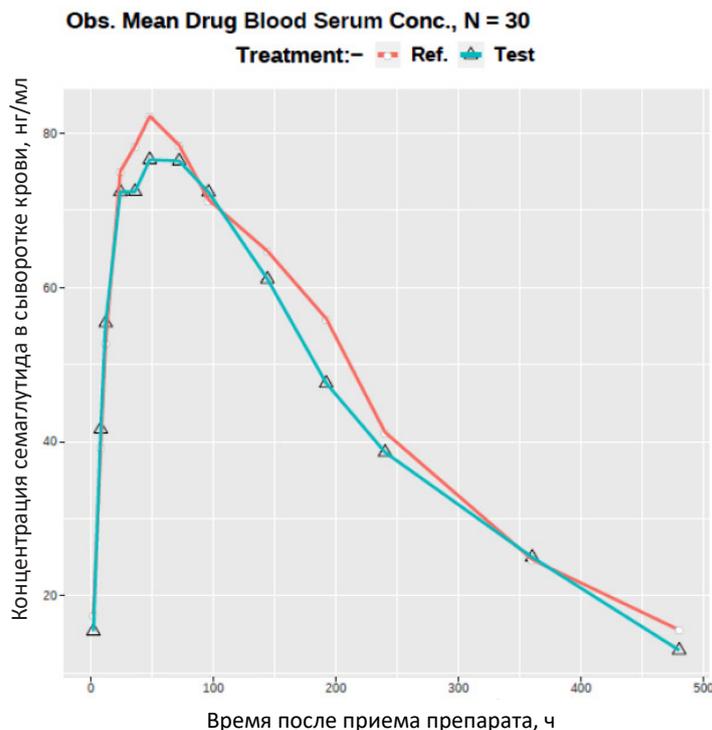


Рисунок 2 – Усреднённые фармакокинетические профили после введения исследуемого препарата Велгия® и препарата сравнения Wegovy® в дозировке 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл)

Примечание: Ref. — референсный препарат / препарат сравнения; Test — исследуемый препарат.

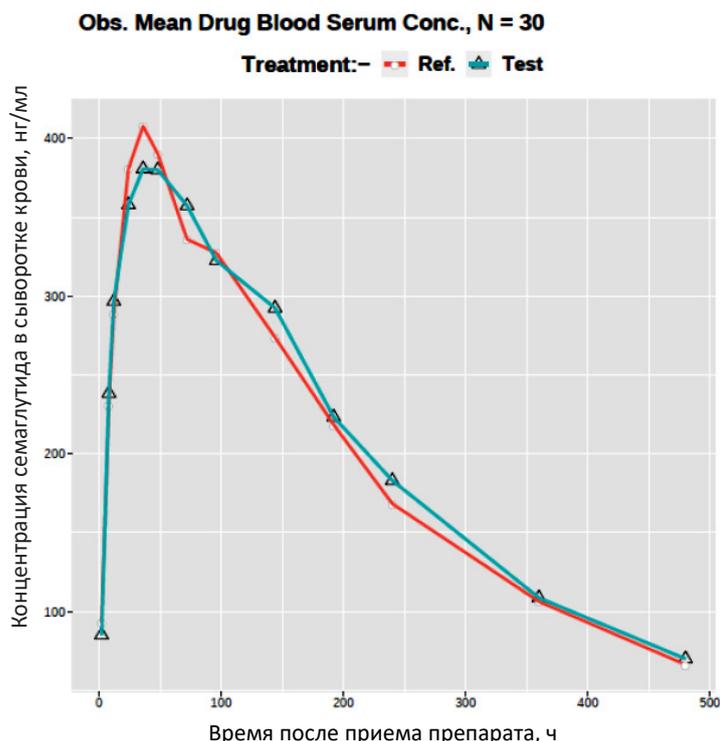


Рисунок 3 – Усреднённые фармакокинетические профили после введения исследуемого препарата Велгия® и препарата сравнения Wegovy® в дозировке 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл)

Примечание: Ref. — референсный препарат / препарат сравнения; Test — исследуемый препарат.

Таблица 1 – Описательная характеристика демографических и антропометрических данных добровольцев групп исследуемого препарата и препарата сравнения

Показатель	Доза 0,5 мг (2 дозы по 0,25 мг/доза), n=30			Доза 2,4 мг, n=30		
	Муж.	Жен.		Среднее	-95% ДИ	95% ДИ
Пол, n (%):						
	8 (26,67%)	22 (72,33%)		21 (70%)	9 (30%)	
—	Среднее	-95% ДИ	95% ДИ	Среднее	-95% ДИ	95% ДИ
Возраст, полных лет	45,13	41,76	48,51	43,87	40,60	47,13
Масса тела, кг	75,71	73,05	78,37	82,89	80,37	85,41
Рост, см	169,40	166,58	172,21	175,77	172,82	178,71
ИМТ, кг ² /м	26,35	25,97	26,72	26,81	26,42	27,21

Таблица 2 – Фармакокинетические параметры, рассчитанные для исследуемых дозировок препаратов

Параметр, ед. изм.	Дозировка 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл), Mean±SD		Дозировка 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл), Mean±SD	
	Велгия®	Wegovy®	Велгия®	Wegovy®
C_{max} , нг/мл	85,63±22,14	86,75±16,12	417,54±83,16	433,85±125,47
$AUC_{(0-t)}$, нгч/мл	19458,26±5374,17	20330,32±4374,67	94426,48±18947,4	89684,6±21791,3
$AUC_{(0-\infty)}$, нгч/мл	22168,60±7014,38	23829,36±6296,99	112034,65±25345,73	106204,16±25136,1
k_{el} , ч ⁻¹	0,005±0,003	0,005±0,001	0,004±0,001	0,004±0,001
t_{max} , ч	52,46±35,19	51,47±54,2	40,53±26,24	45,67±22,16
$t_{1/2}$, ч	139,7±43,1	149,77±38,16	167,68±43,24	167,77±39,34
$AUC_{(t-\infty)}$, %	9,73±5,51	12,55±7,62	13,99±6,78	14,51±5,8
V_d , л	4,55±1,37	4,53±1,49	5,18±1,55	5,47±1,96
$AUC_{(0-t)} / AUC_{(0-\infty)}$, %	87,77±5,51	85,32±7,62	84,28±6,78	84,45±5,8

Таблица 4 – Сравнение норм и фактически полученных результатов контроля качества семаглутида (производство АО «Биохимик», Россия и Zhejiang Peptides Biotech Co., Ltd, Китай)

Наименование показателя	Семаглутид (АО «Биохимик», Россия)		Семаглутид (Zhejiang Peptides Biotech Co., Ltd, Китай)	
Нормированный показатель		Результат контроля	Нормированный показатель	Результат контроля
Внешний вид	Белый или почти белый аморфный порошок	Белый аморфный порошок	Белый или почти белый порошок или рыхлый комок	Почти белый порошок
Удельное вращение	От -2° до -20° в пересчёте на безводное и свободное от уксусной кислоты вещество	-14,6°	Данный показатель не контролируется	
Идентификация (методом ВЭЖХ)	Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика семаглутида на хроматограмме стандартного образца	Соответствует	Время удерживания основного пика исследуемого образца должно соответствовать времени удерживания основного пика стандартного образца	Соответствует
Идентификация (МС)	M.W.: 4113,6±1,0	M.W.: 4112,8	MW: 4113,6±1,0	M.W.: 4112,8
Пептидное картирование	Хроматографический профиль раствора лизата испытуемого образца должен соответствовать хроматографическому профилю раствора лизата стандартного образца семаглутида	Соответствует	Данный показатель не контролируется	
Родственные примеси (методом ВЭЖХ)	Примесь А: Не более 0,15%	0,02%	G06-IM37: Не более 0,1%	Не обнаружено
	Примесь В: Не более 0,15%	0,09%	G06-IM42: Не более 0,1%	Не обнаружено
	Примесь С: Не более 0,15%	0,03%	G06-IM10: Не более 0,1%	Не обнаружено
	Примесь D: Не более 0,15%	0,02%	G06-IM60: Не более 0,2%	0,10%
	Любая одиночная примесь: Не более 0,10%	0,03%	G06-IM18: Не более 0,2%	Не обнаружено
	Всего примесей: Не более 1,0%	0,23%	G06-IM01: Не более 0,2%	0,07%
			G06-IM59: Не более 0,2%	0,10%
			G06-IM28: Не более 0,2%	0,09%
		G06-IM03: Не более 0,2%	Не обнаружено	
		Любая одиночная примесь: Не более 0,10%	Не обнаружено	
		Всего примесей Не более 2,0%	0,36%	
Уксусная кислота	Не более 0,25 %	0,01%	Не более 0,5%	0,03%
Трифторуксусная кислота	Не более 0,25 %	Не обнаружено	Не более 0,25 %	0,02%
Бактериальные эндотоксины	Не более 5 ЕЭ/мг	Менее 5 ЕЭ/мг	Менее 10 ЕЭ/мг	Менее 10 ЕЭ/мг
Общее количество аэробных бактерий	Не более 100 КОЕ/г	Отсутствуют	Не более 100 КОЕ/г	Менее 10 КОЕ/г
Общее количество дрожжей и плесени	Не более 50 КОЕ/г	Отсутствуют	Не более 100 КОЕ/г	Менее 10 КОЕ/г

ОБСУЖДЕНИЕ

Широкая доказательная база эффективности семаглутида в отношении снижения веса, восстановления метаболического здоровья и снижения рисков развития осложнений представляет семаглутид в качестве приоритетного препарата для широкого применения в рутинной клинической практике терапии ожирения и избыточной массы тела [4, 10, 11, 24]. При этом потенциал молекулы не ограничивается метаболическими заболеваниями. Семаглутид демонстрирует положительные результаты в доклинических и клинических исследованиях для лечения МАЖБП, апноэ, болезни Альцгеймера, профилактики ССЗ [12, 17], депрессии и др. [23, 24, 26]. В 2024 году семаглутид был включён в новейшие российские клинические рекомендации⁴ по лечению ожирения 2024 года пересмотра для устойчивого снижения массы тела и сердечно-сосудистых рисков у пациентов с избыточной массой тела и ожирением. Доступность вышеуказанных ЛП для пациентов в России является важной задачей для внедрения здоровьесберегающих технологий во врачебную практику. Адекватное лекарственное обеспечение критически важно для достижения основных целей системы здравоохранения — сохранение и укрепление здоровья населения.

В настоящий момент Велгия® является единственным отечественным препаратом на основе МНН семаглутид, содержащим все необходимые дозировки и концентрации действующего вещества для лечения ожирения и избыточной массы тела с учётом необходимости правильного перехода от первого применения препарата через период титрации к терапевтически эффективной дозировке. Используемая собственная оригинальная технология получения и очистки АФС обеспечивает высокий уровень контроля качества получаемого вещества, исключение нежелательных примесей и изомеризации и как следствие способствует достижению высокой эффективности и безопасности проводимой терапии. Разработанная технология химического синтеза и выделения продукта позволяет ПАО «Промомед» создавать пептидные молекулы с точно заданными свойствами без спонтанной замены аминокислот в структуре пептида, отсутствием продуктов жизнедеятельности продуцентов (как в случае с производством из бактерий или дрожжей), высокой степенью чистоты, что повышает профиль безопасности препарата. В

литературе описаны преимущества разработанной технологии по сравнению с иностранными предшественниками [14, 15].

Более того, производство семаглутида данным способом является высокопроизводительным, масштабируемым и экономически обоснованным по сравнению с используемым иностранной компанией биотехнологическим путём, что обеспечивает удовлетворение потребности в препарате для широкого круга пациентов [20, 21, 25, 26]. Процедура регистрации лекарственного препарата Велгия®⁵ (семаглутид) была завершена 3 октября 2024 года. Биологические, фармацевтические, функциональные и потребительские характеристики данного препарата удовлетворяют всем требованиям, предъявляемым к ЛП для лечения ожирения и избыточной массы тела:

- высокие параметры эффективности и безопасности, учитывающие особенности длительного применения для лечения хронического ожирения;
- полный диапазон специально подобранных дозировок и концентраций действующего вещества, позволяющий обеспечить требуемую схему титрации дозы от первого использования (0,25 мг/нед) до достижения терапевтической дозы (2,4 мг/нед);
- шприц-ручки, удобные в применении и не требующие усилий и специализированных навыков при использовании.

Внедрение в практику российских врачей препарата Велгия® (семаглутид) представляет собой доступ к лекарственной терапии, зарекомендовавшей себя во всем мире, что позволит снизить бремя пандемии ожирения, обеспечить эффективное и безопасное снижение массы тела.

Специально созданная для данного препарата шприц-ручка не требует специализированных навыков и совместима с иглами любых производителей, что важно в случае возможного снижения доступности игл иностранного производства.

Для производства семаглутида ПАО «Промомед» использует метод твёрдофазного химического синтеза пептидов (SPPS). Он позволяет автоматизировать процесс и точно воспроизводить заданную структуру пептида, что нивелирует риски изменений получаемой субстанции и, соответственно, неблагоприятных иммунных реакций при применении препарата.

⁴ Клинические рекомендации «Ожирение» (пересмотр 2024 года) — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/28_3

⁵ Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. ЛП-№(007100)-(ПГ-RU). — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=e96ded65-3a95-4d0f-960a-aa749b1ec1dd

Сравнительная оценка показателей качества активной фармацевтической субстанции семаглутида

Нами были проанализированы основные характеристики, влияющие на качество субстанции семаглутида (АО «Биохимик», Россия) и субстанции семаглутида производства Zhejiang Peptides Biotech Co.,Ltd, Китай, входящей в состав одного из лекарственных препаратов, зарегистрированных в России. Во внимание принимали показатели, которые закладывают оба производителя для контроля своей АФС. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Из приведённых данных видно, что АФС семаглутида производства Zhejiang Peptides Biotech Co., Ltd, Китай не контролируется по показателям «Удельное вращение» и «Пептидное картирование», что говорит об отсутствии систематической проверки подлинности полученного препарата и рисках снижения эффективности готового лекарственного средства в результате, например, замены аминокислот. Более того, по сравнению с АФС семаглутида производства АО «Биохимик» (Россия), китайский производитель закладывает заниженные требования к качеству по показателям «Сумма примесей», «Содержание уксусной кислоты», «Бактериальные эндотоксины» и «Общее количество дрожжей и плесени». Данный факт может косвенно свидетельствовать о более грубой технологии очистки АФС, что может повлиять на параметры безопасности и привести к выбраковке всей серии готовой лекарственной формы по показателю «Стерильность» и, следовательно, перебоям с поставками жизненно необходимого препарата.

Увеличенные требования к чистоте АФС семаглутида производства АО «Биохимик», Россия, в частности, отразилось на отсутствии иммуногенности на этапе клинических исследований.

Таким образом, можно говорить, что благодаря усилиям отечественных фармацевтических

компаний, в частности ПАО «Промомед», в нашей стране доступны все наиболее эффективные инструменты борьбы с избыточным весом и ожирением и новый лекарственный препарат Велгия® станет очередным шагом к формированию метаболически здорового общества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе изучения подтверждены биоэквивалентность исследуемого препарата Велгия® (WRYC12301, семаглутид, раствор для подкожного введения АО «Биохимик», Россия) и препарата сравнения (семаглутид, раствор для подкожного введения, Ново Нордиск А/С, Дания), как в дозировке 0,25 мг/доза (0,68 мг/мл), так и в дозировке 2,4 мг/доза (3,2 мг/мл), его высокий профиль безопасности, хорошая переносимость и отсутствие иммуногенности.

Велгия® выпускается в эргономичных шприц-ручках, в 5 дозировках, каждая из которых содержит одну из следующих назначенных доз семаглутида: 0,25 мг/доза, 0,5 мг/доза, 1 мг/доза, 1,7 мг/доза, 2,4 мг/доза. Каждая шприц-ручка содержит четыре дозы препарата, что соответствует использованию препарата в течение месяца (при применении 1 раз в неделю).

Поэтапная титрация Велгия® способствует безопасному и эффективному снижению массы тела. Лекарственное средство производится в России по полному циклу — от химического синтеза субстанции до готовой лекарственной формы. Назначение препарата не требует углубленной диагностики, и может быть реализовано врачами различных специальностей в качестве дополнения к низкокалорийной диете и физической активности для снижения массы тела по показанию «ожирение и избыточная масса тела», что позволит проводить эффективную и безопасную терапию соответствующих пациентов вне зависимости от их пола, возраста и наличия сопутствующих заболеваний.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Клиническое исследование проводилось при поддержке компании ООО «Промомед Рус».

Спонсор не оказывал влияние на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.С. Аметов — разработка концепции клинического исследования, анализ и описание результатов, корректировка текста; К.Я. Заславская — анализ и подбор литературных источников, написание текста статьи; Е.А. Рогожина — обсуждение дизайна и результатов исследования; П.А. Белый — реализация дизайна исследования, обработка данных исследования; В.С. Щербакова — разработка дизайна и концепции исследования, написание текста статьи; Ю.Г. Казайшвили — разработка дизайна и концепции клинического исследования; А.В. Таганов — анализ и описание результатов, поиск и анализ литературных источников; Т.Г. Бодрова, Е.С. Мищенко, К.Н. Корянова, Л.И. Щербакова — обработка данных исследования, редактирование текста 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. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults // *Lancet*. – 2024. – Vol. 403, No. 10431. – P. 1027–1050. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)02750-2
2. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Шестакова М.В., Трошина Е.А., Мазурина Н.В., Шестакова Е.А., Яшков Ю.И., Неймарк А.Е., Бирюкова Е.В., Бондаренко И.З., Бордан Н.С., Дзгоева Ф.Х., Ершова Е.В., Комшилова К.А., Мкртумян А.М., Петунина Н.А., Романцова Т.И., Старостина Е.Г., Стронгин Л.Г., Суплотова Л.А., Фадеев В.В. Национальные клинические рекомендации по лечению морбидного ожирения у взрослых. 3-ий пересмотр (лечение морбидного ожирения у взрослых) // *Ожирение и метаболизм*. – 2018. – Т. 15, № 1. – С. 53–70. DOI: 10.14341/omet2018153-70
3. Lingvay I., Cohen R.V., Roux C.W.L., Sumithran P. Obesity in adults // *Lancet*. – 2024. – Vol. 404, No. 10456. – P. 972–987. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)01210-8
4. Wadden T.A., Bailey T.S., Billings L.K., Davies M., Frias J.P., Koroleva A., Lingvay I., O’Neil P.M., Rubino D.M., Skovgaard D., Wallenstein S.O.R., Garvey W.T.; STEP 3 Investigators. Effect of Subcutaneous Semaglutide vs Placebo as an Adjunct to Intensive Behavioral Therapy on Body Weight in Adults with Overweight or Obesity: The STEP 3 Randomized Clinical Trial // *JAMA*. – 2021. – Vol. 325, No. 14. – P. 1403–1413. DOI: 10.1001/jama.2021.1831
5. Kaplan L.M., Golden A., Jinnett K., Kolotkin R.L., Kyle T.K., Look M., Nadglowski J., O’Neil P.M., Parry T., Tomaszewski K.J., Stevenin B., Lilleøre S.K., Dhurandhar N.V. Perceptions of Barriers to Effective Obesity Care: Results from the National ACTION Study // *Obesity (Silver Spring)*. – 2018. – Vol. 26, No. 1. – P. 61–69. DOI: 10.1002/oby.22054
6. Maggard M.A., Shugarman L.R., Suttorp M., Maglione M., Sugeran H.J., Livingston E.H., Nguyen N.T., Li Z., Mojica W.A., Hilton L., Rhodes S., Morton S.C., Shekelle P.G. Meta-analysis: surgical treatment of obesity // *Ann Intern Med*. – 2005. – Vol. 142, No. 7. – P. 547–559. DOI: 10.7326/0003-4819-142-7-200504050-00013
7. Jensen A.B., Renström F., Aczél S., Folie P., Biraima-Steinmann M., Beuschlein F., Bilz S. Efficacy of the Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists Liraglutide and Semaglutide for the Treatment of Weight Regain After Bariatric surgery: a Retrospective Observational Study // *Obes Surg*. – 2023. – Vol. 33, No. 4. – P. 1017–1025. DOI: 10.1007/s11695-023-06484-8
8. Yang X.D., Yang Y.Y. Clinical Pharmacokinetics of Semaglutide: A Systematic Review // *Drug Des Devel Ther*. – 2024. – Vol. 18. – P. 2555–2570. DOI: 10.2147/DDDT.S470826
9. Ard J., Fitch A., Fruh S., Herman L. Weight Loss and Maintenance Related to the Mechanism of Action of Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Agonists // *Adv Ther*. – 2021. – Vol. 38, No. 6. – P. 2821–2839. DOI: 10.1007/s12325-021-01710-0
10. Amaro A., Skolnik N.S., Sugimoto D. Cardiometabolic risk factors efficacy of semaglutide in the STEP program // *Postgrad Med*. 2022. – Vol. 134, No. 1. – P. 18–27. DOI: 10.1080/00325481.2022.2147325
11. O’Neil P.M., Birkenfeld A.L., McGowan B., Mosenzon O., Pedersen S.D., Wharton S., Carson C.G., Jepsen C.H., Kabisch M., Wilding J.P.H. Efficacy and safety of semaglutide compared with liraglutide and placebo for weight loss in patients with obesity: a randomised, double-blind, placebo and active controlled, dose-ranging, phase 2 trial // *Lancet*. – 2018. – Vol. 392, No. 10148. – P. 637–649. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31773-2
12. Wilding J.P.H., Batterham R.L., Davies M., Van Gaal L.F., Kandler K., Konakli K., Lingvay I., McGowan B.M., Oral T.K., Rosenstock J., Wadden T.A., Wharton S., Yokote K., Kushner R.F.; STEP 1 Study Group. Weight regain and cardiometabolic effects after withdrawal of semaglutide: The STEP 1 trial extension // *Diabetes Obes Metab*. – 2022. – Vol. 24, No. 8. – P. 1553–1564. DOI: 10.1111/dom.14725
13. Wilding J.P.H., Batterham R.L., Calanna S., Davies M., Van Gaal L.F., Lingvay I., McGowan B.M., Rosenstock J., Tran M.T.D., Wadden T.A., Wharton S., Yokote K., Zeuthen N., Kushner R.F.; STEP 1 Study Group. Once-Weekly Semaglutide in Adults with Overweight or Obesity // *N Engl J Med*. – 2021. – Vol. 384, No. 11. – P. 989–1002. DOI: 10.1056/NEJMoa2032183
14. Davies M., Færch L., Jeppesen O.K., Pakseresht A., Pedersen S.D., Perreault L., Rosenstock J., Shimomura I., Viljoen A., Wadden T.A., Lingvay I.; STEP 2 Study Group. Semaglutide 2-4 mg once a week in adults with overweight or obesity, and type 2 diabetes (STEP 2): a randomised, double-blind, double-dummy, placebo-controlled, phase 3 trial // *Lancet*. – 2021. – Vol. 397, No. 10278. – P. 971–984. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00213-0

15. Garvey W.T., Batterham R.L., Bhatta M., Buscemi S., Christensen L.N., Frias J.P., Jódar E., Kandler K., Rigas G., Wadden T.A., Wharton S.; STEP 5 Study Group. Two-year effects of semaglutide in adults with overweight or obesity: the STEP 5 trial // *Nat Med.* – 2022. – Vol. 28, No. 10. – P. 2083–2091. DOI: 10.1038/s41591-022-02026-4
16. Lincoff A.M., Brown-Frandsen K., Colhoun H.M., Deanfield J., Emerson S.S., Esbjerg S., Hardt-Lindberg S., Hovingh G.K., Kahn S.E., Kushner R.F., Lingvay I., Oral T.K., Michelsen M.M., Plutzky J., Tornøe C.W., Ryan D.H.; SELECT Trial Investigators. Semaglutide and Cardiovascular Outcomes in Obesity without Diabetes // *N Engl J Med.* – 2023. – Vol. 389, No. 24. – P. 2221–2232. DOI: 10.1056/NEJMoa2307563
17. Ryan D.H., Lingvay I., Deanfield J., Kahn S.E., Barros E., Burguera B., Colhoun H.M., Cercato C., Dicker D., Horn D.B., Hovingh G.K., Jeppesen O.K., Kokkinos A., Lincoff A.M., Meyhöfer S.M., Oral T.K., Plutzky J., van Beek A.P., Wilding J.P.H., Kushner R.F. Long-term weight loss effects of semaglutide in obesity without diabetes in the SELECT trial // *Nat Med.* – 2024. – Vol. 30, No. 7. – P. 2049–2057. DOI: 10.1038/s41591-024-02996-7
18. Wharton S., Calanna S., Davies M., Dicker D., Goldman B., Lingvay I., Mosenzon O., Rubino D.M., Thomsen M., Wadden T.A., Pedersen S.D. Gastrointestinal tolerability of once-weekly semaglutide 2.4 mg in adults with overweight or obesity, and the relationship between gastrointestinal adverse events and weight loss // *Diabetes Obes Metab.* – 2022. – Vol. 24, No. 1. – P. 94–105. DOI: 10.1111/dom.14551
19. Ghush W., De la Rosa A., Sacoto D., Cifuentes L., Campos A., Feris F., Hurtado M.D., Acosta A. Weight Loss Outcomes Associated With Semaglutide Treatment for Patients With Overweight or Obesity // *JAMA Netw Open.* – 2022. – Vol. 5, No. 9. – P. e2231982. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2022.31982
20. Аметов А.С., Шохин И.Е., Рогожина Е.А., Бодрова Т.Г., Невретдинова М.Е., Белый П.А., Заславская К.Я., Щербакова В.С., Куркин Д.В., Корянова К.Н., Мищенко Е.С., Кесова Э.Ю., Козлов Е.Д., Самошкина Е.С., Андреев Д.Н., Казаишвили Ю.Г., Носков С.М., Балыкова Л.А. Сравнительный анализ физико-химических свойств, биоэквивалентности, безопасности и переносимости отечественного семаглутида // *Фармация и фармакология.* – 2023. – Т. 11, № 4. – С. 324–346. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-4-324-346
21. Аметов А.С., Шохин И.Е., Рогожина Е.А., Бодрова Т.Г., Невретдинова М.Е., Белый П.А., Заславская К.Я., Куркин Д.В., Корянова К.Н., Мищенко Е.С., Носков С.М. Российская разработка для лекарственной независимости в эндокринологии: сравнительный анализ биоэквивалентности, безопасности и переносимости первого отечественного лираглутида. *Фармация и фармакология.* – 2023. – Т. 11, № 3. – С. 255–276. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-255-276
22. Wang W., Wang Q., Qi X., Gurney M., Perry G., Volkow N.D., Davis P.B., Kaelber D.C., Xu R. Associations of semaglutide with first-time diagnosis of Alzheimer's disease in patients with type 2 diabetes: Target trial emulation using nationwide real-world data in the US // *Alzheimers Dement.* – 2024. – Vol. 20, No. 12. – P. 8661–8672. DOI: 10.1002/alz.14313
23. Bushnell C., Kernan W.N., Sharrief A.Z., Chaturvedi S., Cole J.W., Cornwell W.K 3rd., Cosby-Gaither C., Doyle S., Goldstein L.B., Lennon O., Levine D.A., Love M., Miller E., Nguyen-Huynh M., Rasmussen-Winkler J., Rexrode K.M., Rosendale N., Sarma S., Shimbo D., Simpkins A.N., Spatz E.S., Sun L.R., Tangpricha V., Turnage D., Velazquez G., Whelton P.K. 2024 Guideline for the Primary Prevention of Stroke: A Guideline From the American Heart Association/American Stroke Association // *Stroke.* – 2024. – Vol. 55, No. 12. – P. e344–424. DOI: 10.1161/STR.0000000000000475. Erratum in: *Stroke.* – 2024. – Vol. 55, No. 12. – P. e439. DOI: 10.1161/STR.0000000000000482. Erratum in: *Stroke.* – 2025. – Vol. 56, No. 2. – P. e98. DOI: 10.1161/STR.0000000000000486
24. Weghuber D., Barrett T., Barrientos-Pérez M., Gies I., Hesse D., Jeppesen O.K., Kelly A.S., Mastrandrea L.D., Sørrig R., Arslanian S.; STEP TEENS Investigators. Once-Weekly Semaglutide in Adolescents with Obesity // *N Engl J Med.* – 2022. – Vol. 387, No. 24. – P. 2245–2257. DOI: 10.1056/NEJMoa2208601
25. Rubino D., Abrahamsson N., Davies M., Hesse D., Greenway F.L., Jensen C., Lingvay I., Mosenzon O., Rosenstock J., Rubio M.A., Rudofsky G., Tadayon S., Wadden T.A., Dicker D.; STEP 4 Investigators. Effect of Continued Weekly Subcutaneous Semaglutide vs Placebo on Weight Loss Maintenance in Adults With Overweight or Obesity: The STEP 4 Randomized Clinical Trial // *JAMA.* – 2021. – Vol. 325, No. 14. – P. 1414–1425. DOI: 10.1001/jama.2021.3224
26. Phillips A., Clements J.N. Clinical review of subcutaneous semaglutide for obesity // *J Clin Pharm Ther.* – 2022. – Vol. 47, No. 2. – P. 184–193. DOI: 10.1111/jcpt.13574

АВТОРЫ

Аметов Александр Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эндокринологии, заведующий сетевой кафедрой ЮНЕСКО по теме «Биоэтика сахарного диабета как глобальная проблема», ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; заслуженный деятель науки РФ. ORCID ID: 0000-0002-7936-7619. E-mail: alexander.ametov@gmail.com

Белый Петр Александрович – доктор медицинских наук, старший лаборант кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ФГБОУ

ВО «Российский университет медицины» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5998-4874. E-mail: pbely@ncpharm.ru

Заславская Кира Яковлевна – ассистент кафедры биологической и фармацевтической химии с курсом организации и управления фармацией Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-7348-9412. E-mail: kiryonok@yandex.ru

Рогожина Екатерина Алексеевна – соискатель кафедры биотехнологии и промышленной фармации, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический

университет». ORCID ID: 0000-0002-3325-2605.
E-mail: e.kate.rogozhina@gmail.com

Щербакова Виктория Сергеевна – кандидат биологических наук, ассистент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7251-8744. E-mail: victoria_kaptar@mail.ru

Казаишвили Юрий Георгиевич – кандидат биологических наук, ассистент кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-0826-4177. E-mail: ykaza87@icloud.com

Таганов Алексей Викторович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры дерматовенерологии с курсом косметологии ФГАОУ ВО РУДН. ORCID ID: 0000-0001-5056-374X. E-mail: matis87177@yandex.ru

Бодрова Татьяна Геннадьевна – соискатель научно-образовательного института фармации им. К.М. Лакина ФГБОУ ВО «Российский

университет медицины» Минздрава России. ORCID ID: 0009-0001-0881-4880. E-mail: btatg@mail.ru

Мищенко Екатерина Сергеевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры токсикологической и аналитической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7778-8391. E-mail: ekaterina-mischenko1809@mail.ru

Корянова Ксения Николаевна – кандидат фармацевтических наук, начальник редакционно-издательского отдела ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1571-9301. E-mail: kskor-16@mail.ru

Щербакова Лариса Ивановна – кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой неорганической, физической и коллоидной химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7806-2805. E-mail: shcherbakovali@mail.ru

УДК 618.3-008.6



Оценка взаимосвязи минимальной равновесной концентрации блокаторов рецепторов ангиотензина II с полиморфными маркерами генов *CYP2C9* (*Arg144Cys*), *CYP2C9* (*Ile359Leu*), *AGTR1* (*A1166C*), *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*), *ACE* (*I/D*), *CYP11B2* (*C-344T*) и показателями офисного артериального давления

Е.В. Реброва, Е.В. Ших, В.В. Смирнов, Г.С. Аникин, Л.М. Игнатова, М.М. Богданов

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: katrina1987@rambler.ru

Получена 10.01.2024

После рецензирования 17.09.2024

Принята к печати 28.11.2024

Цель. Изучить взаимосвязь минимальной равновесной концентрации блокаторов рецепторов ангиотензина II с полиморфными маркерами генов *CYP2C9* (*Arg144Cys*), *CYP2C9* (*Ile359Leu*), *AGTR1* (*A1166C*), *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*), *ACE* (*I/D*), *CYP11B2* (*C-344T*) и показателей офисного артериального давления (АД).

Материалы и методы. В исследование включено 179 пациентов Московского региона с впервые выявленной артериальной гипертензией (АГ) 1–2 степени, среди которых 141 (78,8%) женщина и 38 (21,2%) мужчин в возрасте от 32 до 69 лет (средний возраст — 58,2±6,4, медианный возраст — 60 (57–63 лет), которые были рандомизированы по группам лечения валсартаном и ирбесартаном в виде моно- или комбинированной терапии с гидрохлортиазидом. Через 3 нед. фармакотерапии проводили генотипирование по полиморфным маркерам *CYP2C9* (*Arg144Cys*), *CYP2C9* (*Ile359Leu*), *AGTR1* (*A1166C*), *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*), *ACE* (*I/D*), *CYP11B2* (*C-344T*) и определение минимальной равновесной концентрации ирбесартана и валсартана. Офисное измерение АД выполняли на каждом визите.

Результаты. Носители аллелей *2 и *3 гена *CYP2C9*, генотипа T/T гена *AGT*, генотипа I/I по I/D-полиморфизму *ACE* достигали более высоких значений минимальной равновесной концентрации ирбесартана через 3 нед. фармакотерапии. Гомозиготы A/A по генетическому полиморфизму гена *AGTR1* (*A1166C*), гомозиготы D/D по I/D полиморфизму *ACE* достигали более высоких значений минимальной равновесной концентрации валсартана через 3 нед. фармакотерапии. У пациентов, принимавших ирбесартан, было выявлено более выраженное снижение офисного систолического (САД) и диастолического (ДАД) АД при увеличении концентрации на каждые 100 нг/мл через 3 нед. терапии. Ассоциации показателей с концентрацией валсартана установлено не было.

Заключение. Эффекты ирбесартана и валсартана свидетельствуют о максимальной модуляции фармакодинамических эффектов в течение 3 нед. фармакотерапии с последующим закреплением в терапевтическом диапазоне и остановкой в увеличении эффективности при дальнейшем увеличении равновесной концентрации, что может быть использовано для прогнозирования терапии, её персонализации, лучшего контроля и высокого профиля безопасности.

Ключевые слова: артериальная гипертензия; *CYP2C9*; *AGTR1*; *AGT*; *ACE*; *CYP11B*; ирбесартан; валсартан; равновесная концентрация

Список сокращений: АГ — артериальная гипертензия; АД — артериальное давление; РААС — ренин-ангиотензин-альдостероновая система; *CYP2C9* — цитохром P450, семейство 2, субсемейство C, полипептид 9; *AGTR1* — ген рецептора 1-го типа ангиотензина II, *AGT* — ген ангиотензиногена; *ACE* — ген ангиотензинпревращающего фермента; *CYP11B2* — ген альдостерон синтазы; СКФ — скорость клубочковой фильтрации; АПФ — ангиотензинпревращающий фермент; БРА — блокаторы рецепторов ангиотензина II; ДИ — доверительный интервал; ОШ — отношение шансов; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений.

Для цитирования: Е.В. Реброва, Е.В. Ших, В.В. Смирнов, Г.С. Аникин, Л.М. Игнатова, М.М. Богданов. Оценка взаимосвязи минимальной равновесной концентрации блокаторов рецепторов ангиотензина II с полиморфными маркерами генов *CYP2C9* (*Arg144Cys*), *CYP2C9* (*Ile359Leu*), *AGTR1* (*A1166C*), *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*), *ACE* (*I/D*), *CYP11B2* (*C-344T*) и показателями офисного артериального давления. *Фармация и фармакология*. 2024;12(3):247-262. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-247-262

© Е.В. Реброва, Е.В. Ших, В.В. Смирнов, Г.С. Аникин, Л.М. Игнатова, М.М. Богданов, 2024

For citation: E.V. Rebrova, E.V. Shikh, V.V. Smirnov, G.S. Anikin, L.M. Ignatova, M.M. Bogdanov. Evaluation of the relationship between the minimum steady-state concentration of angiotensin II receptor blockers and polymorphic markers of *CYP2C9* (*Arg144Cys*), *CYP2C9* (*Ile359Leu*), *AGTR1* (*A1166C*), *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*), *ACE* (*I/D*), *CYP11B2* (*C-344T*) genes and office arterial pressure. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(3):247-262. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-247-262

Evaluation of the relationship between the minimum steady-state concentration of angiotensin II receptor blockers and polymorphic markers of *CYP2C9* (*Arg144Cys*), *CYP2C9* (*Ile359Leu*), *AGTR1* (*A1166C*), *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*), *ACE* (*I/D*), *CYP11B2* (*C-344T*) genes and office arterial pressure

E.V. Rebrova, E.V. Shikh, V.V. Smirnov, G.S. Anikin, L.M. Ignatova, M.M. Bogdanov

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

E-mail: katrina1987@rambler.ru

Received 10 Jan 2024

After peer review 17 Sep 2024

Accepted 28 Nov 2024

The aim of the work was to study the relationship of the minimum steady-state concentration of angiotensin II receptor blockers with polymorphic markers of *CYP2C9* (*Arg144Cys*), *CYP2C9* (*Ile359Leu*), *AGTR1* (*A1166C*), *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*), *ACE* (*I/D*), *CYP11B2* (*C-344T*) genes and the office blood pressure (BP) indices.

Materials and methods. The study included 179 patients of the Moscow region with newly diagnosed hypertension of stages 1–2, among whom there were 141 (78.8%) women and 38 (21.2%) men aged from 32 to 69 years (mean age — 58.2±6.4, median age — 60 (57–63 years), who had been randomized into treatment groups with valsartan and irbesartan in the form of mono- or combination therapy with hydrochlorothiazide. After 3 weeks of pharmacotherapy, polymorphic markers *CYP2C9* (*Arg144Cys*), *CYP2C9* (*Ile359Leu*), *AGTR1* (*A1166C*), *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*), *ACE* (*I/D*), *CYP11B2* (*C-344T*) were genotyped and the minimum steady-state concentrations of irbesartan and valsartan were determined. The office BP measurements were performed on each visit.

Results. The carriers of alleles *2 and *3 of the *CYP2C9* gene, the genotype T/T of the *AGT* gene, the genotype I/I of the *ACE* I/D polymorphism achieved higher values of the minimum steady-state concentration of irbesartan after 3 weeks of pharmacotherapy. Homozygotes A/A for the genetic polymorphism of the *AGTR1* gene (*A1166C*), homozygotes D/D for the *ACE* I/D polymorphism reached significantly higher values of the minimum-steady concentration of valsartan after 3 weeks of pharmacotherapy. In the patients taking irbesartan, a more pronounced decrease in the office systolic (SBP) and diastolic (DBP) BP was detected with an increase in the concentration for every 100 ng/mL after 3 weeks of therapy. Any association of the indicators with the valsartan concentration was found out.

Conclusion. The effects of irbesartan and valsartan indicate a maximum modulation of pharmacodynamic effects during 3 weeks of pharmacotherapy, followed by a consolidation in the therapeutic range and a stop in the increasing the effectiveness with a further increase in the steady-state concentration, which can be used to predict therapy, personalize it, a better control and a high safety profile.

Keywords: arterial hypertension; *CYP2C9*; *AGTR1*; *AGT*; *ACE*; *CYP11B*; irbesartan; valsartan; plasma concentration

Abbreviations: AH — arterial hypertension; BP — blood pressure; RAAS — renin-angiotensin-aldosterone system; *CYP2C9* — cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 9; *AGTR1* — angiotensin II type 1 receptor gene, *AGT* — angiotensinogen gene; *ACE* gene — angiotensin-converting enzyme gene; *CYP11B2* — aldosterone synthase gene; GFR — glomerular filtration rate; ACE — angiotensin-converting enzyme; ARB — angiotensin II receptor blockers; CI — confidence interval; OR — odds ratio; SBP — systolic blood pressure; DBP — diastolic blood pressure; HR — heart rate.

ВВЕДЕНИЕ

Артериальная гипертензия (АГ) является одной из наиболее значимых проблем глобального здравоохранения [1, 2]. Она затрагивает от 16 до 37% взрослого населения по всему миру [3–5]. Высокая распространенность этого заболевания обуславливает его значительное влияние на смертность и заболеваемость, поскольку АГ является ведущим фактором риска развития сердечно-сосудистых катастроф [6], включая ишемическую болезнь сердца [7], острые нарушения мозгового кровообращения [8], сердечную недостаточность и заболевания периферических сосудов [9, 10].

Регуляция артериального давления (АД) представляет собой сложный мультифакторный процесс, в котором задействованы ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС) [11, 12], натрийуретические пептиды [13], эндотелиальные механизмы [14], симпатическая нервная система и иммунные процессы [15, 16]. Современные исследования показывают, что генетическая предрасположенность к АГ охватывает широкий спектр генетических вариаций — от редких моногенных мутаций до полигенных ассоциаций, включающих более 1500 однонуклеотидных полиморфизмов [18, 19].

Развитие фармакогеномики позволило значительно расширить представления о сложных причинно-следственных связях между уровнем АД, генетическими и эпигенетическими факторами, а также риском развития гипертонических осложнений. Первые достижения в этой области открыли новые перспективы для персонализированного подхода к антигипертензивной терапии, направленного на оптимизацию эффективности лечения и снижение риска побочных эффектов. Внедрение принципов персонализированной медицины в ведение пациентов с АГ может способствовать не только более точному подбору антигипертензивных препаратов, но и улучшению долгосрочного прогноза за счёт индивидуализированного контроля факторов риска.

ЦЕЛЬ. Изучить взаимосвязь минимальной равновесной концентрации блокаторов рецепторов ангиотензина II с полиморфными маркерами генов *CYP2C9* (*Arg144Cys*), *CYP2C9* (*Ile359Leu*), *AGTR1* (*A1166C*), *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*), *ACE* (*I/D*), *CYP11B2* (*C-344T*) и показателей офисного артериального давления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено открытое рандомизированное контролируемое фармакогенетическое и фармакокинетическое клиническое исследование.

В исследование было включено 179 пациентов Московского региона с впервые выявленной АГ 1–2 степени, среди которых были 141 (78,8%) женщина и 38 (21,2%) мужчин в возрасте от 32 до 69 лет (средний возраст — 58,2±6,4, медианный возраст — 60 (57–63 лет) [20–22]).

Критерии соответствия

Пациенты соответствовали следующим критериям включения: АГ 1–2 степени; возраст от 18 до 74 лет, наличие подписанного письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании.

Критерии не включения пациентов в исследование: АГ 3 степени, неконтролируемая АГ; артериальная гипотензия; повышенная чувствительность к ирбесартану и валсартану или вспомогательным компонентам препарата; активные заболевания печени или повышение сывороточной активности трансаминаз более чем в 3 раза, печеночная недостаточность (классы А и В по шкале Чайлд-Пью); хроническая болезнь почек 4–5 стадии (скорость клубочковой фильтрации менее 30 мл/мин/1,73 м²; клиренс креатинина <30 мл/мин); сахарный диабет в стадии декомпенсации; беременность и период лактации; возраст до 18 лет и старше 75 лет; пациенты с первичным гиперальдостеронизмом; ангионевротический отёк, включая отёк Квинке; при лечении препаратами, влияющими на РААС, в том числе ингибиторами ангиотензинпревращающего

фермента (АПФ), одновременное применение алискирена и препаратов, содержащих алискирен, у пациентов с сахарным диабетом и/или умеренными или тяжёлыми нарушениями функции почек (скорость клубочковой фильтрации (СКФ) менее 60 мл/мин/1,73 м² площади поверхности тела); одновременное применение с ингибиторами АПФ у пациентов с диабетической нефропатией; непереносимость галактозы, недостаточность лактазы и синдром глюкозо-галактозной мальабсорбции; установленный диагноз злокачественного новообразования на момент включения в исследование; необходимость в постоянном приёме нестероидных противовоспалительных препаратов и/или препаратов, метаболизирующихся цитохромом Р-450 *CYP2C9*, которые могут повлиять на эффективность и профиль безопасности ирбесартана.

Критерии исключения: беременность, развитие серьёзных нежелательных лекарственных реакций, острого инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения. Ни один пациент не выбыл из исследования.

Продолжительность исследования

Набор пациентов осуществлялся в период с 1 июля 2021 по 28 августа 2022 гг. Отбор участников исследования проводили в амбулаторных лечебно-профилактических учреждениях г. Москвы, клинических базах кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Минздрава России: ГКБ им. Е.О. Мухина, ГБУЗ «Госпиталь для ветеранов войн № 3 ДЗМ», ЦКБ гражданской авиации, ГБУЗ «ГП № 2 ДЗМ».

Процедура рандомизации

Все пациенты, включённые в исследование, ранее не получали регулярной антигипертензивной терапии и были случайным образом распределены по группам ирбесартана и валсартана методом простой рандомизации (метод конвертов).

Описание методологии исследования

Участники исследования получали БРА — ирбесартан (Апровель, Санофи Винтроп Индустрия, Франция) и валсартан (Диован, Новартис Фарма ГмБХ, Германия) в монотерапии или в комбинации с гидрохлортиазидом (Коапровель, Санофи Винтроп Индустрия, Франция; Ко-диован, Новартис Фарма ГмБХ, Германия) в течение 3 мес. Было сформировано 4 группы пациентов: группа 1 (ирбесартан 150 мг 1 раз в сут) — 32 пациента; группа 2 (ирбесартан 150 мг+гидрохлортиазид 12,5 мг 1 раз в сут) — 51 пациент; группа 3 (валсартан 80 мг 1 раз в сут) — 8 пациентов; группа 4 (валсартан 80 мг+гидрохлортиазид 12,5 мг 1 раз в сут) — 88 пациентов. При достижении целевых

цифр АД через 3 нед. терапии (<140/90 мм рт.ст., при хорошей переносимости <130/80 мм рт.ст., но не <120/70 мм рт.ст.) пациенты продолжали соблюдать предписанную терапию в течение 3 мес лечения. При недостаточном контроле цифр АД проводили интенсификацию терапии путём увеличения дозы ирбесартана или валсартана до 300 и 160 мг соответственно в составе моно- или комбинированной терапии.

Через 3 нед. после включения в исследование производили забор крови вакуумной системой Vacuette (Shandong Chengwu Medical Products Factory, Китай) путём венопункции средней локтевой или подкожной вены для определения генетических полиморфизмов *CYP2C9*2* (*Arg144Cys*) и *CYP2C9*3* (*Ile359Leu*), rs5186 (*A1166C*) гена рецептора 1-го типа ангиотензина II *AGTR1*, rs699 (*Met235Thr*) гена ангиотензиногена *AGT*, rs4646994 Alu Ins/Del гена ангиотензинпревращающего фермента *ACE*, rs1799998 (*C-344T*) гена альдостерон синтазы *CYP11B2* и определения минимальной равновесной концентрации БРА. Офисное измерение АД выполняли на каждом визите — при включении в исследование, на промежуточном этапе через 3 нед. и через 3 мес терапии. Измерение АД проводилось на обеих руках по методу Короткова после 10-минутного отдыха пациента в положении сидя, и определялось как среднее значение трех измерений, сделанных с интервалом в 1 мин [20–22].

Определение генетического полиморфизма

Для определения генетических полиморфизмов использовали метод ПЦР в реальном времени на ДНК-амплификаторе «CFX96 Touch Real Time System» с программным обеспечением «CFX Manager» компании BioRad (США) и коммерческие наборы.

Выявление аллелей *CYP2C9*2* (*Arg144Cys*) и *CYP2C9*3* (*Ile359Leu*) проводили с помощью набора «РеалБест-Генетика Варфарин» производства «ВекторБест» (Россия), основанном на ПЦР с последующим анализом кривых плавления образующихся ампликонов.

Определение генетического полиморфизма rs5186 (*A1166C*) гена рецептора 1-го типа ангиотензина II *AGTR1* проводили с помощью набора реагентов для выявления полиморфизма в геноме человека «SNP-ЭКСПРЕСС» в режиме реального времени производства ООО НПФ «Литех» (Россия).

Определение генетического полиморфизма rs699 (*Met235Thr*) гена ангиотензиногена *AGT* проводили с помощью набора реагентов для выявления полиморфизма в геноме человека «SNP-ЭКСПРЕСС» в режиме реального времени производства ООО НПФ «Литех» (Россия).

Определение генетического полиморфизма rs4646994 Alu Ins/Del гена *ACE* проводили с помощью набора «SNP-SHOT» Two step производства ООО НПФ «Литех» (Россия) и прилагающейся к нему инструкции.

Определение генетического полиморфизма rs1799998 (*C-344T*) гена альдостерон синтазы *CYP11B2* проводили с помощью набора реагентов для выявления полиморфизма в геноме человека «SNP-Скрин» ЗАО НПК «Синтол» (Россия).

Исследование концентрации ирбесартана и валсартана

Исследование концентрации ирбесартана и валсартана в плазме крови проводилось с помощью метода ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1290 Infinity II LC coupled with the 6470 Triple Quadrupole LC/MS (Agilent Technologies, США) с использованием стандартных калибровочных растворов с концентрациями 2500, 1000, 500, 250, 100, 50, 25 и 10 нг/мл, трифторуксусной кислоты, ацетонитрила и воды очищенной Milli-Q для ВЭЖХ. Дополнительное оборудование включало аналитические весы ME54 МЕТТЛЕР ТОЛЕДО (США), одноканальные механические дозаторы с варьруемым объёмом 100–1000 и 20–200 мкл (Thermo Scientific Блэк), центрифуга (Eppendorf, Германия), колонка C-18, размером 50×2,1 мм, 1,7 мкм, жидкостной хроматограф. Переносили 250 мкл каждого калибровочного стандартного раствора ирбесартана в микропробирку вместимостью 1,5 мл, добавляли 250 мкл плазмы. Конечная концентрация калибровочных стандартных растворов ирбесартана составляла 2500, 1000, 500, 250, 100, 50, 25 и 10 нг/мл соответственно. Проводили пробоподготовку — к 500 мкл образца добавляли 500 мкл ацетонитрила. Тщательно пипетировали и центрифугировали в течение 10 мин при 13200 об./мин. Надосадок отбирали в индивидуальные микропробирки и использовали для анализа.

Переносили 250 мкл каждого калибровочного стандартного раствора валсартана в микропробирку вместимостью 1,5 мл, добавляли 250 мкл плазмы, полученную методом центрифугирования. Конечная концентрация калибровочных стандартных растворов валсартана составляла 2500, 1000, 500, 250, 100, 50, 25, 5 и 1 нг/мл соответственно. Проводили пробоподготовку — к 500 мкл образца добавляли 500 мкл ацетонитрила. Тщательно пипетировали и центрифугировали 10 мин при 13200 об./мин. Надосадок отбирали в индивидуальные микропробирки и использовали для анализа.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено Локальным этическим комитетом федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет) (Протокол № 05-21 от 10.03.2021 г.). От всех пациентов было получено письменное добровольное

информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистический анализ и визуализация полученных данных проводились с использованием среды для статистических вычислений R 4.2.3 (The R Foundation, Австрия). Описательные статистики для количественных переменных без выраженной асимметрии условных выборочных распределений были представлены в виде среднего (\pm стандартное отклонение, $M \pm SD$), для количественных переменных с выраженной асимметрией (абсолютное значение коэффициента асимметрии $>1,96$) — в виде медианы (1-й и 3-й выборочные квартили), Me (Q_1-Q_3). Описательные статистики для качественных переменных представлены в виде числа наблюдений (относительная частота, %). Для сравнения групп в отношении качественных переменных использовался точный тест Фишера. Для анализа соответствия эмпирического распределения генотипов теоретическому, определяемому равновесием Харди-Вайнберга, использовался тест отношения правдоподобия. Для корреляционного анализа использовался коэффициент ранговой корреляции r Спирмена с соответствующими 95% доверительными интервалами (95% ДИ). При наличии статистически значимой корреляции между количественными показателями проводилась оценка регрессионных коэффициентов (с соответствующими 95% ДИ) в однофакторных регрессионных моделях. Для оценки силы и статистической значимости ассоциации количественных предикторов с бинарными исходами использовались однофакторные логистические регрессионные модели, оценка коэффициентов в которых проводилась с поправкой Firth (1993) для редких исходов.

При сравнительном анализе эффектов генотипов с изменениями показателей систолического (САД), диастолического (ДАД) АД и частоты сердечных сокращений (ЧСС) использовались линейные регрессионные модели с включением термина взаимодействия между генотипом и применяемым препаратом и робастными стандартными ошибками регрессионных коэффициентов. Для оценки относительного вклада концентрации препаратов в качестве посредника (медиатора) выявленных эффектов генотипов строились две линейные регрессионные модели — двухфакторная модель исхода с включением генотипа и концентрации и однофакторная модель концентрации в зависимости от генотипа, с помощью которых проводилась оценка полного и частного эффектов генотипа и отношения коэффициентов (суммы коэффициентов) для расчёта доли эффекта генотипа, опосредованной концентрацией (стандартная ошибка оценивалась с использованием непараметрического бутстрапа).

Ассоциацию считали статистически значимой при $p < 0,05$ [20–22].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 и на рисунке 1 представлены результаты сравнительного анализа минимальной равновесной концентрации препаратов в зависимости от применения гидрохлортиазида. При проведении монотерапии достигалась более высокая концентрация ирбесартана ($p < 0,001$) и валсартана ($p=0,011$).

В ходе сравнительного анализа нами было установлено различие в отношении влияния генотипа *CYP2C9* (*Arg144Cys*) при применении ирбесартана и валсартана ($p=0,002$; рис. 2), носительство аллеля *2 у пациентов, получавших ирбесартан, было статистически значимо ассоциировано с более высокой концентрацией ирбесартана ($p < 0,001$). Среди пациентов, получавших валсартан, не было выявлено статистически значимой связи равновесной концентрации препарата с генотипом по данному локусу ($p=0,854$).

В отношении влияния генотипа *CYP2C9* (*Ile359Leu*) также выявлено различие концентрации при применении ирбесартана и валсартана ($p < 0,001$; рис. 3). Носительство аллеля *3 (33 пациента) у пациентов, получавших ирбесартан, было статистически значимо ассоциировано с более высокой концентрацией ирбесартана ($p < 0,001$), среди пациентов, получавших валсартан, не было выявлено статистически значимой связи равновесной концентрации препарата с генотипом по данному локусу ($p=0,854$).

Отмечалась тенденция к наличию ассоциации между генотипом по локусу *AGTR1* (*A1166C*) с достигнутой равновесной концентрацией при применении ирбесартана и валсартана ($p=0,086$; рис. 4). Статистически значимой ассоциации данного полиморфного сайта с концентрацией ирбесартана установлено не было ($p=0,55$), гетерозиготы по данному локусу, принимавшие валсартан, характеризовались статистически значимо меньшей концентрацией препарата по сравнению с гомозиготами AA ($p=0,001$) и CC ($p=0,032$).

Влияние генотипа *AGT* (*Met235Thr C4072T*) на равновесную концентрацию статистически значимо отличалось между пациентами, получавшими ирбесартан и валсартан ($p=0,001$; рис. 5). Применение ирбесартана гомозиготами TT было ассоциировано с более высокой равновесной концентрацией по сравнению с гетерозиготами ($p=0,019$) и гомозиготами TT ($p=0,017$). В группе пациентов, получавших валсартан, отмечена тенденция к более низкой концентрации у гомозигот TT по сравнению с гетерозиготами и гомозиготами CC ($p=0,058$).

Генотип полиморфного локуса *ACE* оказывал различное влияние на равновесную концентрацию ирбесартана и валсартана ($p=0,003$; рис. 6). У гомозигот D/D, получавших ирбесартан, отмечена

статистически значимо меньшая концентрация препарата по сравнению с гомозиготами I/I ($p=0,013$). При других попарных сравнениях статистически значимых отличий выявлено не было ($p=0,176$). Среди пациентов, получавших валсартан, наименьшей концентрацией характеризовались гомозиготы I/I и гетерозиготы, при этом различия были статистически значимыми при сравнении концентрации препаратов между гомозиготами D/D и гетерозиготами ($p=0,024$).

Была отмечена тенденция к наличию связи между равновесной концентрацией исследуемых сартанов и генотипа *CYP11B2* (C344T), при этом связь статистически значимо зависела от препарата ($p=0,007$; рис. 7). Гетерозиготы, принимавшие ирбесартан, характеризовались наиболее высокой концентрацией препарата, наименьшая концентрация валсартана была выявлена у гомозигот СС, а наиболее высокая — у гомозигот ТТ.

В таблице 3 представлены результаты изменений офисного САД, ДАД и ЧСС в ходе терапии и минимальной равновесной концентрации препарата.

У пациентов, принимавших ирбесартан, было выявлено статистически значимо более выраженное снижение офисного САД и ДАД (в среднем на 1,26 [95% ДИ: -1,51; -1] мм рт.ст. и на 0,86 [95% ДИ: -1,16; -0,55] мм рт.ст. при увеличении концентрации на каждые 100 нг/мл) при промежуточной оценке, статистически значимой ассоциации данных показателей с концентрацией валсартана установлено не было. Однако среди пациентов, получавших валсартан, при промежуточной оценке выявлено статистически значимо менее выраженное снижение офисного ЧСС в среднем на 0,25 [95% ДИ: 0,0; 0,5] уд./мин при увеличении концентрации на каждые 100 нг/мл. При оценке в конце исследования увеличение концентрации ирбесартана на каждые 100 нг/мл сопровождалось в среднем на 0,25 [95% ДИ: -0,14; 0,64] мм рт.ст. менее выраженное снижение офисного ДАД, увеличение концентрации валсартана на каждые 100 нг/мл было статистически значимо ассоциировано с меньшим снижением офисного САД в среднем на 0,41 [95% ДИ: 0,02; 0,79] мм рт.ст. и офисной ЧСС в среднем на 0,38 [95% ДИ: 0,21; 0,55] уд./мин.

При проведении однофакторного регрессионного анализа увеличение концентрации ирбесартана и валсартана на каждые 100 нг/мл сопровождалось увеличением шансов достижения целевых цифр АД при промежуточном исследовании в среднем в 1,21 [95% ДИ: 1,08; 1,37] раза ($p=0,001$) и 1,3 [95% ДИ: 1,16; 1,46] раза ($p < 0,001$; рис. 8), а также снижением потребности в интенсификации терапии (ОШ=0,51 [95% ДИ: 0,36; 0,7] и 0,78 [95% ДИ: 0,7; 0,88] ($p < 0,001$ соответственно) (рис. 9). В конце исследования отмечена обратная ассоциация концентрации ирбесартана и шансов достижения целевого АД (ОШ=0,64 [95% ДИ: 0,42; 0,99], $p=0,043$), среди пациентов, получавших валсартан,

статистически значимой ассоциации выявлено не было (ОШ=0,96 [95% ДИ: 0,79; 1,16], $p=0,651$) (рис. 10). Среди пациентов, получавших ирбесартан, также была установлена статистически значимая связь равновесной концентрации с увеличением шансов развития артериальной гипотонии (ОШ=1,72 [95% ДИ: 1,15; 2,56], $p=0,008$). При применении валсартана ассоциация не была статистически значимой (ОШ=1,05 [95% ДИ: 0,86; 1,27], $p=0,651$) (рис. 11).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время количество исследований, посвящённых изучению ассоциации генетических полиморфизмов и концентрации БРА в плазме крови и ее возможном влиянии, ограничено количеством изучаемых генетических полиморфизмов, объёмом выборки, расовой принадлежностью.

В одном из первых исследований зависимости между концентрацией антигипертензивного препарата и его эффективностью от генотипа L. Kurland с соавт. [23] обнаружили взаимосвязь между концентрацией ирбесартана в плазме и динамикой снижения АД у пациентов с АГ гомозигот Т/Т по генетическому полиморфизму C5245T гена *AGTR1*. В исследование было включено 42 пациента с АГ 1–2 степени и гипертрофией левого желудочка, которым был назначен ирбесартан 150 мг в виде монотерапии в течение 12 нед., которым измеряли АД и концентрацию ирбесартана в минимальном его значении (через 24 ч после последней дозы), определяли генотип по пяти генетическим полиморфизмам гена *AGTR1*. Авторами было установлено, что ни концентрация ирбесартана, ни генетические полиморфизмы не были связаны с ответом АД на лечение ирбесартаном. Однако было определено взаимодействие между концентрацией ирбесартана в плазме и генетическим полиморфизмом гена *AGTR1* (C5245T) со снижением САД ($p=0,025$), и концентрация ирбесартана была связана с изменением САД у гомозигот Т/Т гена *AGTR1* (C5245T) — $r=-0,56$, $p=0,03$.

В исследовании, которое проводили в Китае G. Chen и соавт. [24], было проанализировано влияние генетического полиморфизма *CYP2C9* на концентрацию в плазме крови ирбесартана через 30 мин, 2 и 6 ч после приёма и фармакодинамическую эффективность ирбесартана. В исследовании приняли участие 196 пациентов. Авторы получили следующие результаты — пациенты с генотипом *CYP2C9*1 / CYP2C9*3* имели значительно более высокие концентрации ирбесартана в плазме по сравнению с генотипом *CYP2C9*1 / CYP2C9*1* (бета±SE=81±36) и более выраженный ответ ДАД (бета±SE=5,6±2,5 мм рт.ст.) в точке времени 6 ч, что коррелирует с полученными нами результатами. Авторы пришли к выводу, что вариант гена *CYP2C9*3* значительно изменяет концентрацию в плазме и ответ ДАД в точке времени 6 ч после лечения ирбесартаном у китайских пациентов с АГ.

Таблица 1 – Минимальная равновесная концентрация ирбесартана и валсартана в зависимости от схемы фармакотерапии, нг/мл, Ме (Q1–Q3)

Все пациенты (n=179)	Моноterapia (n=40)	Комбинированная терапия (n=139)	p
Ирбесартан			
2007 (1732–2554)	2438 (1990–2672)	1776 (1680–2293)	<0,001
Валсартан			
1163 (727–1537)	1504 (1428–1580)	1048 (688–1529)	0,011

Таблица 2 – Минимальная равновесная концентрация ирбесартана и валсартана в зависимости от генотипа CYP2C9 (Arg144Cys), CYP2C9 (Ile359Leu), AGTR1 (A1166C), AGT (C4072T), ACE (I/D полиморфизм), CYP11B2 (C-344T), нг/мл, Ме (Q1-Q3)

Ген	Генотипы	Ирбесартан, нг/мл	Валсартан, нг/мл
CYP2C9 (Arg144Cys)	*1/*1	1856 (1684–2303)	1231 (688–1562)
	*1/*2 *2/*2	2557 (2472–2630)	1095 (776–1327)
p	–	<0,001	0,854
CYP2C9 (Ile359Leu)	*1/*1	1914 (1690–2346)	1095 (586–1580)
	*1/*3	2798 (2689–2950)	1231 (1002–1355)
p	–	<0,001	0,854
AGTR1 (A1166C)	AA	2049 (1745–2573)	1428 (740–1580)
	AC	1914 (1720–2488)	776 (505–1355)
	CC	1982 (1693–2508)	1315 (1002–1629)
p	–	0,55	<0,001
AGT (C4072T)	CC	1788 (1633–2341)	1380 (1172–1568)
	CT	1909 (1707–2346)	1095 (740–1428)
	TT	2476 (1969–2672)	688 (519–1562)
p	–	0,009	0,058
ACE (I/D полиморфизм)	I/I	2346 (1973–2616)	1095 (746–1580)
	I/D	2007 (1682–2559)	1002 (519–1428)
	D/D	1789 (1690–2026)	1492 (740–1685)
p	–	0,016	0,03
CYP11B2 (C-344T)	CC	1945 (1747–2410)	889 (688–1428)
	CT	2229 (1755–2629)	1231 (505–1629)
	TT	1830 (1655–2307)	1355 (994–1580)
p	–	0,055	0,072

Таблица 3 – Результаты корреляционного анализа изменений САД, ДАД и ЧСС в ходе терапии и минимальной равновесной концентрации препарата

Показатель	Ирбесартан	Валсартан
3 недели фармакотерапии		
Δ офисного САД	-0,65 [-0,76; -0,51]; p <0,001	-0,08 [-0,27; 0,13]; p=0,465
Δ офисного ДАД	-0,48 [-0,63; -0,29]; p <0,001	-0,14 [-0,33; 0,06]; p=0,181
Δ офисной ЧСС	0,02 [-0,19; 0,24]; p=0,846	0,21 [0,01; 0,4]; p=0,036
3 месяца фармакотерапии		
Δ офисного САД	0,18 [-0,04; 0,38]; p=0,115	0,25 [0,05; 0,43]; p=0,013
Δ офисного ДАД	0,22 [0,01; 0,42]; p=0,045	0,1 [-0,1; 0,3]; p=0,312
Δ офисной ЧСС	0,18 [-0,04; 0,38]; p=0,111	0,47 [0,3; 0,61]; p <0,001

Примечание: САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений.

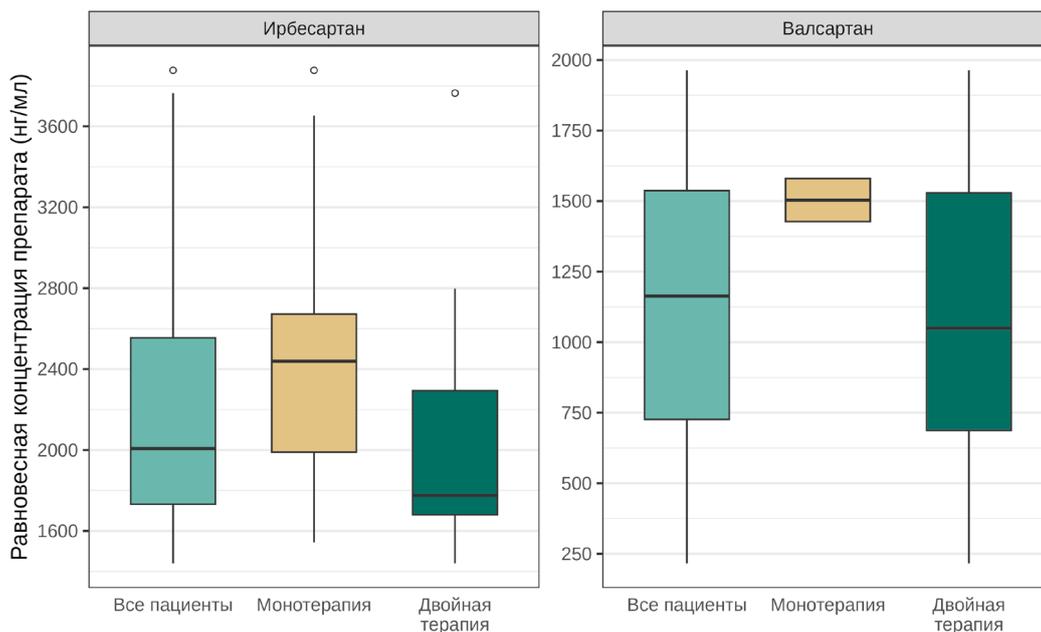


Рисунок 1 – Минимальная равновесная концентрация ирбесартана и валсартана в зависимости от схемы фармакотерапии.

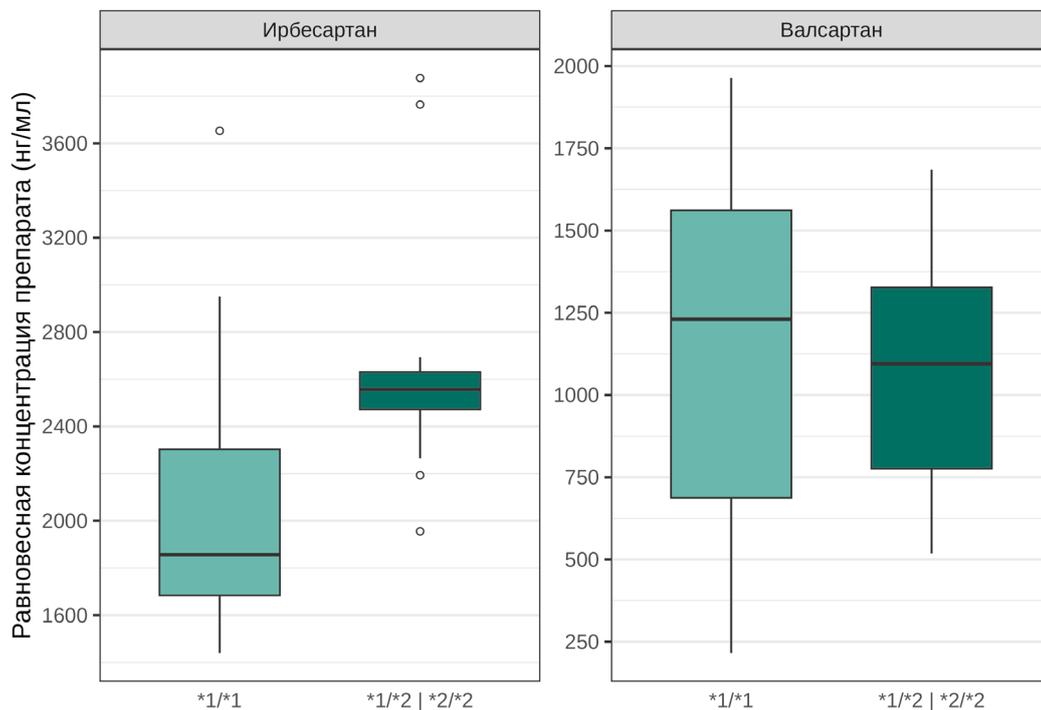


Рисунок 2 – Минимальная равновесная концентрация препаратов в зависимости от генотипа CYP2C9 (Arg144Cys) в группах пациентов ирбесартана и валсартана.

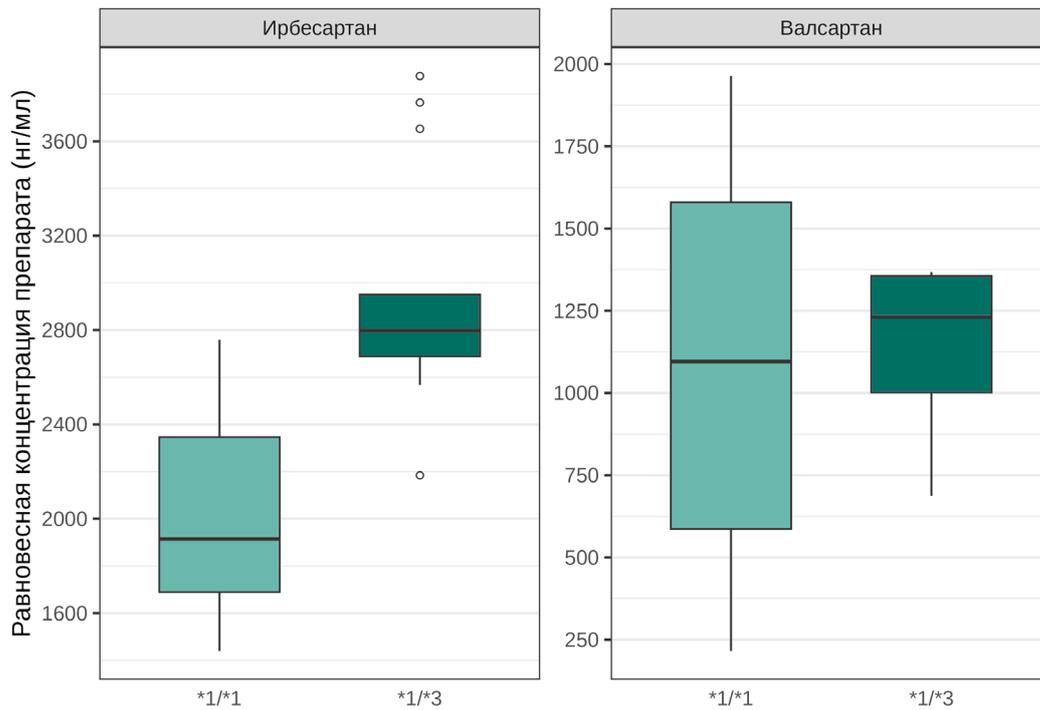


Рисунок 3 – Минимальная равновесная концентрация препаратов в зависимости от генотипа *CYP2C9* (*Ile359Leu*) в группах пациентов ирбесартана и валсартана.

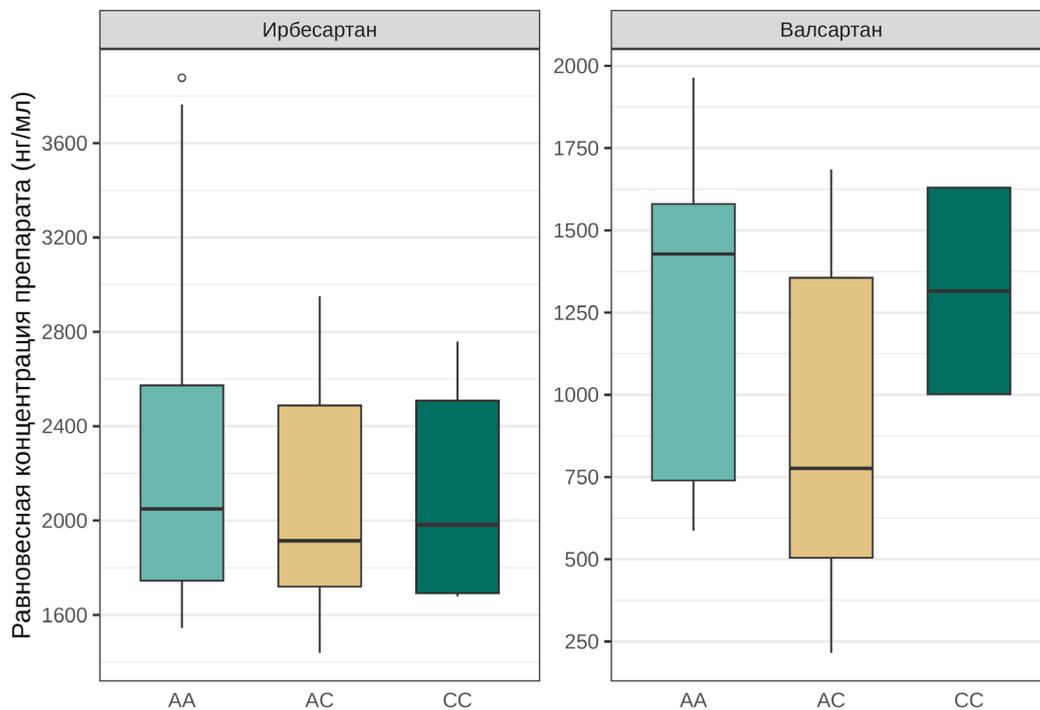


Рисунок 4 – Минимальная равновесная концентрация препаратов в зависимости от генотипа *AGTR1* (*A1166C*) в группах пациентов ирбесартана и валсартана.

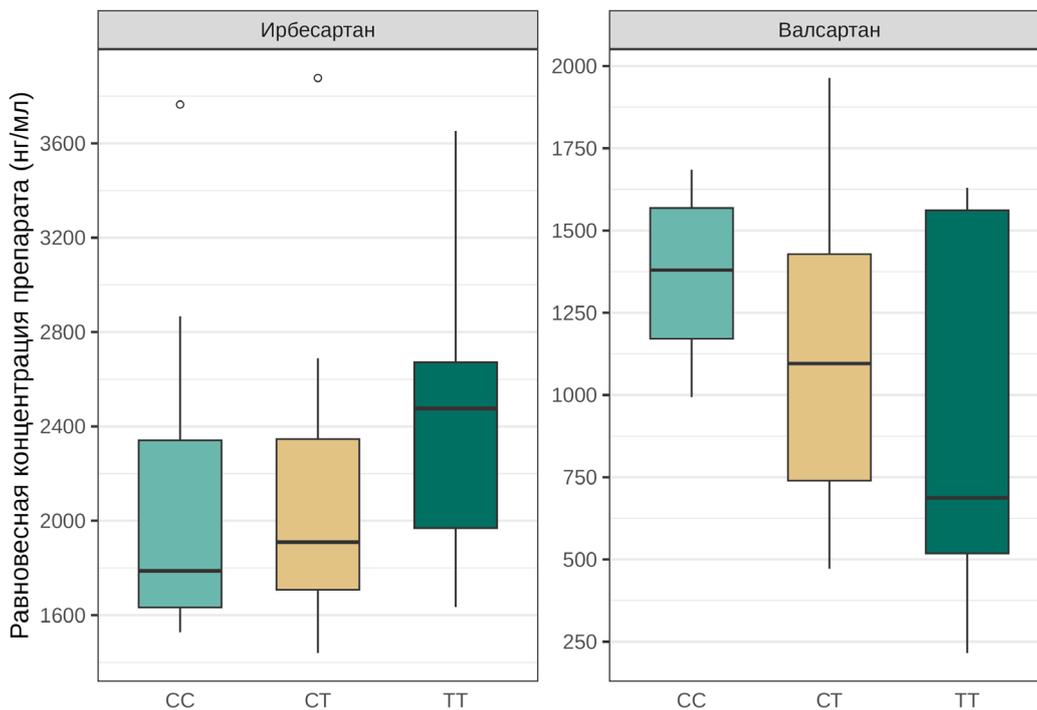


Рисунок 5 – Минимальная равновесная концентрация препаратов в зависимости от генотипа *AGT (C4072T)* в группах пациентов ирбесартана и валсартана.

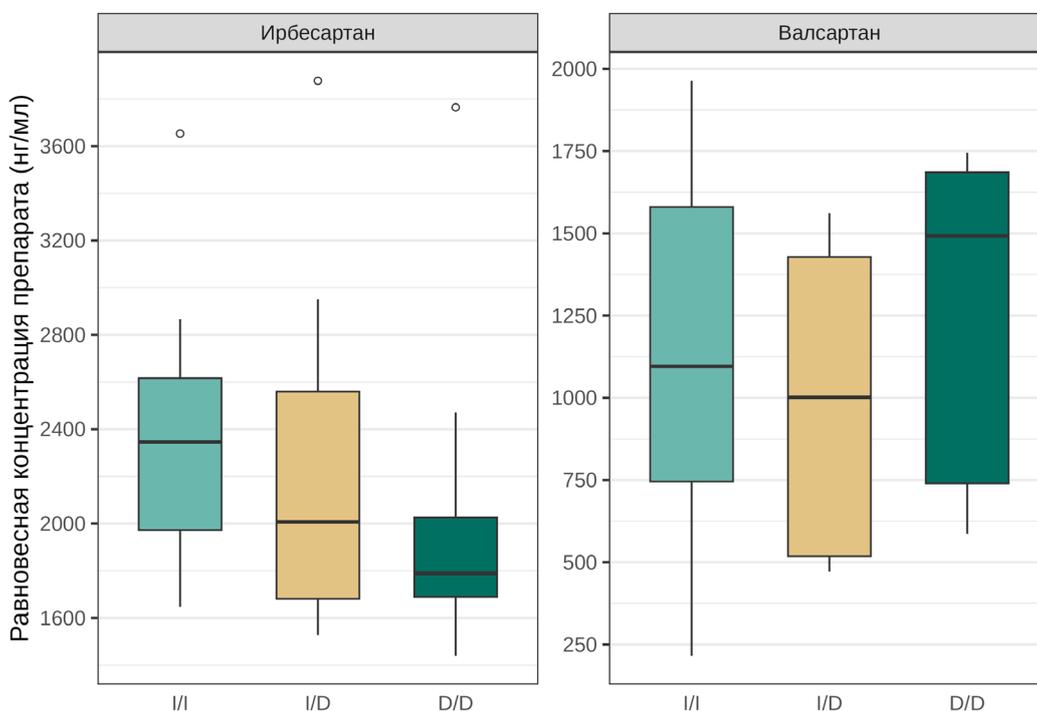


Рисунок 6 – Минимальная равновесная концентрация препаратов в зависимости от генотипа *ACE (I/D полиморфизм)* в группах пациентов ирбесартана и валсартана.

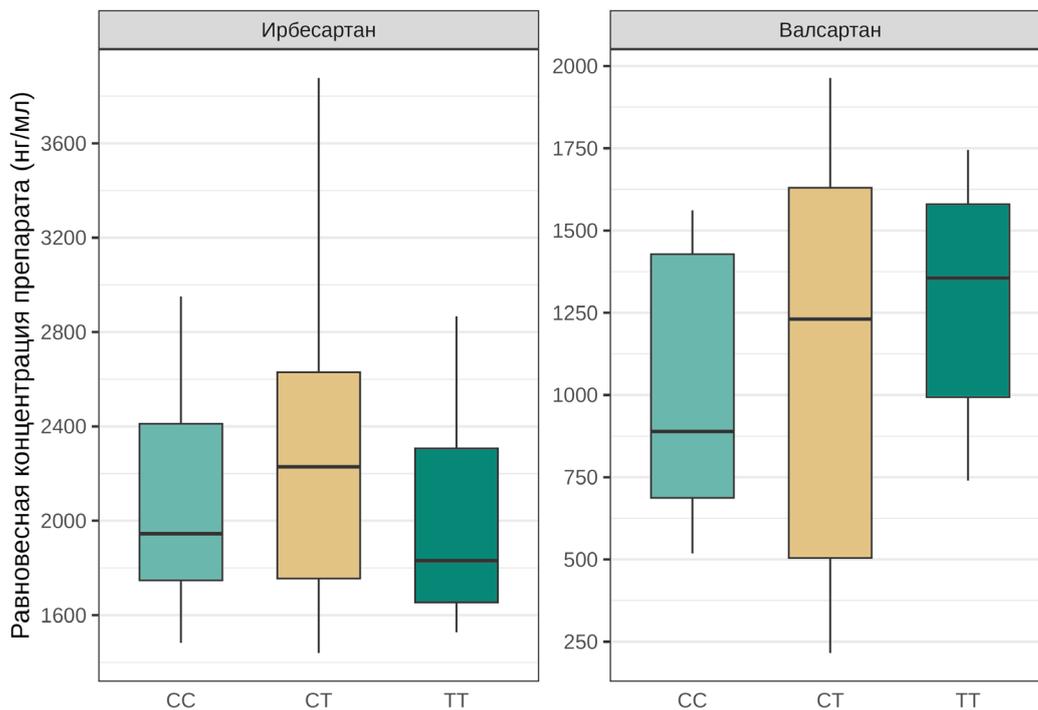


Рисунок 7 – Минимальная равновесная концентрация препаратов в зависимости от генотипа *CYP11B2* (C-344T) в группах пациентов ирбесартана и валсартана.

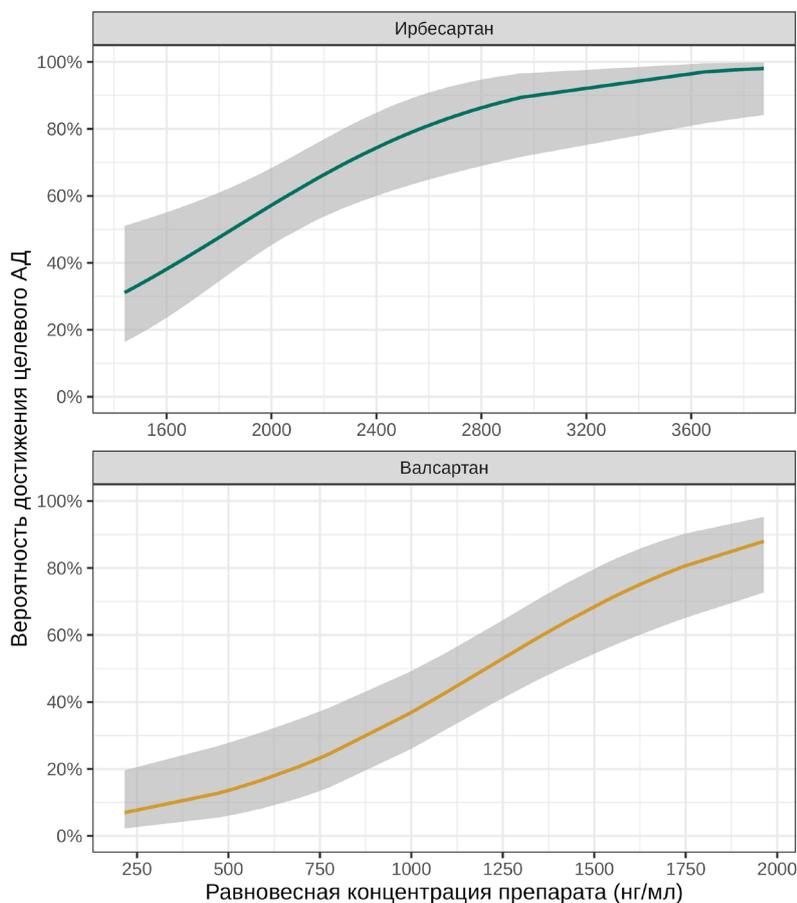


Рисунок 8 – Вероятность достижения целевого артериального давления на промежуточном этапе в зависимости от минимальной равновесной концентрации препаратов.
Примечание: АД — артериальное давление.

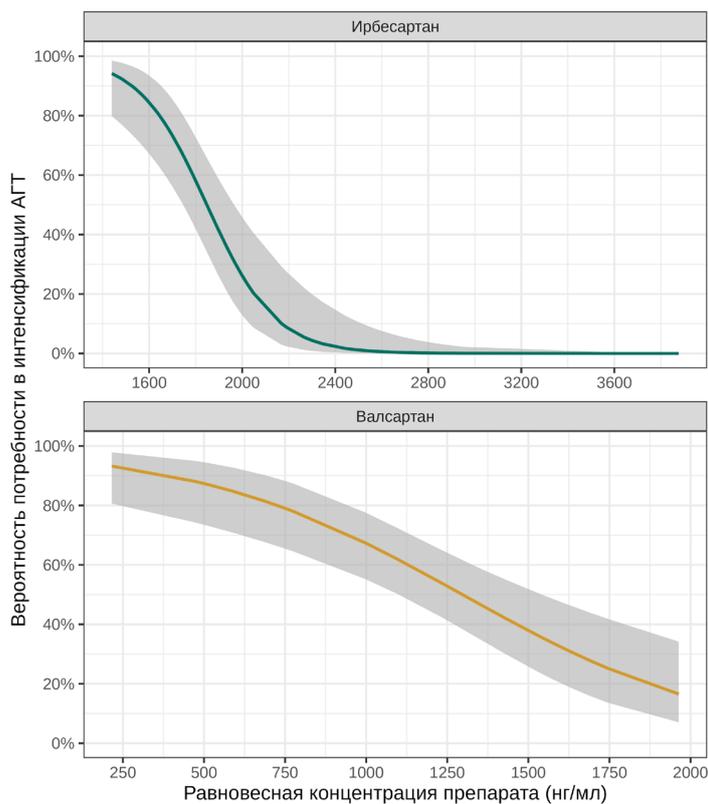


Рисунок 9 – Вероятность потребности в интенсификации антигипертензивной терапии в зависимости от минимальной равновесной концентрации препаратов.

Примечание: АГТ — антигипертензивная терапия.

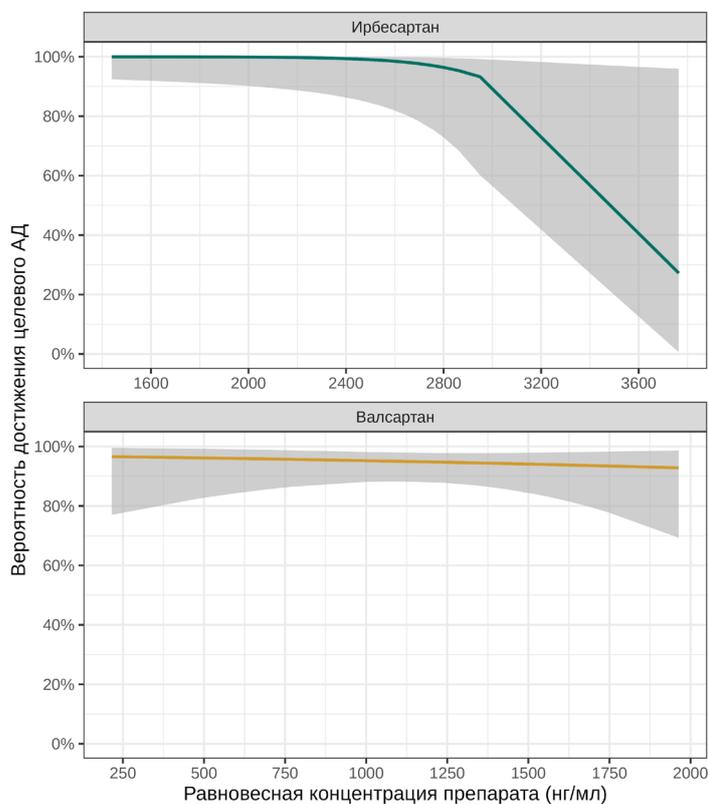


Рисунок 10 – Вероятность достижения целевого артериального давления на момент окончания исследования в зависимости от минимальной равновесной концентрации препаратов.

Примечание: АД — артериальное давление.

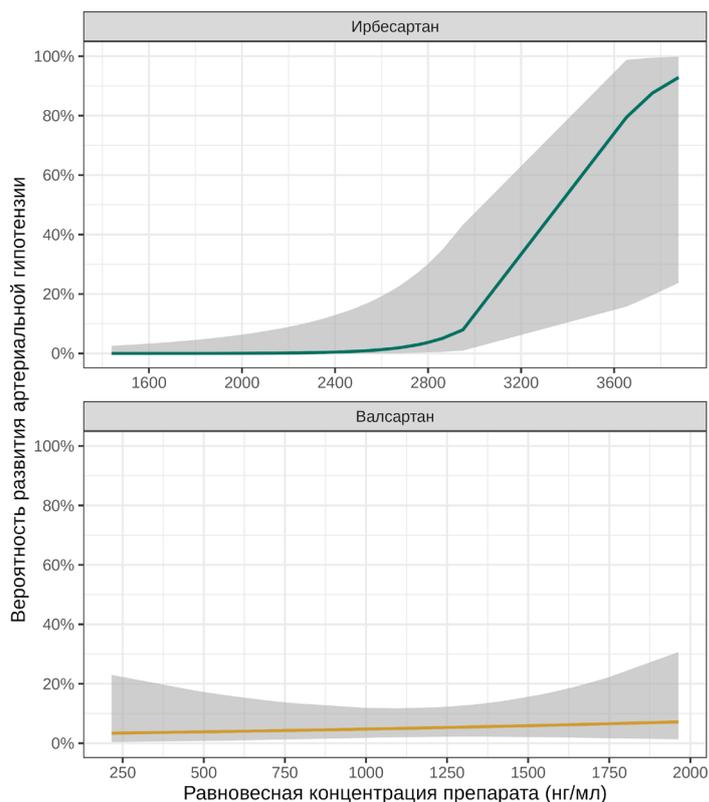


Рисунок 11 – Вероятность развития артериальной гипотензии в зависимости от минимальной равновесной концентрации препаратов.

В исследовании S. Zhang и соавт. [25] изучалась связь между полиморфизмом *ANP Val7Met* (идентификатор базы данных однонуклеотидных полиморфизмов — rs5063) и исходным АД, минимальной равновесной концентрацией ирбесартана в плазме и антигипертензивной эффективностью ирбесартана у пациентов с АГ населения Китая. В исследование были включены 756 пациентов. Авторы не обнаружили значимой связи между антигипертензивной эффективностью и полиморфизмом *Val7Met* в общей популяции, но при анализе по исходному уровню ДАД у пациентов с генотипом Val / Met+Met / Met и исходным ДАД более или равное 100 мм рт.ст. наблюдалось значительно меньшее снижение ДАД (скорректированный коэффициент регрессии был равен -5,7 [1,4] мм рт.ст.; $p < 0,001$) и САД по сравнению с пациентами с генотипом Val / Val и исходным ДАД более или равное 100 мм рт.ст. (скорректированный коэффициент регрессии — -9,8 [2,9] мм рт.ст.; $p < 0,001$). Таким образом, авторы пришли к выводу, что у пациентов с АГ, проживающих в Китае, полиморфизм *ANP Val7Met* может быть генетическим маркером исходного ДАД, концентрации ирбесартана в плазме и антигипертензивной эффективности краткосрочной терапии ирбесартаном.

В исследовании S. Hu и соавт. [26] изучали взаимосвязь полиморфизма гена кининогена

(*KNG1 Ile197Met*) и пола с концентрацией ирбесартана в плазме крови у пациентов с АГ. В исследовании приняли участие 1100 пациентов. Авторы определили, что у пациентов мужского пола носителей G аллеля, концентрация в плазме крови была значительно ниже (GG — $p=0,015$; TG — $p=0,015$, соответственно) по сравнению с генотипом TT, и пришли к выводу, что взаимодействие пола и полиморфизма гена *KNG1 Ile197Met* может влиять на концентрацию ирбесартана в плазме крови, что может способствовать более эффективной разработке персонализированного лечения АГ у китайских пациентов.

По результатам проведённого исследования в ходе сравнительного анализа были установлены различия в отношении влияния генотипа по изучаемым генетическим полиморфизмам как в группе пациентов принимающих ирбесартан, так и валсартан, на значения минимальной равновесной концентрации БРА.

Так среди пациентов, принимавших ирбесартан, цифры минимальной равновесной концентрации были значительно выше у носителей аллеля *2 по генетическому полиморфизму гена *CYP2C9 (Arg144Cys)*, носителей аллеля *3 по генетическому полиморфизму гена *CYP2C9 (Ile359Leu)*, у гомозигот T/T по генетическому полиморфизму гена *AGT (Met235Thr, C4072T)*, у гомозигот I/I по

I/D полиморфизму гена *ACE*, а также отмечена тенденция к наличию связи между минимальной равновесной концентрацией и генотипом по генетическим полиморфизмам генов *AGTR1* (A1166C) и *CYP11B2* (C-344T) — у гомозигот A/A и гетерозигот C/T, соответственно, были отмечены более высокие значения минимальной равновесной концентрации. При этом у пациентов группы ирбесартана было выявлено значимо более выраженное снижение офисного САД и ДАД при увеличении концентрации на каждые 100 нг/мл через 3 нед. приёма препарата по сравнению с группой пациентов валсартана, а через 3 мес терапии ирбесартаном на каждые 100 нг/мл статистически значимое менее выраженное снижение офисного ДАД. Увеличение концентрации в плазме крови ирбесартана на каждые 100 нг/мл сопровождалось увеличением шанса достижения целевых цифр АД через 3 нед. терапии в среднем в 1,21 [95% ДИ: 1,08; 1,37] раза ($p=0,001$) и соответственно снижением потребности в интенсификации терапии (ОШ=0,51 [95% ДИ: 0,36; 0,7] ($p < 0,001$)).

Среди пациентов, принимавших валсартан, цифры минимальной равновесной концентрации были значимо выше у гомозигот A/A по генетическому полиморфизму гена *AGTR1* (A1166C), у гомозигот D/D по I/D полиморфизму гена *ACE*, а также отмечена тенденция к наличию связи между минимальной равновесной концентрацией валсартана и генотипом генетического полиморфизма гена *AGT* (*Met235Thr*, *C4072T*) — у гомозигот C/C определялись более высокие значения. При этом при увеличении минимальной равновесной концентрации на каждые 100 нг/мл при оценке через 3 нед. фармакотерапии статистически значимых ассоциаций с показателями офисного САД и ДАД выявлено не было. При анализе через 3 мес терапии валсартаном увеличение концентрации на каждые 100 нг/мл было значимо ассоциировано с меньшим снижением офисного САД и с менее выраженным снижением вариабельности ночного САД. Увеличение концентрации в плазме крови валсартана на каждые 100 нг/мл сопровождалось увеличением шанса достижения целевых цифр АД через 3 нед. терапии в среднем в 1,3 [95% ДИ: 1,16; 1,46] раза ($p < 0,001$) и соответственно снижением потребности в интенсификации терапии (ОШ=0,78 [95% ДИ: 0,7; 0,88] ($p < 0,001$)).

Ограничения исследования

Одним из ограничений данного исследования является относительно небольшой размер выборки и отдельный регион проведения. Перспективным направлением дальнейших исследований является определение предикторов ответа на антигипертензивную терапию, включая возраст, уровень ренина, а также генетические полиморфизмы, влияющие на фармакодинамику и фармакокинетику антигипертензивных препаратов, поскольку эти факторы могут оказывать значительное влияние на эффективность и безопасность лечения.

Детальный анализ индивидуальной чувствительности пациентов к различным классам антигипертензивных препаратов позволит разработать персонализированные подходы к выбору стартовой терапии, что может повысить эффективность контроля АД и снизить риск развития нежелательных реакций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пациенты с впервые выявленной АГ 1–2 степени Московского региона носители аллелей *2 и *3 гена *CYP2C9*, генотипа T/T гена *AGT*, генотипа I/I по I/D-полиморфизму гена *ACE* достигали более высоких значений минимальной равновесной концентрации ирбесартана через 3 нед. фармакотерапии. Пациенты с впервые выявленной АГ 1–2 степени Московского региона гомозиготы A/A по генетическому полиморфизму гена *AGTR1* (A1166C), гомозиготы D/D по I/D полиморфизму гена *ACE* достигали значимо более высоких значений минимальной равновесной концентрации валсартана через 3 нед. фармакотерапии.

У пациентов, находящихся на монотерапии БРА, значения минимальной равновесной концентрации ирбесартана и валсартана были значимо выше по сравнению с пациентами, находящимися на комбинированной терапии с гидрохлортиазидом.

Полученные эффекты ирбесартана и валсартана свидетельствуют о максимальной модуляции фармакодинамических эффектов в течение 3 нед. фармакотерапии с последующим закреплением в терапевтическом диапазоне и остановкой в увеличении эффективности при дальнейшем увеличении равновесной концентрации, что может быть использовано для фармакокинетического прогнозирования терапии, её персонализации, лучшего контроля и высокого профиля безопасности.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е.В. Реброва — разработка концепции, проведение исследования, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта; Е.В. Ших — разработка концепции, проведение исследования, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта;

Г.С. Аникин — проведение исследования; В.В. Смирнов — проведение исследования, ресурсное обеспечение исследования; М.М. Богданов — проведение исследования;
Л.М. Игнатова — проведение исследования.

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. GBD 2019 Risk Factors Collaborators. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 // *Lancet*. – 2020. – Vol. 396, No. 10258. – P. 1223–1249. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30752-2
2. Poulter N.R., Prabhakaran D., Caulfield M. Hypertension // *Lancet*. – 2015. – Vol. 386, No. 9995. – P. 801–812. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61468-9
3. Garimella P.S., du Toit C., Le N.N., Padmanabhan S. A genomic deep field view of hypertension // *Kidney Int*. – 2023. – Vol. 103, No. 1. – P. 42–52. DOI: 10.1016/j.kint.2022.09.029
4. Shah W.A., Jan A., Khan M.A., Saeed M., Rahman N., Afridi M.S., Khuda F., Akbar R. Association between Aldosterone Synthase (CYP11B2) Gene Polymorphism and Hypertension in Pashtun Ethnic Population of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan // *Genes (Basel)*. – 2023. – Vol. 14, No. 6. – P. 1184. DOI: 10.3390/genes14061184
5. Wang Z., Hou J., Zheng H., Wang D., Tian W., Zhang D., Yan J. Genetic and phenotypic frequency distribution of ACE, ADRB1, AGTR1, CYP2C9*3, CYP2D6*10, CYP3A5*3, NPPA and factors associated with hypertension in Chinese Han hypertensive patients // *Medicine (Baltimore)*. – 2023. – Vol. 102, No. 10. – P. e33206. DOI: 10.1097/MD.00000000000033206
6. Correia R.R., Veras A.S.C., Tebar W.R., Rufino J.C., Garcia Batista V.R., Teixeira G.R. Strength training for arterial hypertension treatment: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials // *Sci Rep*. – 2023. – Vol. 13. – P. 201. DOI: 10.1038/s41598-022-26583-3
7. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants // *Lancet*. – 2021. – Vol. 398, No. 10304. – P. 957–980. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01330-1. Erratum in: *Lancet*. – 2022. – Vol. 399, No. 10324. – P. 520. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00061-7
8. Kontsevaya A.V., Shalnova S.A., Drapkina O.M. ESSE-RF study: epidemiology and public health promotion // *Cardiovascular Therapy and Prevention*. – 2021. – Vol. 20, No. 5. – P. 2987. DOI: 10.15829/1728-8800-2021-2987
9. Dong H., Wang F.Z., Shi K., Zhang X.S., Lv D.M. Association of Cytochrome P450 2C9*3 and Angiotensin II Receptor 1 (1166A>C) Gene Polymorphisms with the Antihypertensive Effect of Irbesartan // *Am J Hypertens*. – 2021. – Vol. 34, No. 1. – P. 121. DOI: 10.1093/ajh/hpaa134
10. Xie M., Tang T., Liang H. Efficacy of single-pill combination in uncontrolled essential hypertension: A systematic review and network meta-analysis // *Clin Cardiol*. – 2023. – Vol. 46, No. 8. – P. 886–898. DOI: 10.1002/clc.24082
11. Williams B., Mancia G., Spiering W., Agabiti Rosei E., Azizi M., Burnier M., Clement D.L., Coca A., de Simone G., Dominiczak A., Kahan T., Mahfoud F., Redon J., Ruilope L., Zanchetti A., Kerins M., Kjeldsen S.E., Kreutz R., Laurent S., Lip G.Y.H., McManus R., Narkiewicz K., Ruschitzka F., Schmieder RE., Shlyakhto E., Tsioufis C., Aboyans V., Desormais I.; ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension // *European Heart Journal*. – 2018. – Vol. 39, No. 33. – P. 3021–3104. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy339
12. National Institute for Health and Care Excellence. Hypertension in Adults: Diagnosis and Management (NG136). London: National Institute for Health and Care Excellence, 2019.
13. Wang N., Rueter P., Atkins E., Webster R., Huffman M., de Silva A., Chow C., Patel A., Rodgers A. Efficacy and Safety of Low-Dose Triple and Quadruple Combination Pills vs Monotherapy, Usual Care, or Placebo for the Initial Management of Hypertension: A Systematic Review and Meta-analysis // *JAMA Cardiol*. – 2023. – Vol. 8, No. 6. – P. 606–611. DOI: 10.1001/jamacardio.2023.0720
14. Ettehad D., Emdin C.A., Kiran A., Anderson S.G., Callender T., Emberson J., Chalmers J., Rodgers A., Rahimi K. Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis // *Lancet*. – 2016. – Vol. 387, No. 10022. – P. 957–967. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01225-8
15. Кобалава Ж.Д., Конради А.О., Недогода С.В., Шляhto Е.В., Арутюнов Г.П., Баранова Е.И., Барбараш О.Л., Бобкова Н.В., Бойцов С.А., Бубнова М.Г., Вавилова Т.В., Виллевалде С.В., Галявич А.С., Глезер М.Г., Гринева Е.Н., Гринштейн Ю.И., Драпкина О.М., Жернакова Ю.В., Звартау Н.Э., Иртыга Щ.Б., Кисляк О.А., Козиолова Н.А., Космачева Е.Д., Котовская Ю.В., Либис Р.А., Лопатин Ю.М., Небиридзе Д.В., Недошивин А.О., Никулина С.Ю., Остроумова О.Д., Ощепкова Е.В., Ратова Л.Г., Саласюк Ф.С., Скибицкий В.В., Ткачева О.Н., Троицкая Е.А., Чазова И.Е., Чесникова Е.И., Чумакова Г.А., Шальнова С.А., Шестакова М.В., Якушин С.С., Янишевский С.Н. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации 2024 // *Российский кардиологический журнал*. – 2024. – Т. 29, № 9. – С. 6117. DOI: 10.15829/1560-4071-2024-6117
16. Lackland D.T., Weber M.A. Global burden of cardiovascular disease and stroke: hypertension at the core // *Can J Cardiol*. – 2015. – Vol. 31, No. 5. – P. 569–571. DOI: 10.1016/j.cjca.2015.01.009
17. Padmanabhan S., Dominiczak A.F. Genomics of hypertension: the road to precision medicine // *Nat Rev Cardiol*. – 2021. – Vol. 18, No. 4. – P. 235–250. DOI: 10.1038/s41569-020-00466-4
18. Lip S., Padmanabhan S. Genomics of Blood Pressure and Hypertension: Extending the Mosaic Theory Toward Stratification // *Can J Cardiol*. – 2020. – Vol. 36, No. 5. – P. 694–705. DOI: 10.1016/j.cjca.2020.03.001
19. Garimella P.S., du Toit C., Le N.N., Padmanabhan S. A genomic deep field view of hypertension //

- Kidney Int. – 2023. – Vol. 103, No. 1. – P. 42–52. DOI: 10.1016/j.kint.2022.09.029
20. Реброва Е.В., Ших Е.В. Влияние инсерционно-делеционного полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента на эффективность антигипертензивной терапии блокаторов рецептора ангиотензина II // Фармация и фармакология. – 2023. – Т. 11, № 6. – С. 494–508. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-6-494-508
21. Реброва Е.В., Ших Е.В., Лазарева Н.Б. Влияние полиморфизма C-344T гена альдостерон синтазы на вариабельность антигипертензивной терапии блокаторами рецептора ангиотензина II: открытое рандомизированное контролируемое клиническое исследование // Фармация и фармакология. – 2024. – Т. 12, № 2. – С. 92–104. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-2-92-104
22. Реброва Е.В., Ших Е.В., Казаков Р.Е., Мелконян Г.Г., Кулагина Н.П. Анализ частоты встречаемости полиморфизмов генов CYP2C9, AGTR1, AGT, ACE, CYP11B2 у пациентов с впервые выявленной артериальной гипертензией 1–2 степеней // Фарматека. – 2023. – Т. 30, № 14. – С. 78–86. DOI: 10.18565/pharmateca.2023.14.78-86
23. Kurland L., Hallberg P., Melhus H., Liljedahl U., Hashemi N., Syvänen A.C., Lind L., Kahan T. The relationship between the plasma concentration of irbesartan and the antihypertensive response is disclosed by an angiotensin II type 1 receptor polymorphism: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs. Atenolol (SILVHIA) Trial // Am J Hypertens. – 2008. – Vol. 21, No. 7. – P. 836–839. DOI: 10.1038/ajh.2008.190
24. Chen G., Jiang S., Mao G., Zhang S., Hong X., Tang G., Li Z., Liu X., Zhang Y., Xing H., Wang B., Yu Y., Xu X. CYP2C9 Ile359Leu polymorphism, plasma irbesartan concentration and acute blood pressure reductions in response to irbesartan treatment in Chinese hypertensive patients // Methods Find Exp Clin Pharmacol. – 2006. – Vol. 28, No. 1. – P. 19–24. DOI: 10.1358/mf.2006.28.1.962773
25. Zhang S., Mao G., Zhang Y., Tang G., Wen Y., Hong X., Jiang S., Yu Y., Xu X. Association between human atrial natriuretic peptide Val7Met polymorphism and baseline blood pressure, plasma trough irbesartan concentrations, and the antihypertensive efficacy of irbesartan in rural Chinese patients with essential hypertension // Clin Ther. – 2005. – Vol. 27, No. 11. – P. 1774–1784. DOI: 10.1016/j.clinthera.2005.11.008
26. Hu S., Cheng J., Weinstock J., Fan X., Venners S.A., Hsu Y.H., Suwen Wu., Pan F., Zha X., Sun J., Jiang S., Xu X. A gender-specific association of the polymorphism Ile197Met in the kininogen 1 gene with plasma irbesartan concentrations in Chinese patients with essential hypertension // J Hum Hypertens. – 2018. – Vol. 32, No. 11. – P. 781–788. DOI: 10.1038/s41371-018-0119-1

АВТОРЫ

Реброва Екатерина Владиславовна — кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0002-4374-9754. E-mail: rebrova_e_v@staff.sechenov.ru

Ших Евгения Валерьевна — доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0001-6589-7654. E-mail: shikh_e_v@staff.sechenov.ru

Смирнов Валерий Валерьевич — доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0002-8232-6682. E-mail: smirnov_v_v_1@staff.sechenov.ru

Аникин Георгий Станиславович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0002-6298-4186. E-mail: anikin_g_s@staff.sechenov.ru

Игнатова Людмила Михайловна — студентка 4 курса института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0009-0008-7499-1042. E-mail: Nutri_mila@mail.ru

Богданов Максим Михайлович — студент 6-го курса института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0009-0009-9853-6113. E-mail: bogdanov_m_m@student.sechenov.ru

