



МЕДИЦИНА

№4 2019

Оглавление

Бельдиев С. Н., Егорова И. В., Платонов Д. Ю. Рекомендации по применению пероральных антикоагулянтов у пациентов пожилого возраста: критерий Бирса и доказательная медицина	1
Хорольский М. Д., Чапленко А. А., Власов А. М., Масленникова Н. В., Раменская Г. В. Примеси нитрозаминов в лекарственных препаратах: пути образования и механизмы токсического действия	12
Летягина С. В., Шмелева С. А., Агафонова Т. Ю., Игумнова О. А. Особенности венозной гемодинамики нижних конечностей при хронических заболеваниях вен у мужчин с артериальной гипертензией	25
Ерофеева Л. Н., Сучкина Д. А. Изучение факторов, влияющих на высвобождение лекарственных средств из мазей	34
Богомолова Е. С., Олюшина Е. А., Котова Н. В., Максименко Е. О., Шапошникова М. В. Методические подходы к диагностике пищевого статуса детей и подростков (литературный обзор)	43
Розенфельд И. И., Донсков С. А., Чиликина Д. Л., Акопян А. В., Кухарчук А. Н., Мамедсахатова Л. А., Пацоева Х. М. Негативное влияние длительного систематического приема алкоголя на печень крыс	57
Мартусевич А. К., Шульгина Е. М., Симонова Ж. Г. Особенности внегастроинтестинальных проявлений хеликобактерной инфекции	67
Шарапов И. Ю., Матросова Ю. В. Сравнительная оценка пространственной контрастной чувствительности у пациентов с миопией на фоне очковой и ортокератологической коррекции	87
Андрюков К. В., Коркодинова Л. М. Использование молекулярного докинга по ферменту гидролаза E.Coli (S.Aureus) в исследовании связи «структура-активность» в ряду замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот	94
Белевский А. С., Бернс С. А., Ларцева О. А., Мясников А. Л., Надарая В. М., Талызин П. А. Эффективность и безопасность гамма-интерферона при лечении внебольничной пневмонии: результаты открытого рандомизированного исследования IN/100000-317	110

**НАУЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЭЛЕКТРОННЫЙ
ЖУРНАЛ. СПИСОК ВАК. ПУБЛИКАЦИЯ СТАТЕЙ
И ДОСТУП К МАТЕРИАЛАМ – БЕСПЛАТНО**

Журнал «Медицина»

бесплатное рецензируемое научное интернет-издание
с открытым доступом

№ 4, 2019

Главный редактор

Данишевский К. Д. д.м.н., профессор

Председатель Редакционного совета

Стародубов В. И. академик РАН

Редколлегия

Андрусенко А. А. к.м.н.
Атун Р. профессор, д-р MBBS MBA DIC FRCGP FFPN FRCP (США)
Барях Е. А. к.м.н.
Бобров А. Е. д.м.н.
Васильченко М. И. д.м.н.
Винонен М. MD PhD (Финляндия)
Власов В. В. д.м.н.
Гржибовский А. профессор MD MPhil Dr.Med (Норвегия)
Застрожин М. С. к.м.н.
Зубова Е. Ю. д.м.н.
МакКи М. профессор CBE MD DSc FMedSci (Великобритания)
Михайлов С. MBChB; MRN; MSc (Великобритания)
Мокина Н. А. д.м.н.
Мыльников А. Г. д.м.н.
Немцов А. В. д.м.н., профессор
Пережогин Л. О. д.м.н.
Переходов С. Н. д.м.н.
Петухов А. Е. к.фарм.н.
Плавинский С. Л. д.м.н., профессор
Платонов Д. Ю. д.м.н.
Родионов А. А. к.м.н.
Савчук С. А. д.х.н.
Тетенова Е. Ю. к.м.н.
Тульчинский Т. Г. MD MPH (Израиль)
Шабашов А. Е. к.м.н.
Шамов С. А. д.м.н.
Шахмарданов М. З. д.м.н.

Ответственный секретарь редакции

Колгашкин А. Ю.

Редакционный совет

Антонов Н. С. д.м.н.
Белобородов В. Б. д.м.н., профессор
Бондарь И. В. д.м.н.
Боярский С. Г. к.м.н.
Брюн Е. А. д.м.н., профессор
Виноградов Н. А. д.м.н.
Газизова И. Р. д.м.н.
Гаспаршвили А. Т. к.философ.н.
Кошкина Е. А. д.м.н., профессор
Крупичкий Е. М. д.м.н., профессор
Лоскутов И. А. д.м.н.
Никифоров В. В. д.м.н.
Новиков Г. А. д.м.н.
Петров С. Ю. д.м.н.
Прокофьева В. И. д.фарм.н., профессор
Раменская Г. В. д.фарм.н., профессор
Садчикова Н. П. д.фарм.н., профессор
Сахарова Г. М. д.м.н.
Татищев С. Ф. доцент, Университет Южной Калифорнии
Фролов М. Ю. к.м.н.

Свидетельство о регистрации средства массовой информации Эл № ФС77-52280 от 25 декабря 2012 года выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций

Адрес издания в сети Интернет: fsmj.ru

© Журнал «Медицина», 2019

Рекомендации по применению пероральных антикоагулянтов у пациентов пожилого возраста: критерии Бирса и доказательная медицина

Бельдиев С. Н.

к.м.н., доцент кафедры терапии и кардиологии

Егорова И. В.

к.м.н., ассистент кафедры терапии и кардиологии

Платонов Д. Ю.

д.м.н., заведующий кафедрой терапии и кардиологии

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России

Автор для корреспонденции: Бельдиев Сергей Николаевич; **e-mail:** sbeldiev@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

В статье представлен критический анализ рекомендаций по использованию пероральных антикоагулянтов, приведенных (со ссылкой на критерии Бирса) в отечественном согласительном документе 2018 г. «Особенности диагностики и лечения хронической сердечной недостаточности у пациентов пожилого и старческого возраста».

Ключевые слова: дабигатран, ривароксабан, апиксабан, эдоксабан, пожилые, критерии Бирса

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-1-11

Для цитирования: Бельдиев С.Н., Егорова И.В., Платонов Д.Ю. Бельдиев С.Н. Рекомендации по применению пероральных антикоагулянтов у пациентов пожилого возраста: критерии Бирса и доказательная медицина. *Медицина* 2019; 7(4): 1-11.

Введение

В конце 2018 г. в журнале «Кардиология» опубликован разработанный отечественными экспертами согласительный документ, призванный, как сказано в предисловии, «заполнить пробелы доказательной медицины в вопросах ведения пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) пожилого и старческого возраста на основе анализа современных знаний и обобщенного опыта» [1].

В одном из приложений к документу со ссылкой на «критерии Beers (рекомендации Американской гериатрической ассоциации 2015 года)» приведены сведения, из которых следует, что прямой пероральный антикоагулянт (ПОАК) дабигатран входит в перечень лекарственных средств, нежелательных для использования у пациентов пожилого возраста [1]. Другие ПОАК-ингибиторы фактора Ха ривароксабан, апиксабан и эдоксабан,

а также антагонист витамина К варфарин в перечне отсутствуют. В результате создается впечатление, что отечественные эксперты, так же как их американские коллеги, считают дабигатран менее приемлемым, чем «ксабаны» и варфарин, для назначения пожилым пациентам с ХСН, у которых имеются показания к антикоагулянтной терапии, например, фибрилляция предсердий (ФП).

Рассмотрим, насколько приведенные в приложении сведения соответствуют цели, заявленной в предисловии к согласительному документу.

Источник сведений

В разделе документа «Общие подходы к терапии пациентов пожилого и старческого возраста» сообщается следующее:

«Существует и продолжает разрабатываться ряд подходов для оценки и профилактики несоответствующих назначений лекарств у пожилых людей. Основываясь на общем посыле, эти подходы различаются в зависимости от условий клинической практики конкретных стран. Впервые подобный инструмент, известный как критерии Бирса (Beers), был предложен в США в 1991 году, обновленная версия опубликована в 2015 году под эгидой Американского гериатрического общества» [1].

Вслед за этим в тексте документа идет ссылка на рекомендации 2015 г., подготовленные экспертами American Geriatrics Society (AGS) [2]. На эти же рекомендации дана ссылка и в приложении, фрагмент которого, включающий название приложения и сведения о дабигатране, приводим в таблице 1. Как видим (табл. 1), в названии приложения наименование организации (Американская гериатрическая ассоциация) указано не столь точно, как в основной части документа (Американское гериатрическое общество). Непосредственное обращение к рекомендациям AGS показывает, что неточной является и сама ссылка. Приведенные в приложении сведения о том, что у лиц >75 лет риск кровотечений при приеме дабигатрана выше, чем при приеме варфарина, соответствуют сведениям из критериев Бирса 2012 г. (табл. 2, А) [3], а не 2015 г. (табл. 2, Б) [2].

Таблица 1. Выдержки из критериев Beers (рекомендации Американской гериатрической ассоциации 2015 года): лекарственные средства, использование которых нежелательно у пациентов пожилого возраста

Лекарственные средства	Обоснование	Рекомендации по использованию	Качество доказательств	Сила рекомендаций
Дабигатран	Повышенный риск кровотечений по сравнению с варфарином у пациентов >75 лет; недостаточно доказательств эффективности и безопасности у пациентов с клиренсом креатинина <30 мл/мин	С осторожностью у пациентов 75 лет и старше или с клиренсом креатинина <30 мл/мин	Среднее	Слабые

Адаптировано из [1].

Таблица 2. Сведения о пероральных антикоагулянтах из критериев Beers 2012 (А), 2015 (Б) и 2019 (В) годов

Drug(s)	Rationale	Recommendation	Quality of Evidence	Strength of Recommendation
А. 2012 American Geriatrics Society Beers Criteria for Potentially Inappropriate Medications to Be Used with Caution in Older Adults				
Dabigatran	Greater risk of bleeding than with warfarin in adults aged ≥ 75 ; lack of evidence for efficacy and safety in individuals with CrCl < 30 mL/min	Use with caution in adults aged ≥ 75 or if CrCl < 30 mL/min	Moderate	Weak
Б. 2015 American Geriatrics Society Beers Criteria for Potentially Inappropriate Medications to Be Used with Caution in Older Adults				
Dabigatran	Increased risk of gastrointestinal bleeding compared with warfarin and reported rates with other target-specific oral anticoagulants in adults aged ≥ 75 ; lack of evidence of efficacy and safety in individuals with CrCl < 30 mL/min	Use with caution in adults aged ≥ 75 and in patients with CrCl < 30 mL/min	Moderate	Strong
В. 2019 American Geriatrics Society Beers Criteria® for Potentially Inappropriate Medications: Drugs To Be Used With Caution in Older Adults				
Dabigatran Rivaroxaban	Increased risk of gastrointestinal bleeding compared with warfarin and reported rates with other direct oral anticoagulants when used for long-term treatment of VTE or atrial fibrillation in adults ≥ 75 years	Use with caution for treatment of VTE or atrial fibrillation in adults ≥ 75 years	Moderate	Strong

* CrCl – creatinine clearance; VTE – venous thromboembolism. Адаптировано из [2-4].

В критериях Бирса 2012 г., как и в приложении к отечественному согласительному документу, говорится о кровотечениях вообще, без уточнения локализации. В результате создается впечатление, что у лиц в возрасте ≥ 75 лет дабигатран, по сравнению с варфарином, повышает риск кровотечений в целом. В критериях Бирса 2015 г. речь идет о повышенном риске только желудочно-кишечных кровотечений (ЖКК), причем по сравнению как с варфарином, так и с другими «таргет-специфическими оральными антикоагулянтами» (target-specific oral anticoagulants; табл. 2,Б), т.е. другими ПОАК. Кроме того, в критериях Бирса 2012 г., как и в приложении к отечественному документу, указано, что рекомендации использовать дабигатран с осторожностью у лиц ≥ 75 лет или с клиренсом креатинина (КлКр) < 30 мл/мин являются слабыми (weak) [3]. В критериях Бирса 2015 г. те же самые рекомендации оценены экспертами AGS как сильные (strong) [2].

В 2019 г., уже после выхода в свет отечественного согласительного документа, опубликованы обновленные критерии Бирса [4]. На этот раз эксперты AGS отмечают, что при длительном лечении венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО) или ФП у лиц ≥ 75 лет повышенный риск ЖКК, по сравнению с варфарином и с другими ПОАК (direct oral anticoagulants), характерен не только для дабигатрана, но и для ривароксабана (табл.

2,В). Соответственно, оба препарата рекомендовано использовать с осторожностью для лечения ВТЭО или ФП у лиц ≥ 75 лет, и данная рекомендация обозначена как сильная (strong) [4].

Таким образом, приведенные в приложении сведения о дабигатране заимствованы из критериев Бирса, изданных в 2012 г., и не учитывают изменений, внесенных экспертами AGS в последующие издания.

Отражение результатов РКИ в критериях Бирса 2012-2019 гг.

Как отмечают эксперты AGS, изменения, вносимые в каждое очередное издание критериев Бирса, основаны на результатах литературного поиска в медицинских базах данных (PubMed, Cochrane Library), а перечень лекарств, потенциально нежелательных для использования у людей пожилого возраста, представлен преимущественно лекарственными средствами, доступными в США [2-5]. Если сопоставить сведения о сравнительной безопасности ПОАК и варфарина, приведенные в критериях Бирса 2012-2019 гг., с датами публикаций, в которых соответствующие данные появились впервые, обнаруживается следующее.

Дабигатран одобрен в США к применению для снижения риска инсульта и системных эмболий (СЭ) у пациентов с ФП с октября 2010 г. [6]. В мае 2011 г. опубликована работа J.W. Eikelboom и соавт., в которой проанализированы результаты РКИ RE-LY (дабигатран «против» варфарина у пациентов с ФП) в зависимости от возраста участников [7]. В работе показано, что у лиц ≥ 75 лет наблюдалась тенденция к повышению относительного риска (ОР) больших кровотечений в 1,18 раза при приеме дабигатрана по 150 мг 2 раза в день (р/д), по сравнению с приемом варфарина, однако различия не достигали уровня статистической значимости: 95%-й доверительный интервал (ДИ) – от 0,98 до 1,42 (табл. 3) [7]. У лиц ≥ 75 лет, принимавших дабигатран по 110 мг 2 р/д, риск больших кровотечений был практически таким же, как у принимавших варфарин (табл. 3). Вместе с тем прием обеих доз дабигатрана сопровождался статистически значимым повышением риска больших ЖКК, по сравнению с приемом варфарина: в 1,79 и 1,39 раза соответственно (табл. 3) [7]. Результаты данной работы не нашли адекватного отражения в критериях Бирса 2012 г. (табл. 2, А) и корректная формулировка с указанием на повышенный риск ЖКК (а не просто кровотечений, без уточнения их локализации) появилась только в критериях Бирса 2015 г. (табл. 2, Б).

Таблица 3. Относительный риск неблагоприятных событий у пациентов ≥ 75 лет с ФП при приеме ПОАК по сравнению с приемом варфарина в РКИ RE-LY, ROCKET AF, ARISTOTLE и ENGAGE AF-TIMI 48

РКИ ПОАК и его доза (мг×р/д)	Относительный риск (95% доверительный интервал)			
	Инсульты / системные эмболии	Большие кровотечения		
		все	внутричерепные	желудочно- кишечные
RE-LY				
дабигатран (150×2)	0,67 (0,49-0,90)	1,18 (0,98-1,42)	0,42 (0,25-0,70)	1,79 (1,35-2,37)
дабигатран (110×2)	0,88 (0,66-1,17)	1,01 (0,83-1,23)	0,37 (0,21-0,64)	1,39 (1,03-1,98)
ROCKET AF				
ривароксабан (20/15×1)	0,80 (0,63-1,02)	1,11 (0,92-1,34)	0,80 (0,50-1,28)	нет расчетов*
ARISTOTLE				
апиксабан (5/2,5×2)	0,71 (0,53-0,95)	0,64 (0,52-0,79)	0,34 (0,20-0,57)	нет данных
ENGAGE AF-TIMI 48				
эдоксабан (60×1)	0,83 (0,67-1,04)	0,83 (0,70-0,99)	0,40 (0,26-0,62)	1,32 (1,01-1,72)
эдоксабан (30×1)	1,12 (0,91-1,37)	0,47 (0,38-0,58)	0,31 (0,19-0,49)	0,72 (0,53-0,98)

* Частота ЖКК – 2,81 и 1,66 на 100 человек в год в подгруппах ривароксабана и плацебо соответственно ($p = 0,0002$). Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия между ПОАК и варфарином в показателях относительного риска. Адаптировано из [7-10].

Следующим ПОАК, одобренным в США для снижения риска инсульта и СЭ у пациентов с ФП, стал ривароксабан. Это произошло в ноябре 2011 г. [6]. В июле 2014 г. вышла в свет работа J.L. Halperin и соавт. [8], в которой продемонстрировано, что в РКИ ROCKET AF (ривароксабан «против» варфарина у пациентов с ФП) частота больших кровотечений при приеме ривароксабана и варфарина в возрастной группе ≥ 75 лет была сопоставимой: ОР – 1,11, 95% ДИ – 0,92-1,34 (табл. 3). Однако большие ЖКК в подгруппе ривароксабана регистрировались в 1,69 раза чаще, чем в подгруппе варфарина: частота – 2,81 и 1,66 на 100 человек в год соответственно (различия статистически значимы: $p = 0,0002$; табл. 3, примечание) [8]. Характерно, что в работе J.L. Halperin и соавт. приведены показатели относительной частоты ЖКК и величины p , а соответствующие им ОР и 95% ДИ не рассчитаны. Возможно, это стало одной из причин того, что сведения о повышенном риске ЖКК у пациентов ≥ 75 лет при приеме ривароксабана, по сравнению с приемом варфарина, не нашли отражения в критериях Бирса 2015 г. и появились только в следующем издании 2019 г. (табл. 2,В).

Вслед за ривароксабаном еще два ингибитора фактора Ха были одобрены в США для применения у пациентов с ФП с целью снижения риска инсульта и СЭ: апиксабан – в декабре 2012 г. и эдоксабан – в январе 2015 г. [6]. В работе E.T. Kato и соавт., опубликованной в мае 2016 г., показано, что в РКИ ENGAGE AF-TIMI 48 (эдоксабан «против» варфарина у пациентов с ФП) в возрастной группе ≥ 75 лет прием эдоксабана по 60 мг 1 р/д сопровождался статистически значимым повышением риска больших ЖКК (в 1,32 раза), по сравнению с приемом варфарина (табл. 3) [9]. Однако в критериях Бирса 2019 г. данный факт не упоминается и среди ПОАК, повышающих, по сравнению с

варфарином, риск ЖКК у людей ≥ 75 лет, значатся только дабигатран и ривароксабан (табл. 2,В).

В отличие от эдоксабана, отсутствие в критериях Бирса апиксабана вполне объяснимо. В работе S. Halvorsen и соавт., опубликованной в июле 2014 г., сообщается, что в РКИ ARISTOTLE (апиксабан «против» варфарина у пациентов с ФП) в возрастной группе ≥ 75 лет прием апиксабана, по сравнению с приемом варфарина, сопровождался снижением риска больших кровотечений в целом, но не приводятся данные о частоте и риске ЖКК (табл. 3) [10]. Остается неясным, почему авторы работы не привели эти данные. Более поздний пример с эдоксабаном в дозе 60 мг 1 р/д показывает, что снижение риска больших кровотечений в целом на фоне приема ПОАК не исключает того, что риск больших ЖКК окажется выше, чем при приеме варфарина (табл. 3) [9].

Обращает внимание (табл. 3), что в возрастных группах ≥ 75 лет все четыре ПОАК продемонстрировали снижение (дабигатран, апиксабан, эдоксабан) или тенденцию к снижению (ривароксабан) риска внутричерепных кровотечений, по сравнению с варфарином [7-10]. В частности, в РКИ RE-LY у пациентов ≥ 75 лет, принимавших дабигатран по 150 мг 2 р/д, ежегодная частота внутричерепных кровотечений составляла 0,41%, а у принимавших варфарин – 1,00%; при этом ежегодная частота больших ЖКК составляла соответственно 2,80% и 1,59% [7]. Разница между двумя первыми показателями (0,59%) примерно вдвое меньше, чем между двумя вторыми (1,21%). И это означает, что в РКИ RE-LY у пациентов в возрасте ≥ 75 лет на каждые два ЖКК, предотвращенных приемом варфарина, приходилось примерно одно спровоцированное им же внутричерепное кровотечение. Тем не менее, варфарин, в отличие от дабигатрана и ривароксабана, остается не включенным в перечень потенциально нежелательных лекарств, требующих осторожности при использовании у пациентов ≥ 75 лет (табл. 2). По-видимому, эксперты AGS считают внутричерепные кровотечения менее серьезной проблемой, чем ЖКК, либо полагают, что врачи не нуждаются в дополнительных напоминаниях о возможных неблагоприятных последствиях применения варфарина.

Таким образом, критерии Бирса 2012-2015 гг. и даже обновленные критерии Бирса 2019 г. не могут рассматриваться как полноценные источники современных знаний о безопасности ПОАК, по сравнению с варфарином, у пациентов в возрасте ≥ 75 лет.

Обоснованность и актуальность для отечественной практики сведений о ПОАК из критериев Бирса 2012-2019 гг.

Появление в критериях Бирса 2015-2019 гг. сравнений ПОАК не только с варфарином, но и друг с другом свидетельствует о том, что эксперты AGS придерживаются менее строгих принципов отбора доказательств, чем отечественные эксперты. Как отмечается в российских клинических рекомендациях по диагностике, профилактике и лечению

сердечной недостаточности, опубликованных в журнале «Кардиология» в середине 2018 г., в настоящее время представления об эффективности и безопасности ПОАК основываются на результатах сопоставления с варфарином в РКИ, выполненных для каждого из ПОАК в отдельности, и в этой ситуации с уверенностью судить о сравнительной эффективности и безопасности ПОАК нельзя, поскольку нет возможности полностью учесть различия между РКИ по особенностям организации и популяциям включенных в них больных [11].

Напомним также, что еще в 2016 г. на III Совещании экспертов, состоявшемся в рамках Российского национального конгресса кардиологов, был принят документ, в котором подчеркивалось, что при отсутствии соответствующих РКИ вопросы сравнительной эффективности и безопасности ПОАК не могут быть адекватно решены в рамках исследований реальной клинической практики в силу присущих им методологических ограничений [12]. Подтверждением этого положения являются опубликованные недавно данные, свидетельствующие о противоречивости и ненадежности результатов некоторых наблюдательных исследований ПОАК у пожилых пациентов с ФП [13].

Помимо общих ограничений, свойственных исследованиям реальной клинической практики, исследования по сравнению дабигатрана с другими ПОАК, выполненные в США, имеют еще одно ограничение. В США для применения у пациентов с ФП и КЛКр >30 мл/мин одобрена только одна доза дабигатрана – 150 мг 2 р/д [14]. В России для применения у пациентов с ФП и КЛКр ≥ 30 мл/мин одобрены две дозы препарата – 150 мг 2 р/д и 110 мг 2 р/д, причем у пациентов в возрасте ≥ 75 лет, как правило, используется доза 110 мг 2 р/д [15]. Следовательно, данные об эффективности и безопасности дабигатрана по сравнению с другими ПОАК, полученные в американских исследованиях реальной клинической практики, вряд ли могут быть экстраполированы на российских пациентов с ФП, особенно на пациентов в возрасте ≥ 75 лет.

Нельзя не учитывать и того, что рекомендация использовать дабигатран с осторожностью у пациентов с КЛКр <30 мл/мин актуальна для клинической практики США. Начиная с октября 2010 г. дабигатран одобрен в США к применению у пациентов с КЛКр 15-30 мл/мин, и основанием для этого стали не результаты РКИ RE-LY (пациенты с КЛКр <30 мл/мин в исследование не включались), а данные о фармакокинетике дабигатрана в зависимости от величины КЛКр, полученные в краткосрочном исследовании с участием 29 человек [16]. Соответственно, утверждение о недостаточности доказательств эффективности и безопасности дабигатрана у пациентов с КЛКр <30 мл/мин, а также рекомендация использовать дабигатран у данной категории больных с осторожностью, впервые появившиеся в критериях Бирса 2012 г., призваны предостеречь американских врачей от неоправданно широкого применения дабигатрана при тяжелой почечной недостаточности. В отличие от США, в России применение дабигатрана при тяжелой почечной недостаточности (КЛКр <30 мл/мин) противопоказано [17]. Поэтому включенная в согласительный документ рекомендация использовать дабигатран с осторожностью у

пациентов с КЛКР <30 мл/мин не выполняет предупредительной функции и, на наш взгляд, способна лишь дезориентировать отечественных практических врачей.

Заключение

Сведения о пероральных антикоагулянтах, заимствованные авторами отечественного согласительного документа 2018 г. из критериев Бирса 2012 г., являются недостаточно современными, полными и точными, а также не учитывают принятые в России противопоказания к применению дабигатрана. Сведения о пероральных антикоагулянтах, появившиеся в более поздних изданиях критериев Бирса (2015 и 2019 гг.), лишь отчасти основаны на результатах рандомизированных контролируемых исследований и поэтому не могут рассматриваться как полноценный источник доказательной информации для принятия решений в повседневной клинической практике.

Список литературы

1. Орлова Я.А., Ткачёва О.Н., Арутюнов Г.П., Котовская Ю.В., Васюк Ю.А., Лопатин Ю.М. и др. Особенности диагностики и лечения хронической сердечной недостаточности у пациентов пожилого и старческого возраста. Мнение экспертов Общества специалистов по сердечной недостаточности, Российской ассоциации геронтологов и гериатров и Евразийской ассоциации терапевтов. *Кардиология* 2018; 58(12S): 42-72. doi:10.18087/cardio.2560.
2. American Geriatrics Society 2015 Updated Beers Criteria for Potentially Inappropriate Medication Use in Older Adults. By the American Geriatrics Society 2015 Beers Criteria Update Expert Panel. *J Am Geriatr Soc* 2015; 63(11): 2227-2246. doi: 10.1111/jgs.13702.
3. American Geriatrics Society Updated Beers Criteria for potentially Inappropriate Medication Use in Older Adults. The American Geriatrics Society 2012 Beers Criteria Update Expert Panel. *J Am Geriatr Soc* 2012; 60(4): 616-631. doi: 10.1111/j.1532-5415.2012.03923.x.
4. American Geriatrics Society 2019 Updated AGS Beers Criteria® for Potentially Inappropriate Medication Use in Older Adults. By the 2019 American Geriatrics Society Beers Criteria® Update Expert Panel. *J Am Geriatr Soc* 2019; 67(4): 674-694. doi: 10.1111/jgs.15767.
5. Steinman M.A., Fick D.M. Using wisely: a reminder on the proper use of the American Geriatrics Society Beers Criteria®. *J Am Geriatr Soc* 2019; 67(4): 644-646. doi:10.1111/jgs.15766.
6. Zhu J., Alexander G.C., Nazarian S., Segal J.B., Wu A.W. Trends and variation in oral anticoagulant choice in patients with atrial fibrillation, 2010-2017. *Pharmacotherapy* 2018; 38(9): 907-920. doi: 10.1002/phar.2158.
7. Eikelboom J.W., Wallentin L., Connolly S.J., Ezekowitz M., Healey J.S., Oldgren J. et al. Risk of bleeding with 2 doses of dabigatran compared with warfarin in older and younger patients with atrial fibrillation: an analysis of the randomized evaluation of long-term anticoagulant therapy (RE-LY) trial. *Circulation* 2011; 123(21): 2363-2372. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.004747.
8. Halperin J.L., Hankey G.J., Wojdyla D.M., Piccini J.P., Lokhnygina Y., Patel M.R. et al. Efficacy and safety of rivaroxaban compared with warfarin among elderly patients with nonvalvular atrial fibrillation in the Rivaroxaban Once Daily, Oral, Direct Factor Xa Inhibition Compared With Vitamin K Antagonism for Prevention of Stroke and

Embolism Trial in Atrial Fibrillation (ROCKET AF). *Circulation* 2014; 130(2): 138-146. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.005008.

9. Kato E.T., Giugliano R.P., Ruff C.T., Koretsune Y., Yamashita T., Kiss R.G. et al. Efficacy and safety of edoxaban in elderly patients with atrial fibrillation in the ENGAGE AF-TIMI 48 trial. *J Am Heart Assoc* 2016; 5(5): e003432. doi: 10.1161/JAHA.116.003432.

10. Halvorsen S., Atar D., Yang H., De Caterina R., Erol C., Garcia D. et al. Efficacy and safety of apixaban compared with warfarin according to age for stroke prevention in atrial fibrillation: observations from the ARISTOTLE trial. *Eur Heart J* 2014; 35(28): 1864-1872. doi:10.1093/eurheartj/ehu046.

11. Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Беграмбекова Ю.Л., Васюк Ю.А., Гарганеева А.А. и др. Клинические рекомендации ОССН – РКО – РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение. *Кардиология* 2018; 58(6S): 8-158. doi: 10.18087/cardio.2475.

12. Арутюнов Г.П., Архипов М.В., Бакалов С.А., Бокарев И.Н., Вышлов Е.В., Гиляревский С.Р. и др. Место и значение наблюдательных исследований НОАК у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий с позиции медицины, основанной на доказательствах. *Сердце: журнал для практикующих врачей* 2016; 15(6): 441-447. doi:10.18087/rhj.2016.6.2297.

13. Бельдиев С.Н., Медведева И.В., Платонов Д.Ю., Труфанова Г.Ю. Исследования антикоагулянтной терапии у "хрупких" пожилых пациентов: проблемы терминологии и методологии. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* 2019; 15(2): 251-257. doi:10.20996/1819-6446-2019-15-2-251-257.

14. Beasley B.N., Unger E.F., Temple R. Anticoagulant options – why the FDA approved a higher but not a lower dose of dabigatran. *N Engl J Med* 2011; 364(19): 1788-1790. doi:10.1056/NEJMp1103050.

15. Фомин В.В., Свистунов А.А., Напалков Д.А., Соколова А.А., Габитова М.А. Прямые пероральные антикоагулянты у пациентов с фибрилляцией предсердий в возрасте 75 лет и старше: баланс эффективности и безопасности. *Терапевтический архив* 2017; 89(4): 4-7. doi: 10.17116/terarkh20178944-7.

16. Hariharan S., Madabushi R. Clinical pharmacology basis of deriving dosing recommendations for dabigatran in patients with severe renal impairment. *J Clin Pharmacol* 2012; 52(S1): 119S-125S. doi: 10.1177/0091270011415527.

17. Государственный реестр лекарственных средств. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Прадакса. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru> (дата обращения 30.10.2019).

Recommendations on the use of oral anticoagulants in elderly patients: Beers criteria and evidence-based medicine

Bel'diev S. N.

PhD, Associate Professor, Chair for Therapy and Cardiology

Egorova I. V.

PhD, Assistant, Chair for Therapy and Cardiology

Platonov D. Ju.

Doctor of Medicine, Head, Chair for Therapy and Cardiology

Tver State Medical University, Tver, Russia

Corresponding Author: Bel'diev Sergej; **e-mail:** sbeldiev@yandex.ru

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Summary

The article presents a critical analysis of recommendations on oral anticoagulants use, cited (with reference to the Beers criteria) in the 2018 Russian expert opinion "Features of diagnosis and treatment of chronic heart failure in elderly and senile patients".

Keywords: dabigatran, rivaroxaban, apixaban, edoxaban, elderly, Beers criteria

References

1. Orlova I.A., Tkacheva O.N., Arutyunov G.P., Kotovskaya Y.V., Vasjuk Y.A., Lopatin Y.M., et al. Osobennosti diagnostiki i lecheniya hronicheskoy serdechnoy nedostatochnosti u pacientov pozhilogo i starcheskogo vozrasta. Mnenie ekspertov Obshchestva specialistov po serdechnoy nedostatochnosti, Rossijskoj associacii gerontologov i geriatrov i Evrazijskoj associacii terapevtov [Features of diagnostics and treatment of chronic heart failure in elderly and senile patients. Expert opinion of the Society of Experts in Heart Failure, Russian Association of Gerontologists, and Eurasian Association of Therapists]. *Kardiologiya [Cardiology]* 2018; 58(12S): 42-72. doi: 10.18087/cardio.2560. (In Russ.).
2. American Geriatrics Society 2015 Updated Beers Criteria for Potentially Inappropriate Medication Use in Older Adults. By the American Geriatrics Society 2015 Beers Criteria Update Expert Panel. *J Am Geriatr Soc* 2015; 63(11): 2227-2246. doi: 10.1111/jgs.13702.
3. American Geriatrics Society Updated Beers Criteria for potentially Inappropriate Medication Use in Older Adults. The American Geriatrics Society 2012 Beers Criteria Update Expert Panel. *J Am Geriatr Soc* 2012; 60(4): 616-631. doi: 10.1111/j.1532-5415.2012.03923.x.
4. American Geriatrics Society 2019 Updated AGS Beers Criteria® for Potentially Inappropriate Medication Use in Older Adults. By the 2019 American Geriatrics Society Beers Criteria® Update Expert Panel. *J Am Geriatr Soc* 2019; 67(4): 674-694. doi: 10.1111/jgs.15767.
5. Steinman M.A., Fick D.M. Using wisely: a reminder on the proper use of the American Geriatrics Society Beers Criteria®. *J Am Geriatr Soc* 2019; 67(4): 644-646. doi:10.1111/jgs.15766.
6. Zhu J., Alexander G.C., Nazarian S., Segal J.B., Wu A.W. Trends and variation in oral anticoagulant choice in patients with atrial fibrillation, 2010-2017. *Pharmacotherapy* 2018; 38(9): 907-920. doi: 10.1002/phar.2158.

7. Eikelboom J.W., Wallentin L., Connolly S.J., Ezekowitz M., Healey J.S., Oldgren J. et al. Risk of bleeding with 2 doses of dabigatran compared with warfarin in older and younger patients with atrial fibrillation: an analysis of the randomized evaluation of long-term anticoagulant therapy (RE-LY) trial. *Circulation* 2011; 123(21): 2363-2372. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.004747.
8. Halperin J.L., Hankey G.J., Wojdyla D.M., Piccini J.P., Lokhnygina Y., Patel M.R. et al. Efficacy and safety of rivaroxaban compared with warfarin among elderly patients with nonvalvular atrial fibrillation in the Rivaroxaban Once Daily, Oral, Direct Factor Xa Inhibition Compared With Vitamin K Antagonism for Prevention of Stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation (ROCKET AF). *Circulation* 2014; 130(2): 138-146. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.005008.
9. Kato E.T., Giugliano R.P., Ruff C.T., Koretsune Y., Yamashita T., Kiss R.G. et al. Efficacy and safety of edoxaban in elderly patients with atrial fibrillation in the ENGAGE AF-TIMI 48 trial. *J Am Heart Assoc* 2016; 5(5): e003432. doi: 10.1161/JAHA.116.003432.
10. Halvorsen S., Atar D., Yang H., De Caterina R., Erol C., Garcia D. et al. Efficacy and safety of apixaban compared with warfarin according to age for stroke prevention in atrial fibrillation: observations from the ARISTOTLE trial. *Eur Heart J* 2014; 35(28): 1864-1872. doi:10.1093/eurheartj/ehu046.
11. Mareev V.Y., Fomin I.V., Ageev F.T., Begrambekova Y.L., Vasyuk Y.A., Garganeeva A.A. et al. Klinicheskie rekomendacii OSSN – RKO – RNMOT. Serdechnaya nedostatochnost': hronicheskaya (HSN) i ostraya dekompensovanaya (ODSN). Diagnostika, profilaktika i lechenie [Russian Heart Failure Society, Russian Society of Cardiology. Russian Scientific Medical Society of Internal Medicine Guidelines for Heart failure: chronic (CHF) and acute decompensated (ADHF). Diagnosis, prevention and treatment]. *Kardiologiya [Cardiology]* 2018; 58(6S): 8-158. doi: 10.18087/cardio.2475. (In Russ.).
12. Arutyunov G.P., Arhipov M.V., Bakalov S.A., Bokarev I.N., Vyshlov E.V., Gilyarevskiy S.R. et al. Mesto i znachenie nablyudatel'nyh issledovaniy NOAK u pacientov s neklapannoj fibrillyaciej predserdij s pozicii mediciny, osnovannoj na dokazatel'stvah [Place and significance of observational studies of NOACs in patients with non-valvular atrial fibrillation from the standpoint of evidence-based medicine]. *Serdce: zhurnal dlja praktikujushhih vrachej [Russian Heart Journal]* 2016; 15(6): 441-447. doi: 10.18087/rhj.2016.6.2297. (In Russ.).
13. Bel'diev S.N., Medvedeva I.V., Platonov D.Y., Trufanova G.Y. Issledovaniya antikoagulyantnoj terapii u "hrupkih" pozilyh pacientov: problemy terminologii i metodologii [Studies of anticoagulant therapy in frail elderly patients: problems of terminology and methodology]. *Racional'naja Farmakoterapija v Kardiologii [Rational Pharmacotherapy in Cardiology]* 2019; 15(2): 251-257. doi: 10.20996/1819-6446-2019-15-2-251-257. (In Russ.).
14. Beasley B.N., Unger E.F., Temple R. Anticoagulant options – why the FDA approved a higher but not a lower dose of dabigatran. *N Engl J Med* 2011; 364(19): 1788-1790. doi:10.1056/NEJMp1103050.
15. Fomin V.V., Svistunov A.A., Napalkov D.A., Sokolova A.A., Gabitova M.A. Pryamye peroral'nye antikoagulyanty u pacientov s fibrillyaciej predserdij v vozraste 75 let i starshe: balans effektivnosti i bezopasnosti [Direct oral anticoagulants in atrial fibrillation patients aged 75 years or older: Efficacy and safety balance]. *Terapevticheskij arhiv [Therapeutic Archive]* 2017; 89(4): 4-7. doi: 10.17116/terarkh20178944-7. (In Russ.).
16. Hariharan S., Madabushi R. Clinical pharmacology basis of deriving dosing recommendations for dabigatran in patients with severe renal impairment. *J Clin Pharmacol* 2012; 52(S1): 119S-125S. doi: 10.1177/0091270011415527.
17. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv. Instrukciya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya medicinskogo primeneniya Pradaksa [The State Register of Medicinal Products of the Russian Federation. Pradaxa (dabigatran etexilate): summary of product characteristics]. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru>. (cited: October 30, 2019) (In Russ.).

Примеси нитрозаминов в лекарственных препаратах: пути образования и механизмы токсического действия

Хорольский М. Д.¹

старший лаборант, кафедра фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева

Чапленко А. А.²

эксперт 1 категории, лаборатория БМКП

Власов А. М.¹

к.ф.н., доцент, кафедра фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева

Масленникова Н. В.²

к.ф.н., начальник, лаборатория фармакопейного анализа

Раменская Г. В.¹

д.ф.н., Директор, Институт фармации

1 – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автор для корреспонденции: Хорольский Михаил Дмитриевич, **e-mail:** mkhorolski@gmail.com

Финансирование: Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

В настоящем обзоре были установлены основные источники образования нитрозаминов в лекарственных препаратах на всех стадиях обращения, а также основной механизм токсического действия данной группы примесей на организм человека. Причиной повышенного содержания нитрозаминов в препаратах группы сартанов является использование в процессе производства азотистой кислоты, которая при взаимодействии с распространенными органическими растворителями, содержащими аминогруппу, может образовывать токсические соединения. Помимо этого примеси нитрозаминов могут образовываться в процессе деградации основного или вспомогательных веществ. Итогами обзора являются выводы о необходимости дальнейшего изучения путей образования и механизма токсичности, а также разработки методик их определения в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах.

Ключевые слова: генотоксичные примеси, нитроамины, валсартан

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-12-24

Для цитирования: Хорольский М.Д., Чапленко А.А., Власов А.М., Масленникова Н.В., Раменская Г.В. Примеси нитрозаминов в лекарственных препаратах: пути образования и механизмы токсического действия. *Медицина* 2019; 7(4): 12-24.

Введение

В начале 2018 года мировой фармацевтический рынок впервые столкнулся с проблемой содержания генотоксичных примесей нитрозаминов (N-нитрозодиметиламина (NDMA) и N-нитрозодиэтиламина (NDEA)) в фармацевтических субстанциях. Новость об обнаружении органами регулирования обращения лекарственных средств ЕС и США, многократно превышающего допустимый уровень этих примесей в фармацевтической субстанции валсартана производства Zhejiang Huahai Pharmaceutical (КНР), стала неожиданной, ранее содержанию данных примесей не уделялось столь пристального внимания. Вскоре после этого FDA и EMA объявило об отзыве препаратов, содержащих субстанцию вышеуказанного производителя, а в марте 2019 года FDA обнаружило высокий уровень другой генотоксической примеси нитрозаминов – N-нитрозоаминобутановой кислоты (НМБА) – в лозартане производства компании Hetero Labs (Индия) с последующим отзывом сертификата на субстанцию. Полная хронология действий регулятора представлена на официальном сайте организации [1].

В сентябре 2019 года на основании информации от внешней лаборатории американский регулятор объявил об обнаружении токсического уровня NDMA в препарате ранитидина Zantac [2]. По результатам проверок препараты ранитидина, произведенные из субстанции компании Saraca Laboratories Limited (Индия) были в принудительном порядке отозваны EMA, однако позже американские эксперты объяснили полученные результаты завышением уровня примеси в связи с некорректной пробоподготовкой в процессе испытаний. В результате «обвинения» с препарата были сняты, однако репутационные потери, понесенные производителями и дистрибьюторами ранитидина, остались некомпенсированными.

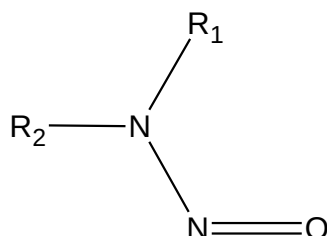
Несмотря на значительный интерес медицинского и фармацевтического сообщества к вышеописанной проблеме, а также проведение всесторонних расследований ведущими регуляторами, вопросы появления примесей нитрозаминов в лекарствах, а также их истинного уровня токсичности, остаются до конца не освещенными. В настоящей работе проведен анализ всех потенциальных источников появления примесей нитрозаминов в лекарственных препаратах (ЛП), а также приведена объективная оценка уровня токсичности данных примесей по данным опубликованных исследований.

Источники примесей нитрозаминов в ЛП

Нитрозамины – класс соединений, содержащих нитрозогруппу при диалкилзамещенной аминогруппе. Канцерогенность N-нитрозаминов хорошо изучена; выявлено, что приблизительно 90% соединений N-нитрозаминов являются канцерогенными для некоторых видов животных [3]. Подходы к минимизации и обнаружению нитрозаминов в косметической и пищевой продукциях определены в соответствующих стандартах [4,5].

Однако конкретные соединения класса нитрозаминов, детектируемые в ЛП, отличаются от таковых в косметической продукции (рис. 1). Таким образом, требуется разработка новых подходов к оценке риска образования и детектирования данных токсинов в фармацевтической продукции.

Рис. 1. Формулы нитрозопроизводных, обнаруженных в лекарственных средствах.



Название соединения	R ₁ , R ₂
Н-нитрозодиметиламин (НДМА)	CH ₃ , CH ₃
Н-нитрозодиэтиламин (НДЕА)	C ₂ H ₅ , C ₂ H ₅
Н-нитрозо-4-метил-аминобутановая кислота (НМБА)	CH ₃ , C ₃ H ₇ COOH
Н-нитрозоэтилизопропиламин (НЭИПА)	C ₂ H ₅ , C ₃ H ₇
Н-нитрозодиизопропиламин (НДИПА)	C ₃ H ₇ , C ₃ H ₇
Н-нитрозодибутиламин (НДБА)	C ₄ H ₉ , C ₄ H ₉

На основе исследований препаратов сартанового ряда и ранитидина регуляторным органом ЕС было разработано руководство, в котором содержится информация о примеси нитрозаминов для производителей лекарственных препаратов [6]. В руководстве также описываются пути образования нитрозаминов:

- использование нитрита натрия (NaNO₂) или других нитрозативных соединений в синтезе;
- использование загрязненных сырьевых материалов (растворителей, реагентов и катализаторов) в синтезе фармацевтической субстанции;
- регенерация растворителей, реагентов и катализаторов в процессе синтеза;
- использование контаминированных исходных материалов (ненадлежащий контроль вендоров);
- перекрестная контаминация от перекрестно протекающих процессов синтеза;
- деградация исходных материалов, промежуточных продуктов или лекарственных веществ;

- использование определенных видов упаковки (отмечена контаминация готового препарата, упакованного в блистер; по мнению держателя разрешения на продажу, покрывающая фольга, содержащая нитроцеллюлозный праймер, могла прореагировать с аминами в чернилах с образованием нитрозаминов, которые могли быть перенесены в препарат при определенных условиях упаковки).

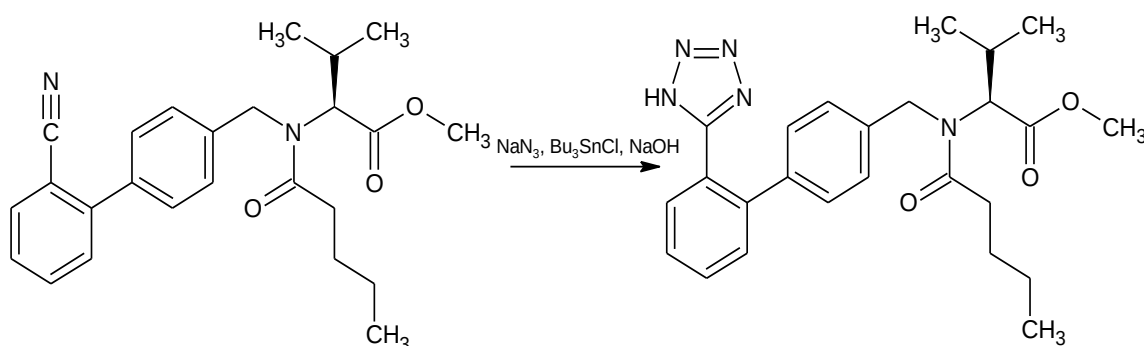
Описанные выше пути образования нитрозаминов целесообразно классифицировать на три группы:

- 1) образование в ходе синтеза действующего/вспомогательного вещества;
- 2) родственные примеси, образующиеся в процессе деградации действующего/вспомогательного вещества;
- 3) иные пути образования (образование нитрозаминов при попадании ранитидина в организм и взаимодействие первичной упаковки препарата и чернил, содержащих амины).

Образование нитрозаминов при синтезе ЛП

Образование нитрозаминов в ходе синтеза фармацевтической субстанции является одной из причин их завышенного содержания в ЛП. Увеличение содержания примеси нитрозаминов в препаратах сартанов может являться следствием оптимизации их схемы синтеза. Изменение схемы синтеза, как правило, происходит за счет использования более доступных реагентов, а также сокращения промежуточных этапов синтеза (объединения нескольких стадий в одну или др.). Классическая схема синтеза валсартана происходит путем орто-метилирования 5-фенил-1-третил-тетразола с N-бутил-литием при 25 °C в присутствии хлорида цинка [7]. При оптимизации схемы данная стадия заменяется реакцией образования тетразольного кольца с участием азидата натрия [8]. Стадия образования тетразольного кольца в улучшенной схеме синтеза валсартана изображена на рис.2.

Рис. 2. Образование тетразольного кольца в улучшенной схеме синтеза валсартана.



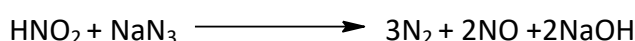
Азид натрия, используемый в синтезе, является взрывоопасным веществом и его остаточные количества должны быть деактивированы на производстве путем добавления азотистой кислоты [9]. Остаточные количества нитрит-ионов могут взаимодействовать с диметиламином (продукт разложения N,N-диметилформамида, промежуточного реагента синтеза) в кислой среде. Образование примеси НДМА в ходе синтеза фармацевтической субстанции лозартана предположительно происходит при одновременном присутствии в реакционной смеси следующих реагентов: нитрит-ионы, диметиламин, азотистая кислота [10].

НДЕА в свою очередь образуется в реакционной смеси, содержащей диэтиламин (примесь к триэтиламина гидрохлориду, распространенному органическому растворителю) и нитрит-ионы в кислой среде. Одинаковые стадии синтеза субстанций лозартана и валсартана обуславливают одинаковый механизм образования примесей НДМА и НДЕА. Примесь НМБА может образовываться путем гидролиза N-метилпирролидона (используемого в синтезе растворителя) до 4-метиламинобутирата натрия в щелочных условиях и последующего взаимодействия получаемого вторичного амина с азотистой кислотой.

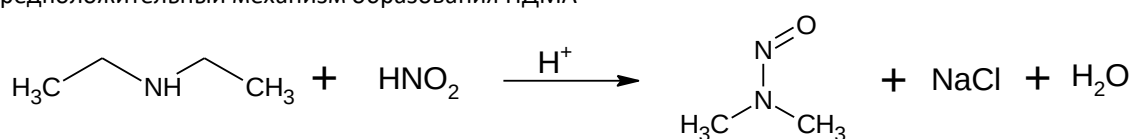
Реакции образования описанных выше примесей нитрозопроизводных в ходе синтеза фармацевтических субстанций валсартана и лозартана приведены на рис. 3.

Рис. 3. Предположительный механизм образования нитрозаминов в ходе синтеза фармацевтических субстанций валсартана и лозартана.

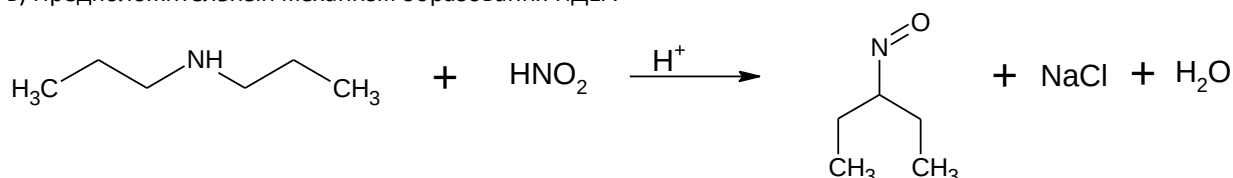
а) Реакция деактивирования азидата натрия



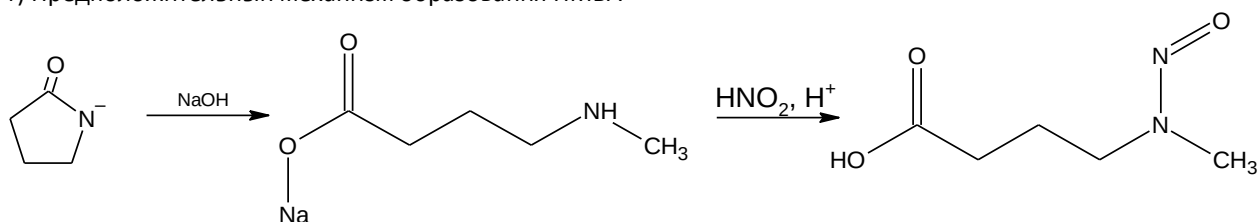
б) Предположительный механизм образования НДМА



в) Предположительный механизм образования НДЕА



г) Предположительный механизм образования НМБА



Таким образом, образование примесей нитрозаминов предположительно происходит на завершающей стадии оптимизированной схемы синтеза (в ходе образования тетразольного кольца) при добавлении азида натрия. Для предотвращения образования примесей нитрозаминов необходимо избегать данной стадии, либо добавлять дополнительные этапы очистки, которые в свою очередь, должны быть направлены как на очистку реактивов (растворители от примесей аминов), так и на очистку препарата от образовавшейся примеси.

Образование нитрозаминов при хранении ЛП

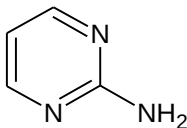
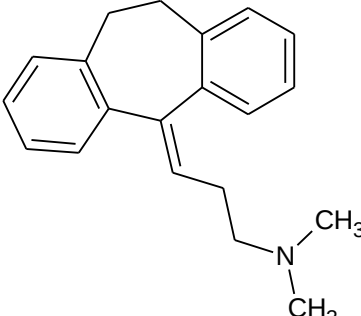
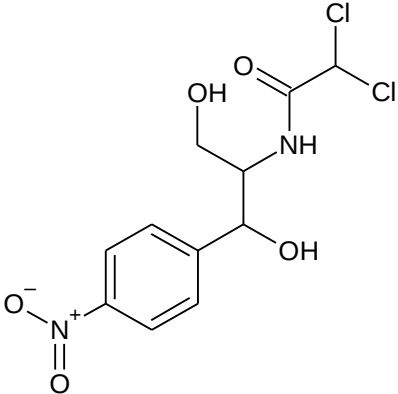
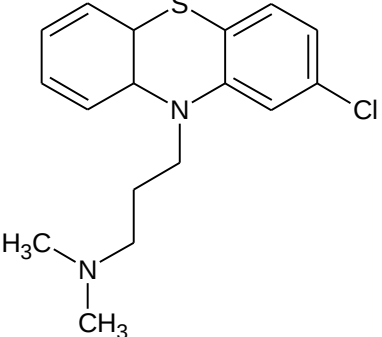
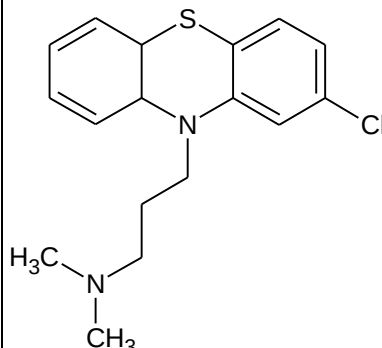
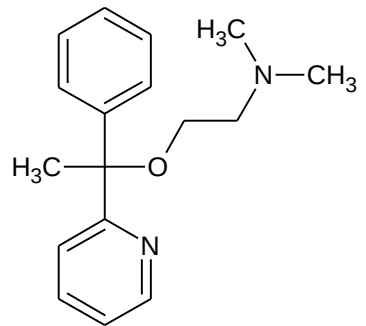
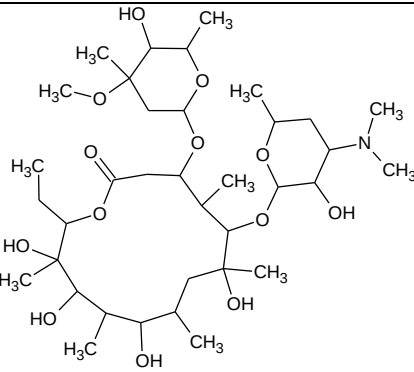
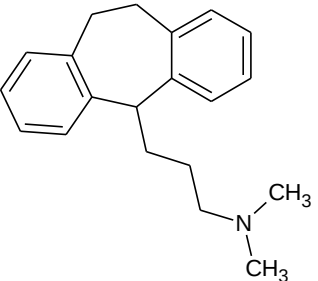
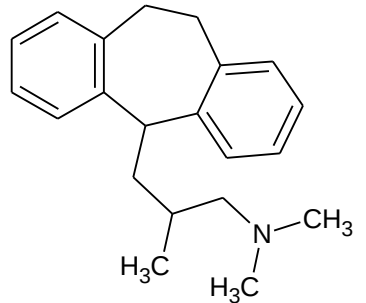
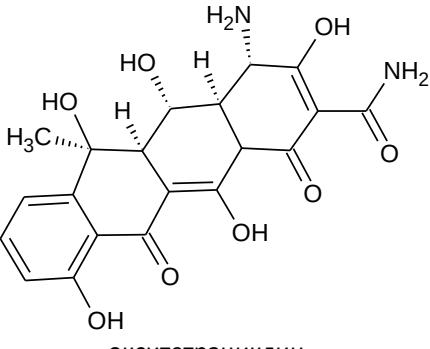
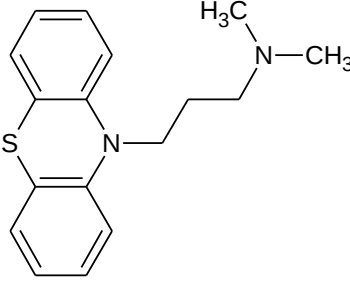
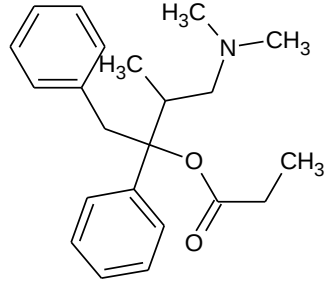
Нитрозамины могут образовываться не только в процессе синтеза фармацевтической субстанции, но и в результате разложения (деградации) действующего или вспомогательного вещества при хранении препарата. Квалификация родственных примесей (идентификация, определение и проведение исследований по безопасности) и валидация соответствующих аналитических методик происходит на стадии разработки препарата, в т.ч. в процессе оценки стабильности. Методология проведения исследований стабильности описывается как в международном руководстве ICH Q1A (R2) так и в ГФ РФ ОФС.1.1.0009.15 (Сроки годности лекарственных средств).

Поскольку риск образования родственных примесей нитрозаминов прямо зависит от структуры молекулы действующего вещества, целесообразно выделить соединения с наибольшей вероятностью физико-химической деградации с образованием соединений данного класса. Уровень риска образования нитрозаминов при хранении предсказуемо максимален для веществ, содержащих амино- (за исключением четвертичных аминов) и нитрогруппы [11]. Данная гипотеза согласуется с фактическими данными по обнаружению примесей нитрозаминов в фармацевтических субстанциях. Структуры молекул всех действующих веществ, в которых в качестве родственных примесей были обнаружены нитроамины, содержат вышеуказанные функциональные группы (рис. 4) [12,13,14].

Иные пути образования нитрозаминов и управление рисками

В руководстве ЕМА также описывается путь образования нитрозаминов при воздействии желудочного сока на таблетку препарата (ранитидин), а также при взаимодействии первичной упаковки препарата, состоящей из нитроцеллюлозы и чернил, содержащих амины. Данные пути образования нитрозаминов являются в большей степени гипотетическими, нежели имеющими место в реальной практике. Несмотря на это, следует контролировать даже минимальные риски образования нитроаминов в ЛП, поскольку медикаменты в большинстве случаев применяются у ослабленных заболеванием индивидов, многие препараты предполагают курсовой прием на протяжении месяцев, лет или всей жизни пациента (препараты сартанов).

Рис. 4. Структуры молекул действующих веществ в фармацевтических субстанциях, в которых были обнаружены примеси нитрозаминов.

 аминопиридин	 амитриптилин	 хлорамфеникол
 хлорпромазин	 дифенидрамин	 доксиламин
 эритромицин	 имипрамин	 метапирилен
 окситетрациклин	 ромазин	 пропоксифен

Европейским и американским регулятором были описаны принципы и подходы, которые должны применяться для предотвращения и контроля образования нитрозаминов. Основным подходом является определение теоретического риска образования нитрозаминов в ЛС. Данный подход называется риск-основанным и заключается в исследовании всех аспектов, связанных с производством, оборотом и применением ЛС. В то же время уровень риска связан с возможным механизмом токсического действия нитрозаминов и уровня допустимой концентрации. Методология риск-основанного подхода описана в руководстве ICH Q9 Guideline on quality risk management.

Механизмы токсического действия

Одним из основных токсических воздействий, которое оказывают нитрозамины на организм является их генотоксичность. Генотоксичность – способность веществ воздействовать на структуру ДНК или нарушать процесс ее репликации [15]. Очевидной опасностью веществ с потенциальной генотоксичностью является их способность оказывать мутагенное и канцерогенное действие вне зависимости от концентрации, попавшей в организм. Кроме того, вышеописанные примеси накапливаются в клетках печени, выделяются с желчью и, как следствие, оказывают токсическое воздействие на гепатобилиарную систему [16].

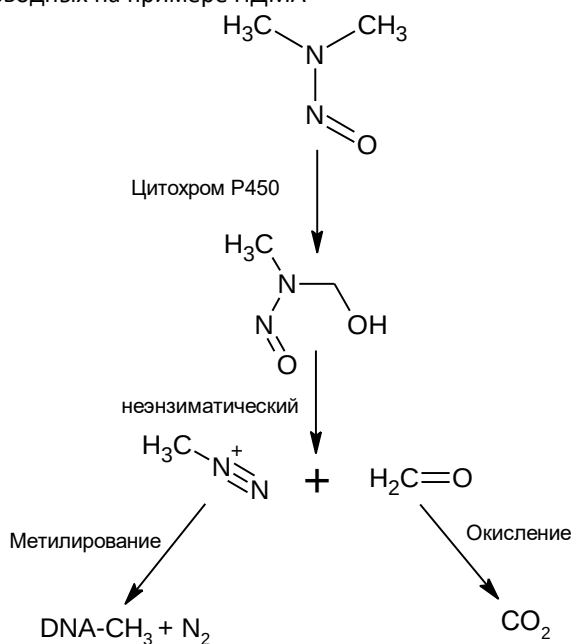
Несмотря на то, что примеси N-нитрозопроизводных изучаются с 80-х годов прошлого века, точный механизм оказания генотоксичности до сих пор не установлен. Согласно опубликованным данным, предположительный механизм генотоксичности нитрозопроизводных заключается в алкилировании ДНК [17]. В различных источниках сообщается, что нативные соединения нитрозаминов не оказывают генотоксического воздействия, однако в ходе их метаболизма происходит образование алкилирующих агентов, изменяющих структуру ДНК. Механизм генотоксического действия НДМА представлен на рис. 5.

Основной механизм генотоксичности НДМА реализуется за счет взаимодействия иона метилдiazония (который образуется в результате метаболизма нитрозаминов) с ДНК [18]. Образование формальдегида в ходе метаболизма опосредует гепатотоксическое действие НДМА [19]. Кумуляция нитрозопроизводных соединений в печени приводит к постоянному повреждающему воздействию, которое с большой вероятностью вызывает малигнизацию клеток.

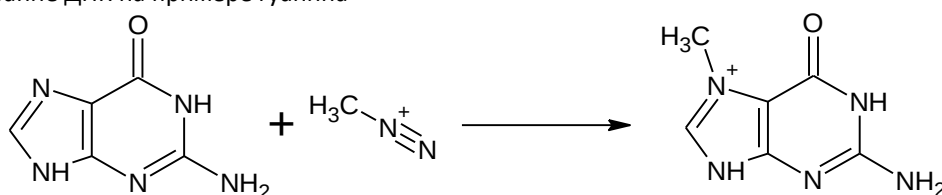
В руководстве EPA IRIS примеси нитрозопроизводных относятся к категории 2A, которая классифицирует их как вещества «вероятно канцерогенные для человека». Термин «вероятно канцерогенные» означает, что исследования на людях не проводились ввиду соблюдения этических норм, а исследования на крысах (стандартный тест) показал высокую генотоксичность [20]. Ведущими мировыми регуляторными органами (EMA, FDA) установлены предельно допустимые концентрации (ПДК) в фармацевтических субстанциях.

Рисунок 5. Механизм генотоксического действия НДМА

а) Метаболизм н-нитропроизводных на примере НДМА



б) Метилирование ДНК на примере гуанина



Заключение

В настоящем обзоре были установлены основные источники образования нитрозаминов в ЛП на всех стадиях обращения, а также основной механизм токсического действия данной группы примесей на организм человека.

Причиной повышенного содержания нитрозаминов в препаратах группы сартанов является использование в процессе производства азотистой кислоты, которая при взаимодействии с распространенными органическими растворителями, содержащими аминогруппу, может образовывать токсические соединения.

Помимо этого, примеси нитрозаминов могут образовываться в результате деградации основного или вспомогательных веществ ЛП. Соединения, содержащие аминогруппу (за исключением четвертичных аминов) могут быть склонны к деградации с образованием генотоксичных нитрозаминов.

Высокая биологическая активность нитрозаминов обуславливает необходимость оценки потенциального риска генотоксичности, связанной даже с весьма незначительными количествами, образующимися в результате взаимодействий упаковки ЛП, содержащей фрагменты химической структуры нитроцеллюлозы и чернилами, используемыми для маркировки ЛП, в формуле которых может присутствовать аминокгруппа.

Таким образом, потенциальное присутствие примесей нитрозаминов в ЛП является серьезной проблемой фармацевтического производства, требующей для своего решения, с одной стороны, всестороннего анализа рисков, с другой – разработки современных высокочувствительных и точных методик оценки качества.

Список литературы

1. FDA Updates and Press Announcements on Angiotensin II Receptor Blocker (ARB) Recalls (Valsartan, Losartan, and Irbesartan). URL: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-updates-and-press-announcements-angiotensin-ii-receptor-blocker-arb-recalls-valsartan-losartan> (дата обращения: 20.11.2019).
2. Statement alerting patients and health care professionals of NDMA found in samples of ranitidine. FDA. URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/statement-alerting-patients-and-health-care-professionals-ndma-found-samples-ranitidine> (дата обращения: 20.11.2019).
3. Magee P.N. Nitrosamines and human cancer: Introduction and overview. *European Journal of Cancer Prevention* 1996; (5): 7-10.
4. Межгосударственный стандарт ГОСТ ISO/TR 14735-2015 Продукция косметическая. Аналитические методы. Техническое руководство по минимизации и обнаружению N-нитрозаминов. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200124576> (дата обращения: 20.11.2019).
5. МУК 4.4.1.011-93 Определение летучих N-нитрозаминов в продовольственном сырье и пищевых продуктах URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200031689> (дата обращения: 20.11.2019).
6. European Medicines Agency. Questions and answers on "Information on nitrosamines for marketing authorisation holders." URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-questions-answers-information-nitrosamines-marketing-authorisation_en.pdf (дата обращения 20.11.2019).
7. Chen X.Z., Guo J.Z., Fu Q.B., Yu L.L. A simple and efficient synthesis of the valsartan. *Chinese Chemical Letters* 2008; 19 (7): 759-761. doi: 10.1016/j.cclet.2008.04.032
8. Ghosh S., Kumar A.S., Soundararajan R., Mehta G.N. Improved Synthesis of Valsartan via Nucleophilic Aromatic Substitution on Aryloxazoline. *Synthetic Communications* 2009; 39 (21): 3880-3887. doi: 10.1080/00397910902840819
9. Committee on Prudent Practices for Handling, Storage, and Disposal of Chemicals in Laboratories, Board on Chemical Sciences and Technology, Commission on Physical Sciences, Mathematics, and Applications, National Research Council. Prudent practices in the laboratory: handling and disposal of chemicals. National Academy Press, 1995. ISBN 0309052297.
10. Masada S., Tsuji G., Arai R., Uchiyama N., Demizu Y., Tsutsumi T., Yasuhiro A., Hiroshi A., Takashi H., Ken-ichi I., Yukihiro G., Okuda, H. Rapid and efficient high-performance liquid chromatography analysis of N-nitrosodimethylamine impurity in valsartan drug substance and its products. *Scientific Reports* 2019; 9, 11852. doi: 10.1038/s41598-019-48344-5

11. Wang X., Yang H., Zhou B., Wang X., Xie Y. Effect of oxidation on amine-based pharmaceutical degradation and N-Nitrosodimethylamine formation: *Water Research* 2015; (87): 403-411. doi: 10.1016/j.watres.2015.07.045
12. Juan L., Na L., Characterization of seven psychoactive pharmaceuticals as N-nitrosodimethylamine precursors during free chlorine and chlorine dioxide chlorination processes. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 2018; 94 (1): 53-62. doi:10.1002/jctb.5755
13. Shen R., Andrews S.A. Demonstration of 20 pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) as nitrosamine precursors during chloramine disinfection. *Water Research* 2011; 45 (2): 944-952. doi: 10.1016/j.watres.2010.09.036
14. Parr M.K., Joseph J.F. NDMA Impurity in Valsartan and other Pharmaceutical Products: Analytical Methods for the Determination of N-Nitrosamines. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2018; 164: 536-549 doi: 10.1016/j.jpba.2018.11.010
15. Brendler S.Y., Tompa A., Hutter K.F., Preussmann R., Pool-Zobel B.L. In vivo and in vitro genotoxicity of several N-nitrosamines in extrahepatic tissues of the rat. *Carcinogenesis* 1992; 13 (12): 2435-2441.
16. Sheweita S.A., El Banna Y.Y., Balbaa M., Abdullah I.A., Hassan H.E. N-nitrosamines induced infertility and hepatotoxicity in male rabbits. *Environ. Toxicol.* 2017; 32 (9): 2212-2220. doi: 10.1002/tox.22436.
17. George J., Tsuchishima M., Tsutsumi M. Molecular mechanisms in the pathogenesis of N-nitrosodimethylamine induced hepatic fibrosis. *Cell Death and Disease* 2019; 10 (18) doi:10.1038/s41419-018-1272-8
18. Allis, J.W., Brown, B.L., Simmons, J.E., Hatch, G.E., McDonald, A., House, D.E. Methanol potentiation of carbon tetrachloride hepatotoxicity: The central role of cytochrome P450. *Toxicology* 1996; 112 (2), 131-140. doi: 10.1016/0300-483x(96)03366-5
19. Madden J.W., Gertman P.M., Peacock E.E. Dimethylnitrosamine-induced hepatic cirrhosis: a new canine model of an ancient human disease. *Surgery* 1970; 68 (1): 260-268.
20. Integrated Risk Information System (IRIS) U.S. Environmental Protection Agency. Chemical Assessment Summary. National Center for Environment Assessment. URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0045_summary.pdf Accessed: 22.11.2019

Nitrosamine impurities in drugs: pathways of formation and mechanisms of toxic action

Khorolskiy M. D.¹

Senior Laboratory Assistant, A.P. Arzamascev Chair for Pharmaceutical and Toxicological Chemistry

Chaplenko A. A.²

Expert, Biomedical Clinical Products Laboratory

Vlasov A. M.¹

PhD, CPhyS, Assistant Professor, A.P. Arzamascev Chair for Pharmaceutical and Toxicological Chemistry

Maslennikova N. V.²

PhD, CPhyS, Head, Pharmacopoeia Laboratory

Ramenskaya G. V.¹

Doctor of Physics, Director, Institute of Pharmacy

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

2 – Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russian Federation

Corresponding Author: Khorolskiy Mikhail; **e-mail:** mkhorolski@gmail.com

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Summary

In the review, the main sources of the nitrosamines formation in drugs were established, as well as the main mechanism of the toxic effect of this impurities group on the human body. The reason of the increased nitrosamines content in the group of sartan drugs is the use of nitrous acid in the manufacturing process. Nitrous acid interacts with common organic solvents, that contain an amino group, forming toxic compounds. Moreover, impurities of nitrosamines can be formed during the degradation of the principal or auxiliary substances. The results of the review are conclusions about the necessity of further studies of the formation pathways and the toxicity mechanism, besides the development of methods for their determination in pharmaceutical substances and drugs.

Keywords: genotoxic impurities, nitrosamines, valsartan

References

1. FDA Updates and Press Announcements on Angiotensin II Receptor Blocker (ARB) Recalls (Valsartan, Losartan, and Irbesartan). URL: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-updates-and-press-announcements-angiotensin-ii-receptor-blocker-arb-recalls-valsartan-losartan> Accessed: 20.11.2019
2. Statement alerting patients and health care professionals of NDMA found in samples of ranitidine. FDA. URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/statement-alerting-patients-and-health-care-professionals-ndma-found-samples-ranitidine> Accessed: 20.11.2019
3. Magee P.N. Nitrosamines and human cancer: Introduction and overview. *European Journal of Cancer Prevention* 1996; (5): 7-10.
4. Mezghosudarstvennyj standart GOST ISO/TR 14735-2015 Produkciya kosmeticheskaya. Analiticheskie metody. Tekhnicheskoe rukovodstvo po minimizacii i obnaruzheniyu N-nitrozaminov [Interstate Standard ISO/TR 14735:2013, Cosmetics. Analytical methods. Nitrosamines: Technical guidance document for minimizing and determining N-nitrosamines in cosmetics]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200124576> Accessed: 20.11.2019. (In Russ.)
5. MUC. 4.4.1.011-93. Opredelenie letuchih N-nitrosaminov v prodovol'stvennom sir'e i pishevih productah [Metodic Control Guidelines 4.4.1.011-93. Detection of volatile N-nitrosamines in food raw materials and food products]/ URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200031689> Accessed: 22.11.2019 (In Russ.)
6. European Medicines Agency. Questions and answers on "Information on nitrosamines for marketing authorisation holders." URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-questions-answers-information-nitrosamines-marketing-authorisation_en.pdf Accessed: 22.11.2019
7. Chen X.Z., Guo J.Z., Fu Q.B., Yu L.L. A simple and efficient synthesis of the valsartan. *Chinese Chemical Letters* 2008; 19 (7): 759-761. doi: 10.1016/j.cclet.2008.04.032
8. Ghosh S., Kumar A.S., Soundararajan R., Mehta G.N. Improved Synthesis of Valsartan via Nucleophilic Aromatic Substitution on Aryloxazoline. *Synthetic Communications* 2009; 39 (21): 3880-3887. doi: 10.1080/00397910902840819

9. Committee on Prudent Practices for Handling, Storage, and Disposal of Chemicals in Laboratories, Board on Chemical Sciences and Technology, Commission on Physical Sciences, Mathematics, and Applications, National Research Council. Prudent practices in the laboratory: handling and disposal of chemicals. National Academy Press, 1995. ISBN 0309052297.
10. Masada S., Tsuji G., Arai R., Uchiyama N., Demizu Y., Tsutsumi T., Yasuhiro A., Hiroshi A., Takashi H., Ken-ichi I., Yukihiro G., Okuda, H. Rapid and efficient high-performance liquid chromatography analysis of N-nitrosodimethylamine impurity in valsartan drug substance and its products. *Scientific Reports* 2019; 9, 11852. doi: 10.1038/s41598-019-48344-5
11. Wang X., Yang H., Zhou B., Wang X., Xie Y. Effect of oxidation on amine-based pharmaceutical degradation and N-Nitrosodimethylamine formation: *Water Research* 2015; (87): 403-411. doi: 10.1016/j.watres.2015.07.045
12. Juan L., Na L., Characterization of seven psychoactive pharmaceuticals as N-nitrosodimethylamine precursors during free chlorine and chlorine dioxide chlorination processes. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 2018; 94 (1): 53-62. doi:10.1002/jctb.5755
13. Shen R., Andrews S.A. Demonstration of 20 pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) as nitrosamine precursors during chloramine disinfection. *Water Research* 2011; 45 (2): 944-952. doi: 10.1016/j.watres.2010.09.036
14. Parr M.K., Joseph J.F. NDMA Impurity in Valsartan and other Pharmaceutical Products: Analytical Methods for the Determination of N-Nitrosamines. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2018; 164: 536-549 doi: 10.1016/j.jpba.2018.11.010
15. Brendler S.Y., Tompa A., Hutter K.F., Preussmann R., Pool-Zobel B.L. In vivo and in vitro genotoxicity of several N-nitrosamines in extrahepatic tissues of the rat. *Carcinogenesis* 1992; 13 (12): 2435-2441.
16. Sheweita S.A., El Banna Y.Y., Balbaa M., Abdullah I.A., Hassan H.E. N-nitrosamines induced infertility and hepatotoxicity in male rabbits. *Environ. Toxicol.* 2017; 32 (9): 2212-2220. doi: 10.1002/tox.22436
17. George J., Tsuchishima M., Tsutsumi M. Molecular mechanisms in the pathogenesis of N-nitrosodimethylamine induced hepatic fibrosis. *Cell Death and Disease* 2019; 10 (18) doi:10.1038/s41419-018-1272-8
18. Allis, J.W., Brown, B.L., Simmons, J.E., Hatch, G.E., McDonald, A., House, D.E. Methanol potentiation of carbon tetrachloride hepatotoxicity: The central role of cytochrome P450. *Toxicology* 1996; 112 (2), 131-140. doi: 10.1016/0300-483x(96)03366-5
19. Madden J.W., Gertman P.M., Peacock E.E. Dimethylnitrosamine-induced hepatic cirrhosis: a new canine model of an ancient human disease. *Surgery* 1970; 68 (1): 260-268.
20. Integrated Risk Information System (IRIS) U.S. Environmental Protection Agency. Chemical Assessment Summary. National Center for Environment Assessment. URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0045_summary.pdf Accessed: 22.11.2019

Особенности венозной гемодинамики нижних конечностей при хронических заболеваниях вен у мужчин с артериальной гипертензией

Летягина С. В.¹

врач, отделение ультразвуковой диагностики. ORCID ID: 0000-0002-1635-7149

Шмелева С. А.²

к.м.н., доцент, кафедра анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи. ORCID ID: 0000-0001-8274-0480

Агафонова Т. Ю.²

к.м.н., доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней. ORCID ID: 0000-0001-9935-0040

Игумнова О. А.²

к.м.н., ассистент, кафедра факультетской терапии.

1 – ФКУЗ «МСЧ МВД России по Пермскому краю», Пермь

2 – ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера МЗ РФ, Пермь

Автор для корреспонденции: Игумнова Оксана Александровна; **e-mail:** Radiotemp68@rambler.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Целью исследования было изучение особенностей венозного кровообращения нижних конечностей при хронических заболеваниях вен (ХЗВ) у мужчин с артериальной гипертензией (АГ). Выполнен сравнительный анализ параметров венозного кровотока нижних конечностей между двумя группами мужчин с АГ в возрасте 30-50 лет: тестовая группа с АГ и ХЗВ (63 человека) и контрольная группа с АГ без ХЗВ (30 человек). Тип исследования – одномоментный. АГ диагностировали согласно рекомендациям ESC/ESH (2018). Наличие ХЗВ оценивали по классификации CEAP и результатов ультразвуковой диагностики патологических рефлюксов в поверхностных, глубоких и перфорантных венах обеих конечностей. С помощью доплерометрического исследования регистрировали в покое (лежа) в поверхностных, глубоких и перфорантных венах слева следующие параметры: диаметр и площадь просвета сосуда, скорость венозного кровотока и венозное давление. Выявлено, что в тестовой группе были больше такие параметры как: диаметр и площадь просвета поверхностных вен, скорость кровотока в поверхностных, глубоких и перфорантных венах. Тестовая группа характеризовалась более высоким венозным давлением, чем группа контроля. Выводы. Расширение вен, ускорение кровотока и увеличение венозного давления необходимо рассматривать как характерную особенность коморбидности АГ и ХЗВ. АГ и ХЗВ имеют общий патогенетический механизм – флебогипертензию, наличие которой необходимо учитывать при назначении гипотензивной терапии пациентам с АГ и ХЗВ.

Ключевые слова: артериальная гипертензия; хронические заболевания вен; мужчины

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-25-33

Для цитирования: Летягина С.В., Шмелева С.А., Агафонова Т.Ю., Игумнова О.А. Особенности венозной гемодинамики нижних конечностей при хронических заболеваниях вен у мужчин с артериальной гипертензией. *Медицина* 2019; 7(4): 25-33.

Введение

Изучением артериальной гипертензии (АГ) ученые и врачи занимаются многие десятилетия, но, несмотря на достигнутые успехи в этой области, остаются проблемы, которые в настоящее время еще мало изучены [1,2,3]. Имеется дефицит знаний о коморбидности АГ с заболеваниями вен, в частности, нижних конечностей. Хотя вены являются составной частью системы кровообращения, но кардиологами, по непонятным причинам, не изучаются. Хронические заболевания вен (ХЗВ) – одна из самых распространенных патологий в мире [4], приводящая к росту числа сосудистых осложнений, тяжелой инвалидности и преждевременной смерти [5,6]. В Российской Федерации частота ХЗВ составляет 63% у женщин и 37% у мужчин [7]. 68% мужчин трудоспособного возраста с АГ отмечают у себя жалобы, ассоциированные с ХЗВ, а у 83,8% мужчин с АГ зафиксированы объективные признаки ХЗВ, что в 2,5 раза чаще, чем у их сверстников без АГ [8]. Наличие ХЗВ у мужчин с АГ значительно снижает не только качество их жизни, но и трудоспособность, что для мужчин трудоспособного возраста, являющихся наиболее активной частью нашего общества, представляется очень значимой проблемой здоровья [9]. Исследования в данной области помогут оценить клиническую и прогностическую значимость коморбидности АГ и ХЗВ, повысить качество медицинской помощи пациентам.

Цель исследования

Изучение особенностей венозного кровообращения нижних конечностей при хронических заболеваниях вен (ХЗВ) у мужчин с артериальной гипертензией (АГ).

Материал и методы исследования

Объект исследования – мужчины с АГ в возрасте 30-50 лет. Предмет исследования – венозное кровообращение нижних конечностей. Тип исследования – одномоментный. Критерии исключения: употребление наркотиков; онкологические заболевания; эндокринные заболевания (сахарный диабет, гипотиреоз, патология надпочечников); острые и хронические заболевания дыхательной системы; перенесенные острые респираторно-вирусные инфекции в течение последних 2-х недель; острые инфекционные заболевания; острые и хронические заболевания почек (пиелонефрит, гломерулонефрит); дифференцированные дисплазии соединительной ткани; анемии; гепатиты; цирроз печени; панкреатиты; язва желудка и двенадцатиперстной кишки; профессиональные занятия спортом; переломы и операции на нижних конечностях; травмы позвоночника и головного мозга; органические заболевания центральной нервной системы и спинного мозга, хроническая сердечная недостаточность. Критерии

включения и исключения из исследования подтверждены результатами медицинского обследования в госпитале ФКУЗ «МСЧ МВД России по Пермскому краю» (начальник госпиталя М.Г. Нечаева, 614064, Пермь, ул. Героев Хасана, 47А). Обследовано 93 мужчины с АГ, из числа которых сформированы две группы пациентов – тестовая (63 пациента с АГ и ХЗВ) и контрольная (30 пациентов с АГ без ХЗВ). Различий между сформированными группами по основным клиническим характеристикам не было (табл. 1).

Таблица 1. Клиническая характеристика тестовой и контрольной групп (критерий Mann-Whitney U-Test)

Параметры	Тестовая группа, n=63	Контрольная группа, n=30	Р-уров.
	Me (Q1-Q3)		
Возраст, лет	42(39-46)	43(39-49)	0,283
САД, мм рт. ст.	151(145-160)	151(148-160)	0,712
ДАД, мм рт. ст.	94(90-100)	100(92-102)	0,464
ЧСС в мин.	72(70-78)	70(61-72)	0,076
Продолжительность АГ, лет	АГ 4(2-5)	5(1-7)	0,421
Индекс массы тела	29(27-32)	29(26-31)	0,683

Примечание: Р – уровень значимости различия

АГ диагностировали у мужчин, сотрудников органов МВД, проходящих в госпитале стационарное лечение по поводу неконтролируемой АГ на основании критериев ESH/ESC от 2018 г. [10]. Признаки ХЗВ фиксировали согласно критериям CEAP при внешнем осмотре и по наличию патологических венозных рефлюксов во время ультразвукового исследования большой (БПВ) и малой (МПВ) поверхностных вен бедра, общей бедренной вены (ОБВ), задней большеберцовой (ЗББВ) вены и перфорантной вены Коккета (ПБК) обеих конечностей в стандартных «ультразвуковых окнах» [11,12]. Патологическими считали рефлюксы ПБВ продолжительностью более 0,5 сек. и ОБВ более 1 сек. [13]. Изучали диаметр и площадь просвета вены, скорость кровотока в БПВ, МПВ, ОБВ, ЗББВ и ПБК только левой ноги. Венозное давление измеряли в левой БПВ [14]. Ангиоскопию выполняли пациентам в положении лежа (в покое) на сканере iU22 xMatrix (Phillips, США, 2014). Описательная статистика представлена в виде медианы и 25%-75% перцентилей. Сравнительный анализ выполнен с помощью Mann–Whitney U-test. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Этические вопросы

Этическим комитетом ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России были утверждены: дизайн, протокол исследования и информированное согласие пациента на участие в исследовании (протокол №11 от 26.12.2018 г.). Все участники дали письменное информированное согласие на проведение обследования до начала исследования.

Результаты и обсуждение

Тестовая и контрольная группы различались между собой по ряду параметров (табл. 2). У пациентов тестовой группы в БПВ зарегистрирован больший диаметр и площадь, чем в группе контроля. Аналогичные различия выявлены в МПВ. Пациенты тестовой группы характеризовались ускоренным кровотоком в МПВ, ЗББВ и ПВК.

Таблица 2. Результаты сравнительного анализа параметров венозной гемодинамики между пациентами тестовой и контрольной групп (критерий Mann-Whitney U-Test)

Вена/параметр	Тестовая группа, n=63	Контрольная группа, n=30	Р-уров.
	Me (Q ₁ -Q ₃)		
БПВ			
Диаметр, мм	3,5(3,0-3,9)	3,0(2,8-3,6)	0,003
Площадь просвета, мм ²	9,6(7,0-11,9)	6,8(5,9-10,4)	0,005
Скорость кровотока, см/сек	8,6(6,7-11,4)	7,4(5,9-9,0)	0,104
МПВ			
Диаметр, мм	2,3(2,1-3,1)	2,1(1,7-2,8)	0,042
Площадь просвета, мм ²	4,3(3,4-7,4)	3,5(2,2-6,2)	0,035
Скорость кровотока, см/сек	7,1(6,1-8,3)	5,8(5,0-6,1)	0,001
ОБВ			
Диаметр, мм	8,7(7,4-9,4)	8,6(8,4-9,5)	0,882
Площадь просвета, мм ²	60,0(43,5-69,4)	57,6(37,9-71,3)	0,657
Скорость кровотока, см/сек	27,9(21,2-35,8)	26,6(20,4-33,0)	0,605
ЗББВ			
Диаметр, мм	2,8(2,3-3,1)	2,9(2,6-3,5)	0,082
Площадь просвета, мм ²	6,2(4,2-7,5)	6,5(5,2-9,8)	0,149
Скорость кровотока, см/сек	7,8(6,7-9,6)	6,8(5,1-8,8)	0,003
ПВК			
Диаметр, мм	1,7(1,2-2,5)	1,4(1,4-1,4)	0,487
Площадь просвета, мм ²	2,4(1,2-4,9)	1,5(1,5-1,5)	0,487
Скорость кровотока, см/сек	8,6(6,3-9,8)	5,3(5,3-5,3)	0,037

Примечание: Р – уровень значимости различия

Измерение венозного давления показало, что у пациентов с АГ и ХЗВ оно было значимо выше – 22,0 (20,0-30,0) мм рт.ст., чем у их сверстников без ХЗВ – 20,5 (10,0-22,0) мм рт.ст., при p=0,007.

Обсуждение результатов

Полученные нами результаты указывают, что коморбидность АГ и ХЗВ характеризуется различием венозной гемодинамики нижних конечностей. Прежде всего, эти различия касаются увеличенного в тестовой группе диаметра и площади просвета поверхностных вен, увеличенной скорости кровотока в поверхностных, глубоких и перфорантных венах. Наши данные согласуются с данными других авторов, которые при обследовании 74 пациентов с АГ отметили увеличенный диаметр вен и ускоренный кровоток по сравнению с 41 пациентом без АГ [15]. Имеются данные о регистрации низкой скорости в магистральных глубоких венах бедра, в частности, в общей бедренной вене, что доказывает наличие венозной недостаточности даже в состоянии покоя [16]. Новыми знаниями в нашем исследовании являются данные о том, что пациенты с АГ и ХЗВ характеризуются более высоким венозным давлением. Тем самым подтверждается мнение ученых о ведущем патогенетическом механизме коморбидности АГ и ХЗВ – системной флебогипертензии [14]. Наиболее вероятные причины флебогипертензии у пациентов с АГ и ХЗВ – наличие артериальной гипертензии и нарушение венозного оттока, характерного для ХЗВ и обусловленного как патологией вен, так и функциональным повышением давления в них.

Таким образом, наличие АГ в сочетании с ХЗВ еще в большей степени изменяет геометрию вен нижних конечностей, ускоряет венозный кровоток, увеличивает венозное давление, чем изолированное наличие у пациентов АГ. Данные факты можно рассматривать как характерные для АГ особенности венозной гемодинамики. Авторы не исключают, что одним из механизмов развития функциональной флебогипертензии может быть и влияние выраженной парасимпатикотонии при АГ, которая ассоциируется, как с более высокой частотой, так и с более тяжелым течением ХЗВ у мужчин с АГ [17].

Выводы

АГ в сочетании с ХЗВ, в отличие от изолированного наличия АГ, характеризуются увеличенным диаметром подкожных вен, большей скоростью кровотока в поверхностных, глубоких и перфорантных венах, увеличением венозного давления. Данные изменения можно рассматривать как характерную особенность для коморбидности АГ и ХЗВ. АГ и ХЗВ имеют общий патогенетический механизм – флебогипертензию, наличие которой необходимо учитывать при назначении гипотензивной терапии пациентам с АГ и ХЗВ.

Список литературы

1. Шляхто Е.В., Конради А.О., Звартау Н.Э. Артериальная гипертензия. Кардиология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2015:382-398. ISBN 978-5-9704-2845-0.
2. Чазова И.Е. Артериальная гипертензия в свете современных рекомендаций. *Терапевтический архив* 2018; (9): 4-7. doi: 10.26442/terarkh20189094-7
3. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APHA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults. *Hypertension*. 2018; 71: e13-e115. doi: 10.1161/HYP.0000000000000065
4. Vuylsteke M.E., Thomis S., Guillaume G., Modliszewski M.L., Weides N., Staelens I. Epidemiological study on chronic venous disease in Belgium and Luxembourg: prevalence, risk factors, and symptomatology. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2015; 49 (4): 432-9. doi:10.1016/j.ejvs.2014.12.031
5. Varaki S.E., Gargiulo G.D., Penkala S., Breen P.P. Peripheral vascular disease assessment in the lower limb: a review of current and emerging non-invasive diagnostic methods. *Biomed Eng Online* 2018; 17 (1):61. doi: 10.1186/s12938-018-0494-4.
6. Flinterman L.E., van Hylckama Vlieg A., Cannegieter S.C. et al. Long-Term Survival in a Large Cohort of Patients with Venous Thrombosis: Incidence and Predictors. *PLoS Med*. 2012; 9 (1):e1001155. doi: 10.1371/journal.pmed.1001155
7. Zolotukhin I., Seliverstov E., Shevtsov Y., Avakians I.P., Nikishkov A.S., Tatarintsev A.M., Kirienko A.I. Prevalence and risk factors for chronic venous disease in the general Russian population. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2017; 54 (6): 752-758. doi: 10.1016/j.ejvs.2017.08.033
8. Вагапов Т.Ф., Баев В.М. Клинические особенности хронических заболеваний вен нижних конечностей у мужчин с артериальной гипертензией. *Практическая медицина*. 2018; 16 (6): 201-204. doi: 10.32000/2072-1757-2018-16-6-201-204
9. Баев В.М., Вагапов Т.Ф. Снижение работоспособности и качества жизни при коморбидности артериальной гипертензии и хронических заболеваний вен у мужчин. *Артериальная гипертензия*. 2018; 24 (5): 556-561. doi: 10.18705/1607-419X-201824-5-556-561
10. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *European Heart Journal* 2018; 39, 3021-3104. doi: 10.1093/eurheartj/ehy339
11. Eklöf B., Rutherford R.B., Bergan J.J., Carpentier P.H., Gloviczki P., Kistner R.L., Meissner M.H., Moneta G.L., Myers K., Padberg F.T., Perrin M., Ruckley C.V., Smith P.C., Wakefield T.W. Revision of the CEAP classification for chronic venous disorders: Consensus statement. *Journal of Vascular Surgery*. 2004; 6:1248-1252. doi: 10.1016/j.jvs.2004.09.027
12. Vasquez M.A., Munschauer C.E. Venous Clinical Severity Score and quality-of-life assessment tools: application to vein practice. *Phlebology* 2008; 23 (6): 259-75. doi:10.1258/phleb.2008.008018
13. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен. *Флебология*. 2018; 3: 146-240. doi: 10.17116/flebo20187031146
14. Youn Y.J., Lee J. Chronic venous insufficiency and varicose veins of the lower extremities. *Korean J Intern Med*. 2019; 34 (2): 269-283. doi: 0.3904/kjim.2018.230
15. Вагапов Т.Ф., Баев В.М., Дружина Л.Н., Летягина С.В. Особенности структурно-функциональных параметров поверхностных вен нижних конечностей у мужчин с артериальной гипертензией. *Медицинский алфавит*. 2019; 16 (391): 18-21. doi:10.33667/2078-5631-2019-1-16(391)-18-21

16. Баев В.М., Вагапов Т.Ф., Летягина С.В. Особенности структурно-функциональных параметров глубоких вен нижних конечностей у мужчин с артериальной гипертензией. *Доктор.Ру*. 2019; 157(2): 37-40. doi: 10.31550/1727-2378-2019-157-2-37-40
17. Баев В.М., Вагапов Т.Ф., Шмелева С.А. Выраженная парасимпатикотония у мужчин с артериальной гипертензией сопровождается увеличением частоты признаков хронических заболеваний вен. *Российский кардиологический журнал*. 2019; 24(1): 52-55 doi: 10.15829/1560-4071-2019-1-52-55

Features of venous hemodynamic of the lower extremities in chronic venous diseases in men with arterial hypertension

Letyagina S. V.¹

– Doctor, Department of Ultrasound Diagnostics

Shmeleva S. A.²

– PhD, Associate Professor, Chair for Anesthesiology, Resuscitation and Emergency Medicine

Agafonova T. Yu.²

– PhD, Associate Professor, Chair for Propaedeutics of Internal Medicine

Igumnova O. A.²

– PhD, Assistant, Chair of Faculty Therapy.

1 – Hospital of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation for the Perm Region, Perm, Russia

2 – Wagner Perm State Medical University of the Ministry of Health, Perm, Russia

Corresponding Author: Igumnova Oksana; e-mail: Radiotemp68@rambler.ru

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Abstract

The aim was to study the characteristics of the venous circulation of the lower extremities in cases of chronic venous diseases (CVD) in men with arterial hypertension (AH). A comparative analysis of the parameters of the venous blood flow of the lower extremities between two groups of men with hypertension aged 30-50 years was performed: a test group with hypertension and CVD (63 people) and a control group with hypertension without CVD (30 people). Type of research – single-step. AH was diagnosed according to ESC/ESH (2018). The presence of CVD was assessed by the CEAP classification and the results of ultrasound diagnostics of pathological refluxes in the superficial, deep, and perforating veins of both limbs. Using the Doppler study, the following parameters were recorded at rest (lying) in the superficial, deep, and perforating veins on the left: diameter and area of the vessel lumen, venous blood flow velocity, and venous pressure. In the test group higher values for diameter and area of the lumen of the superficial veins, blood flow velocity in the superficial, deep and perforating veins were recorded. The test group was characterized by a higher venous pressure than the control group. Conclusion. Expansion of the veins, acceleration of blood flow and an increase in venous pressure should be considered a characteristic feature of hypertension and chronic venous insufficiency. AH and CVD have a common pathogenetic mechanism – phlebohypertension, the presence of which must be taken into account when prescribing antihypertensive therapy to patients with AH and CVD.

Keywords: arterial hypertension; chronic venous diseases; men

References

1. Shlyaheto E.V., Konradi A.O., Zvartau N.E. Arterial'naya gipertenziya. Kardiologiya: nacional'noe rukovodstvo. [Arterial hypertension. Cardiology: national guidelines]. Moscow. GEOTAR-Media. 2015:382-398. ISBN 978-5-9704-2845-0 (In Russ.)
2. Chazova I.E. Arterial'naya gipertoniya v svete sovremennykh rekomendacij. [Arterial hypertension in view of current recommendations]. *Terapevticheskij arhiv [Therapeutic archive]* 2018; 9: 4-7. doi: 10.26442/terarkh20189094-7 (In Russ.)
3. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults. *Hypertension*. 2018; 71: e13-e115. doi: 10.1161/HYP.0000000000000065
4. Vuylsteke M.E., Thomis S., Guillaume G., Modliszewski M.L., Weides N., Staelens I. Epidemiological study on chronic venous disease in Belgium and Luxembourg: prevalence, risk factors, and symptomatology. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2015; 49(4): 432-9. doi:10.1016/j.ejvs.2014.12.031
5. Varaki S.E., Gargiulo G.D., Penkala S., Breen P.P. Peripheral vascular disease assessment in the lower limb: a review of current and emerging non-invasive diagnostic methods. *Biomed Eng Online* 2018; 17(1): 61. doi: 10.1186/s12938-018-0494-4.
6. Flinterman L.E., van Hylckama Vlieg A., Cannegieter S.C. et al. Long-Term Survival in a Large Cohort of Patients with Venous Thrombosis: Incidence and Predictors. *PLoS Med*. 2012. 9(1): e1001155. doi: 10.1371/journal.pmed.1001155
7. Zolotukhin I., Seliverstov E., Shevtsov Y., Avakians I.P., Nikishkov A.S., Tatarintsev A.M., Kirienko A.I. Prevalence and risk factors for chronic venous disease in the general Russian population. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 2017;54(6):752-758. doi:10.1016/j.ejvs.2017.08.033
8. Vagapov T.F., Baev V.M. Klinicheskie osobennosti hronicheskikh zabolevanij ven nizhnih konechnostej u muzhchin s arterial'noj gipertenziej. [Clinical features of chronic diseases of the veins of lower extremities in men with hypertension]. *Prakticheskaya medicina [Practical Medicine]* 2018; 16(6): 201-204. doi: 10.32000/2072-1757-2018-16-6-201-204 (In Russ.)
9. Baev V.M., Vagapov T.F. Snizhenie rabotosposobnosti i kachestva zhizni pri komorbidnosti arterial'noj gipertenzii i hronicheskikh zabolevanij ven u muzhchin. [Comorbid arterial hypertension and chronic venous diseases in men: the impact on work efficiency and quality of life]. *Arterial'naya Gipertenziya [Arterial Hypertension]*. 2018; 24(5): 556-561. doi:10.18705/1607-419X-201824-5-556-561 (In Russ.)
10. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *European Heart Journal*. 2018; 39, 3021-3104. doi: 10.1093/eurheartj/ehy339
11. Eklöf B., Rutherford R.B., Bergan J.J., Carpentier P.H., Gloviczki P., Kistner R.L., Meissner M.H., Moneta G.L., Myers K., Padberg F.T., Perrin M., Ruckley C.V., Smith P.C., Wakefield T.W. Revision of the CEAP classification for chronic venous disorders: Consensus statement. *Journal of Vascular Surgery*. 2004, 6: 1248-1252. doi: 10.1016/j.jvs.2004.09.027
12. Vasquez M.A., Munschauer C.E. Venous Clinical Severity Score and quality-of-life assessment tools: application to vein practice. *Phlebology* 2008; 23(6): 259-75. doi:10.1258/phleb.2008.008018
13. Katorkin S.E., Kletskin A.E., Suchkov I.A., Kalinin R.E. Rossijskie klinicheskie rekomendacii po diagnostike i lecheniyu hronicheskikh zabolevanij ven. [Diagnostics and Treatment of Chronic Venous Disease: Guidelines of Russian Phlebological Association]. *Flebologiya [Phlebology]*. 2018; 3: 146-240. doi: 10.17116/flebo20187031146 (In Russ.)

14. Youn Y.J., Lee J. Chronic venous insufficiency and varicose veins of the lower extremities. *Korean J Intern Med.* 2019; 34(2): 269-283. doi: 0.3904/kjim.2018.230
15. Vagapov T.F., Baev V.M., Druzhina L.N., Letyagina C.V. Osobennosti strukturno-funkcional'nyh parametrov poverhnostnyh ven nizhnih konechnostej u muzhchin s arterial'noj gipertenziej. [Features of structural and functional parameters of superficial veins of lower extremities in men with arterial hypertension]. *Medicinskij alfavit [Medical Alphabet]*. 2019; 16(391): 18-21. (In Russ.). doi: 10.33667/2078-5631-2019-1-16(391)-18-21
16. Baev V.M., Vagapov T.F., Letyagina S.V. Osobennosti strukturno-funkcional'nyh parametrov glubokih ven nizhnih konechnostej u muzhchin s arterial'noj gipertenziej. [Structural and Functional Parameters of Lower-Limb Deep Veins in Hypertensive Male Patients]. *Doktor.Ru [Doctor.Ru]* 2019; 157(2): 37-40. doi: 10.31550/1727-2378-2019-157-2-37-40 (In Russ.)
17. Baev V.M., Vagapov T.F., Shmeleva S.A. Vyrashennaya parasimpatikotoniya u muzhchin s arterial'noj gipertenziej soprovozhdaetsya uvelicheniem chastoty priznakov hronicheskikh zabolevanij ven. [Severe parasympathictonia in men with hypertension is accompanied by an increase in the chronic venous diseases' signs]. *Rossijskij kardiologicheskij zhurnal [Russian Journal of Cardiology]*. 2019; 24(1): 52-55. doi: 10.15829/1560-4071-2019-1-52-55 (In Russ.)

Изучение факторов, влияющих на высвобождение лекарственных средств из мазей

Ерофеева Л. Н.

д.фарм.н., профессор, кафедра фармацевтической технологии

Сучкина Д. А.

студентка

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Курск

Автор для корреспонденции: Ерофеева Лия Никифоровна; **e-mail:** lnerofeeva@rambler.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Представлены результаты экспериментальных исследований фармацевтических факторов, влияющих на высвобождение лекарственных средств из мазей с использованием семи мазевых основ и модельных лекарственных средств: кислоты салициловой, нерастворимой в основах и воде, и резорцина, растворимого в воде, глицерине и жирных маслах. Методом диффузии в желатиновый гель установлено, что главными факторами, влияющими на высвобождение лекарственных средств из мазей, являются основа и технология. Наиболее быстрое и полное высвобождение действующих веществ происходило из 5% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы.

Ключевые слова: мази, основы для мазей, технология, кислота салициловая, резорцин

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-34-42

Для цитирования: Ерофеева Л.Н., Сучкина Д.А. Изучение факторов, влияющих на высвобождение лекарственных средств из мазей. *Медицина* 2019; 7(4): 34-42.

Введение

Мази представляют собой комплекс лекарственных средств с основой, которая обеспечивает их консистенцию, полноту и скорость высвобождения действующих веществ, терапевтическую эффективность. Фармакологический эффект мази зависит от большого количества факторов: концентрации, физико-химических свойств лекарственных и вспомогательных веществ, дисперсности лекарственных средств; технологии изготовления, структурно-механических свойств мази; способа нанесения и области применения; состояния кожи и слизистой оболочки, нарушения их целостности [1,4,8]. В соответствии с ОФС.1.4.1.0008.18 «Мази» технология мазей должна обеспечивать максимальное диспергирование и равномерное распределение действующих веществ в основе. Основу для мазей следует выбирать с учетом назначения лекарственного средства, эффективности, безопасности и биодоступности действующих веществ, совместимости компонентов лекарственного препарата, реологических свойств,

стабильности мази в течение срока годности [2]. В связи с этим, актуальным является изучение факторов, влияющих на высвобождение лекарственных средств из мазей. При разработке новых составов мазей проводятся биофармацевтические исследования, посвященные подбору оптимальных вспомогательных веществ и выбору оптимального варианта технологии [4,5,6,7,8].

В литературе приведены противоречивые сведения о высвобождении кислоты салициловой и резорцина из мазей [8]. При исследовании влияния трех основ (вазелина, смеси вазелина с ланолином безводным 9:1 и эмульсионной основы) методом диффузии в желатиновый гель с железа окисного хлоридом С.С. Камаевой с соавторами установлено наиболее полное высвобождение резорцина из мазей на основе вазелина при диспергировании вещества с подсолнечным маслом (100%), при измельчении с вазелиновым маслом (86%) и при введении резорцина в вазелин в виде водного раствора (97%) [5].

Изучению влияния фармацевтических факторов на высвобождение кислоты салициловой из мазей посвящено много работ как отечественных, так и зарубежных исследователей. А.И. Тенцова с соавторами установила, что при введении микронизированной кислоты салициловой в мази, ее содержание в диализате в 1,5-2 раза выше, чем при введении в виде частиц размером 100-125 мкм. Исследования А.Ф. Аскер и С.В. Уитворт показали, что высвобождение кислоты салициловой из мази увеличивалось с увеличением размеров ее частиц и при смешивании с готовой основой при комнатной температуре. В. Норш с соавторами установили, что более интенсивное высвобождение кислоты салициловой происходило при растворении ее в основе, чем при суспензионном способе введения. J. Lakovska с соавторами не отметили влияния способа приготовления мази (смешивание кислоты салициловой с расплавленной основой, предварительное растворение в ДМСО и др.) на скорость и степень ее высвобождения из мазей [8]. В связи с этим изучение высвобождения кислоты салициловой и резорцина из различных основ для мазей является актуальным.

Цель исследования

Цель данного исследования – изучение влияния фармацевтических факторов (основ для мазей, вспомогательных жидкостей, природы и свойств лекарственных средств, технологии, способа введения в основу) на высвобождение действующих веществ из мазей. В качестве модельных лекарственных средств использовали кислоту салициловую, не растворимую в основах и воде, и резорцин, легко растворимый в воде, растворимый в глицерине и жирных маслах.

Материалы и методы исследования

Кислота салициловая (ФС 2.1.0033.15). Растворима в 500 частях холодной и 15 частях кипящей воды, в 3,5 частях спирта этилового 90%-ного, 5,5 частях спирта этилового 70%-ного, 62 частях глицерина, 70 частях вазелинового масла, 4 частях диметилсульфоксида.

Резорцин (ГФ СССР X издания, ФС 577). Очень легко растворим в воде (1:1), этаноле (1:1), растворим в жирных маслах (1:20) и глицерине. Согласно ГФ СССР X издания легкорастворимый в воде резорцин с целью предотвращения токсического действия на организм вводят в мази (кроме глазных) в виде мельчайшего порошка после растирания с небольшим количеством жирного или вазелинового масла, но без растворения или растирания с водой [3].

Основы для мазей:

1. Жир свиной очищенный (ГФ СССР IX издания, ФС 14, ГОСТ 25292-82 Жир свиной топленый).
2. Вазелин (ФС.2.2.0003.15). Вазелин представляет собой смесь высокомолекулярных твердых, полужидких и жидких предельных углеводородов. Бывает натуральный и искусственный. Поскольку состав и свойства вазелина могут варьировать, для исследований использовали вазелин трех разных производителей: НПО «Ликом» Россия РN003679/01-170909, ОАО «Татхимфармпрепараты» № Р N000450/01 и ООО «Тульская фармацевтическая фабрика» ЛП 000995-181011.
3. Глицериновая мазь (ГФ СССР IX издания, ФС 722). Состав: крахмал 7 ч, вода 7 ч, глицерин 93 ч.
4. 5% гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы Sekol 2000 («Chemimco GMBH», Швеция) (гель натрий-КМЦ).
5. Основа для глазных мазей (ГФ СССР X издания, ФС 709). Состав: вазелин сорта «для глазных мазей» 90 ч, ланолин безводный 10 ч.
6. Основа эмульсионная. Состав: ланолин безводный, вода очищенная, масло подсолнечное поровну (приказ № 214 Минздрава России от 16.07.1997 г.).
7. Консистентная эмульсионная основа Кутумовой (ФС 42-125-72). Состав: вазелин 6 ч, вода очищенная 3 ч, эмульгатор Т-2 1 ч.

Вспомогательные жидкости: масло вазелиновое (ФС.2.2.0004.15), масло подсолнечное (ГОСТ 1129-2013), глицерин (ФС.2.2.0006.15), вода очищенная (ФС.2.2.0020.15).

Изучение высвобождения кислоты салициловой и резорцина из мазей. Готовили мази кислоты салициловой и резорцина с содержанием лекарственных средств 3%. При изготовлении мазей время измельчения лекарственных средств, давление на пестик и время смешивания были одинаковыми. Резорцин в состав мазей вводили в виде мельчайшего порошка, измельчая со вспомогательной жидкостью, и в виде водного раствора. При изготовлении мазей на основе вазелина, основе для глазных мазей и основе Кутумовой резорцин диспергировали с вазелиновым и с подсолнечным маслами.

Для определения степени высвобождения кислоты салициловой и резорцина из основ для мазей использовали метод диффузии в 4%-ный гель желатина с железа окисного хлоридом. Лекарственные средства образуют с железа окисного хлоридом соединения, окрашенные в темно-фиолетовый цвет. Одинаковое количество мазей (0,15 г) вносили в лунки на желатиновом геле, затем через 1, 2, 3 и 6 часов измеряли диаметры окрашенных зон, по которым оценивали степень диффузии веществ в желатиновый гель.

Определение однородности суспензионных мазей проводили по методике ФС 709 ГФ СССР X издания. Брали 4 пробы мази по 0,02-0,03 г, помещали их по 2 пробы на предметное стекло, накрывали вторым предметным стеклом и плотно прижимали до образования пятен диаметром 2 см. При рассмотрении невооруженным глазом на расстоянии 30 см в 3 из 4 проб не должно обнаруживаться видимых частиц [3].

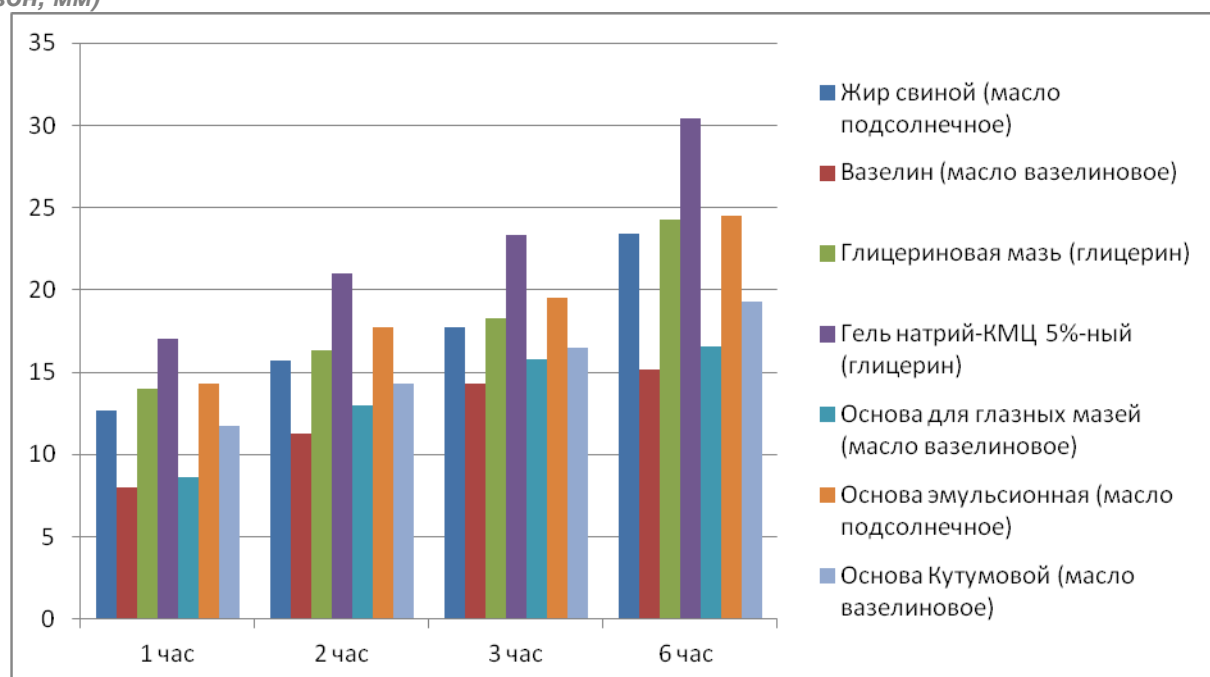
Результаты и их обсуждение

Мази кислоты салициловой на основе 5% геля натрий-КМЦ и глицериновой мази полупрозрачные, бесцветные; на свином жире белые; на эмульсионной основе и основе Кутумовой белого цвета с кремовым оттенком, мягкой консистенции; на вазелине и основе для глазных мазей темно-кремового цвета плотной консистенции. Результаты диффузии кислоты салициловой в желатиновый гель представлены на рис. 1.

В результате исследований установлено, что наиболее полное и быстрое высвобождение кислоты салициловой происходило из 5% геля натрий-КМЦ (100%). В меньшей степени лекарственное средство высвобождалось из эмульсионной основы состава: масло подсолнечное, ланолин безводный, вода очищенная поровну (86%), глицериновой мази (80%) и жира свиного (77%). С наименьшей скоростью кислота салициловая высвобождалась из основы для глазных мазей (55%) и вазелина (50%).

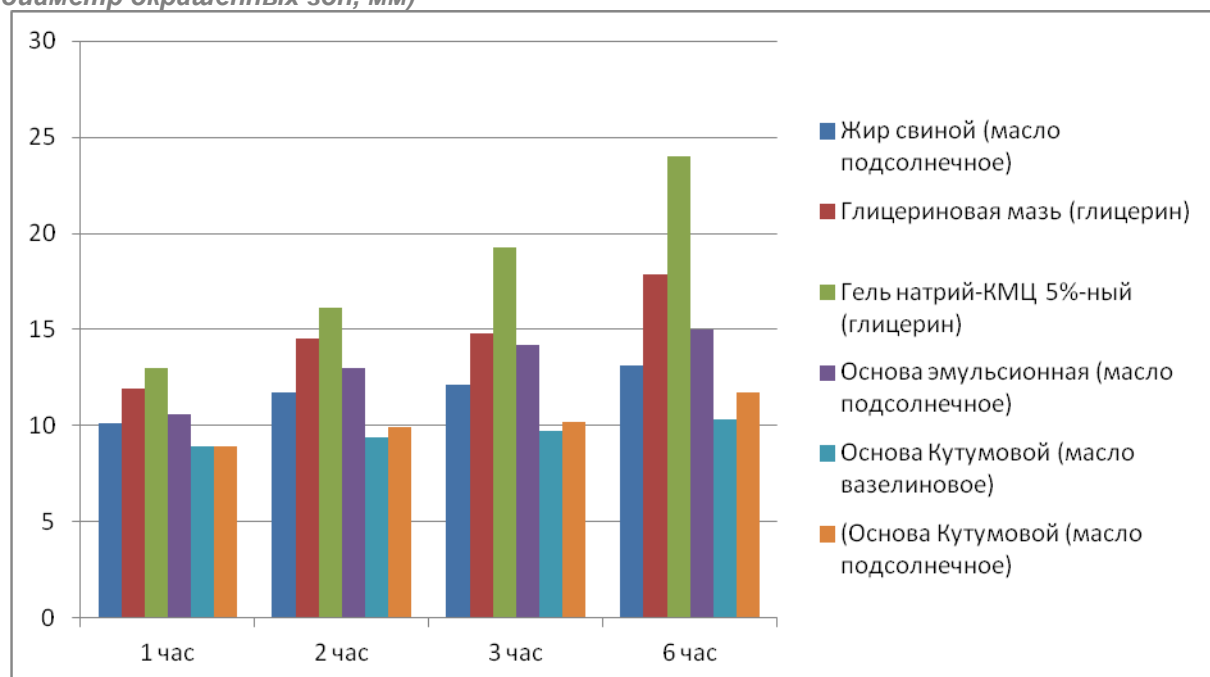
Консистентная эмульсионная основа Кутумовой по полноте и скорости высвобождения кислоты салициловой занимала промежуточное место (63%). Возможно, это связано с ее реологическими свойствами, более плотной консистенцией по сравнению с эмульсионной основой состава: масло подсолнечное, ланолин безводный, вода очищенная поровну.

Рис. 1. Динамика высвобождения кислоты салициловой из мазей (диаметр окрашенных зон, мм)



Мази с резорцином на основе 5% геля натрий-КМЦ и крахмально-глицериновой основе полупрозрачные, бесцветные; на свином жире белые, на эмульсионной основе и на основе Кутумовой белого цвета с кремовым оттенком, мягкой консистенции. Мази на вазелине НПО «Ликом» и основе для глазных мазей светло-бежевого цвета плотной консистенции. Результаты наблюдений представлены на рис. 2.

Рис. 2. Динамика высвобождения резорцина из мазей при введении по типу суспензии (диаметр окрашенных зон, мм)



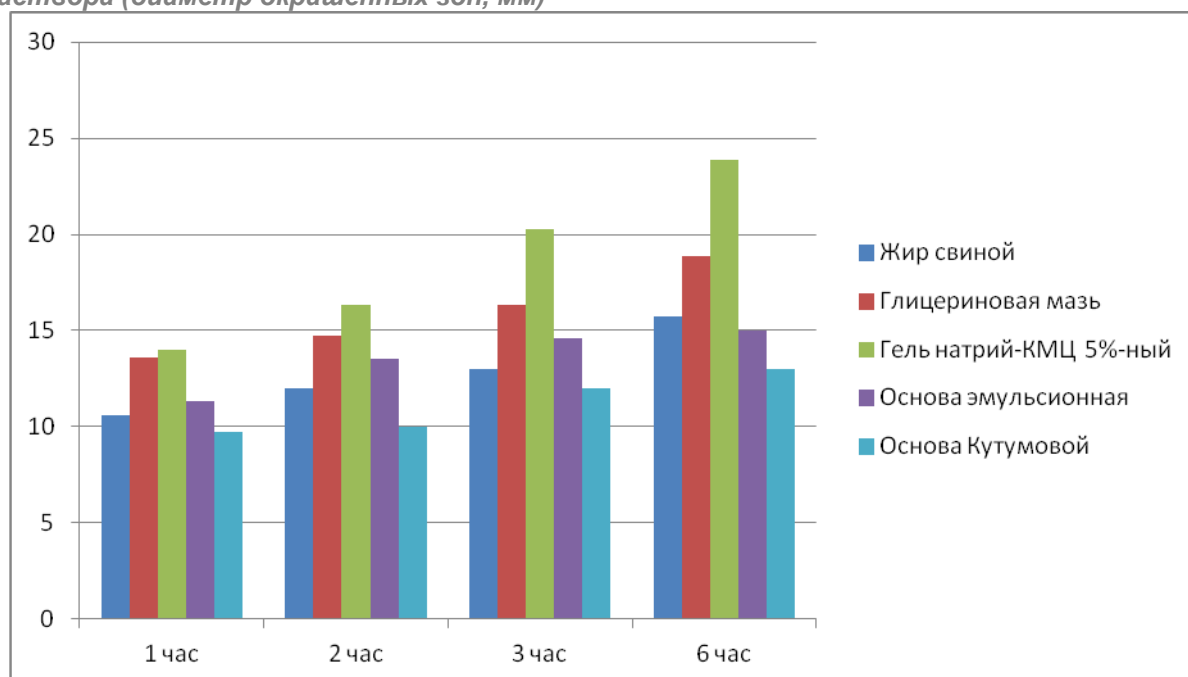
Установлено, что наиболее быстро при введении в виде мельчайшего порошка резорцин высвобождался из 5% геля натрий-КМЦ (100%), немного медленнее из глицериновой мази (74,6%), эмульсионной основы (62,4%) и еще медленнее из жира свиного (54,6%) и основы Кутумовой при диспергировании как с вазелиновым (42,1%), так и с подсолнечным (48,7%) маслом.

При этом измельчение с подсолнечным маслом обеспечивало более полное высвобождение резорцина из основы Кутумовой, но не влияло на диффузию лекарственного средства из вазелина и основы для глазных мазей, из которых не наблюдалось высвобождения резорцина. Окрашенные зоны отсутствовали.

При введении по типу эмульсии резорцин растворяли в воде и смешивали с соответствующей основой. Мази с резорцином на основе 5% геля натрий-КМЦ и крахмально-глицериновой основе прозрачные, бесцветные; на свином жире белые, на эмульсионной основе и на основе Кутумовой белого цвета с кремовым оттенком, мягкой консистенции. Мази на вазелине НПО «Ликом» и основе для глазных мазей светло-бежевого цвета более плотной консистенции. Результаты наблюдений представлены на рис. 3.

Анализ динамики высвобождения резорцина из мазей при введении в виде водного раствора показал, что скорость и полнота высвобождения резорцина были немного выше, чем при введении по типу суспензии. Более значительной эта разница была для основы Кутумовой (54,4% по сравнению с 48,7%-42,1%). Близкие результаты, полученные при введении резорцина в глицериновую мазь (77,4%), 5% гель натрий-КМЦ и эмульсионную основу (64,8%) в виде мельчайшего порошка и в виде водного раствора, можно объяснить тем, что резорцин растворяется в основах.

Рис. 3. Динамика высвобождения резорцина из мазей при введении в виде водного раствора (диаметр окрашенных зон, мм)



И, также как при введении по типу суспензии, введенный в виде водного раствора резорцин не высвобождался из вазелина и основы для глазных мазей при использовании нами вазелина трех разных производителей. Добавление в лунки на желатиновом геле перед внесением мазей воды очищенной, глицерина, спирта этилового 96% и масла подсолнечного не изменили результаты эксперимента. Во всех случаях не наблюдалось высвобождение резорцина с образованием окрашенных зон из вазелина и основы для глазных мазей.

Анализ однородности суспензионных мазей кислоты салициловой и резорцина по методике ГФ СССР X издания показал отсутствие во всех пробах видимых частиц, что свидетельствует о соответствии изготовленных мазей требованию однородности.

Заключение

Таким образом, в результате эксперимента установлено, что наиболее полное и быстрое высвобождение кислоты салициловой и резорцина происходило из 5% геля натрий-КМЦ. В меньшей степени лекарственные средства высвобождались из глицериновой мази, эмульсионной основы состава: масло подсолнечное, ланолин безводный, вода очищенная поровну и жир свиной. С наименьшей скоростью кислота салициловая высвобождалась из основы для глазных мазей и вазелина. Из вазелина и основы для глазных мазей, приготовленных с использованием вазелина трех производителей, не наблюдалось высвобождения резорцина при введении как в виде мельчайшего порошка, так и в виде водного раствора. Диспергирование резорцина с подсолнечным маслом увеличивало высвобождение резорцина из основы Кутумовой, но не влияло на диффузию из вазелина и основы для глазных мазей. Следовательно, основными факторами, влияющими на высвобождение лекарственных средств из мазей, являются природа, состав основы и технология, способ введения.

Список литературы

1. Анурова М.Н., Демина Н.Б. Мягкие лекарственные формы: типы, характеристики, регламентация. *Фармация* 2014; (8): 44-48.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. Том II. ОФС.1.4.1.0008.18. 2018. URL: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 13.12.2018).
3. Государственная Фармакопея СССР X издания. ФС 577, ФС 709. М.: Медицина, 1968. С. 587-588, 719-721.
4. Гладышев В.В. и др. Изучение интенсивности высвобождения миноксидила из мазевых основ. *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация* 2014; (24): 242-245.
5. Камаева С.С., Меркурьева Г.Ю., Тарасова Н.В. Влияние основы на высвобождение резорцина из мазей. *Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути решения* 2012; 7 (2): 844-845.

6. Никитина Н.В., Степанюк С.Н. Разработка дерматологической мази с экстрактом почек *Populus nigra*. *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация* 2010; (16): 120-127.
7. Панкрушева Т.А. и др. Разработка лекарственных препаратов для лечения воспалительных заболеваний пародонта. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация* 2003; (2): 214-219.
8. Тенцова А.И., Грецкий В.М. Современные аспекты исследования и производства мазей. М.: Медицина, 1980. С. 145-147, 153-154.

Study of Factors Affecting the Release of Drugs From Ointments

Erofeeva L. N.

Doctor of Pharmacy, Professor, Chair for Pharmaceutical Technologies

Suchkina D. A.

Student

Kursk State Medicine University, Kursk, Russia

Corresponding Author: Erofeeva Lija; **e-mail:** lnerofeeva@rambler.ru

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Abstract

The results of experimental studies of pharmaceutical factors affecting the release of drugs from ointments using seven ointment bases and model drugs: salicylic acid, insoluble in bases and water, and resorcinol, soluble in water, glycerol and fatty oils are presented. The method of diffusion in gelatin gel showed that the main factors affecting the release of drugs from ointments are the basis and technology. The most rapid and complete release of the active substances occurred from 5% gel sodium carboxymethylcellulose.

Keywords: ointments, bases for ointments, technology, salicylic acid, resorcinol

References

1. Anurova M.N., Demina N.B. Myagkiye lekarstvennyye formy: tipy, kharakteristiki, reglamentatsiya. [Soft dosage forms: types, characteristics, regulation] *Farmatsiya [Pharmacy]* 2014; (8): 44-48. (In Russ.)
2. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii XIV izdaniya. Tom II. [Elektronnyy resurs]. Russian State Pharmacopoeia XIV edition. Vol. II. 2018. Available at: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. (In Russ.)
3. Gosudarstvennaya Farmakopeya SSSR X izdaniya. [State Pharmacopoeia of the USSR X edition]. Moscow: Medicine, 1968. 1079 p. (In Russ.)
4. Gladyshev V.V. et al. Izucheniye intensivnosti vysvobozhdeniya minoksidila iz mazevykh osnov [Study of the intensity of minoxidil release from ointment bases] *Nauchnye vedomosti BelGU. Seriya Meditsina. Farmatsiya [Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine, Pharmacy]* 2014; (24): 242-245. (In Russ.)

5. Kamayeva S.S., Merkur'yeva G.Yu., Tarasova N.V. Vliyaniye osnovy na vysvobozhdeniye rezortsina iz mazey [The influence of the base on the release of resorcinol from ointments] *Zdorov'ye – osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti resheniya* [Health is the basis of human potential: problems and solutions] 2012; 7 (2): 844-845. (In Russ.)
6. Nikitina N.V., Stepanyuk S.N. Razrabotka dermatologicheskoy mazi s ekstraktom pochek Populus nigra [Development of a dermatological ointment with an extract of the kidneys Populus nigra] *Nauchnyye vedomosti BelGU. Seriya Meditsina. Farmatsiya* [Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine, Pharmacy] 16 (2010): 120-127. (In Russ.)
7. Pankrusheva T.A. et al. Razrabotka lekarstvennykh preparatov dlya lecheniya vospalitel'nykh zabolevaniy parodonta [Drug development for the treatment of inflammatory periodontal diseases] *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya* [Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy] 2 (2003): 214-219. (In Russ.)
8. Tentsova A.I., Gretskiy V.M. Sovremennyye aspekty issledovaniya i proizvodstva mazey. [Modern aspects of research and production of ointments]. Moscow: Medicine, 1980. (In Russ.)

Методические подходы к диагностике пищевого статуса детей и подростков (литературный обзор)

Богомолова Е. С.

д.м.н., проф., заведующий кафедрой гигиены

Олюшина Е. А.

к.м.н., доцент кафедры гигиены

Котова Н. В.

к.м.н., доцент кафедры гигиены

Максименко Е. О.

к.м.н., доцент кафедры гигиены

Шапошникова М. В.

к.м.н., доцент кафедры гигиены

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России

Автор для корреспонденции: Олюшина Екатерина Анатольевна, **e-mail:** ekatol@rambler.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Введение. В настоящее время отмечена высокая распространенность нарушений пищевого статуса среди молодого поколения как с проявлениями избыточности питания, так и с недостаточным пищевым статусом, что в зарубежной литературе описано как феномен «двойное бремя». Актуальной причиной формирования отклонений в здоровье ребенка являются нарушения пищевого поведения, в том числе психосоматического характера. Это определяет необходимость разработки и внедрения единой системы диагностики, первичной профилактики и коррекции нарушений пищевого статуса детей и подростков. Цель исследования. Проведение аналитического обзора российской и зарубежной литературы по теме оценки состояния питания подрастающего поколения и формирование представления о современных методических подходах в области диагностики пищевого статуса детско-подросткового контингента. Материал и методы исследования. В работе использованы аналитические методы обработки научно значимой информации об объекте исследования. Дана критическая оценка различных методов диагностики пищевого статуса изучаемого контингента: соматометрических, лабораторных, клинических, функциональных. Представлена разработка многоуровневой системы оценки и коррекции нарушений состояния питания и риска развития алиментарно-зависимых заболеваний. Заключение. Установлено, что, несмотря на многочисленные исследования в области изучения пищевого статуса, на современном этапе имеются нерешенные проблемы: отсутствуют унифицированные адекватные, информативные и удобные в использовании критерии оценки состояния питания с учетом их специфики для различных возрастных групп; отсутствуют программные продукты по оценке и коррекции пищевого статуса с учетом возрастной дифференцировки, что не позволяет реализовать принцип ранней диагностики и своевременной коррекции нарушений состояния питания.

Ключевые слова: пищевой статус, диагностические критерии, дети и подростки, избыточность питания, недостаточность питания, ожирение, стандартное отклонение

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-43-56

Для цитирования: Богомолова Е.С., Олюшина Е.А., Котова Н.В., Максименко Е.О., Шапошникова М.В. Методические подходы к диагностике пищевого статуса детей и подростков (литературный обзор). Медицина 2019; 7(4): 43-56.

Введение

Основной целью Стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года является развитие передовых инновационных технологий, обеспечивающих сохранение и улучшение здоровья населения, в том числе персонализированной медицины, включающей тестирование на предрасположенность к болезням, профилактику, объединение диагностики с лечением и мониторинг терапии [4,7].

В соответствии с международными тенденциями в прогнозируемый период существенное внимание должно быть уделено развитию профилактической медицины, разработке и внедрению новых эффективных методов и средств предупреждения заболеваний, охраны и укрепления здоровья детей и подростков [6]. Среди основных ожидаемых результатов научной платформы «Профилактическая среда» предполагается «разработка и практическое применение системы диагностики и первичной профилактики нарушений пищевого статуса и алиментарно-зависимых заболеваний» [12,18]. Планируется, что «будут продолжены исследования, направленные на внедрение принципов персонализированной диетотерапии с использованием генодиагностики и биомаркеров наиболее распространенных неинфекционных заболеваний детей и взрослых и снижение распространенности алиментарно-зависимых заболеваний» [18].

В платформе «Эндокринология» Стратегии развития отмечена значимость ранней и всесторонней диагностики ожирения – эпидемии XXI века как одного из основных факторов риска развития ишемической болезни сердца, инсульта, артериальной гипертензии, рака, заболеваний желудочно-кишечного тракта и как актуальной причины инвалидизации и смертности.

В настоящее время в связи с быстрым экономическим развитием, урбанизацией и модернизацией в странах с низким и средним уровнем доходов отмечена высокая распространенность в детской популяции как проявлений избыточности питания (избыточная масса тела, ожирение), так и его недостаточности (проявления белково-энергетической недостаточности), что в зарубежной литературе описано как феномен «двойное бремя» [32,37]. Дети и подростки с отклонениями в состоянии питания составляют группу риска развития заболеваний эндокринной (ожирение, сахарный диабет, заболевания щитовидной железы), репродуктивной и сердечно-сосудистой систем (атеросклероз, гипертоническая болезнь), желудочно-кишечного тракта (стеатогепатит, панкреатит, холецистит, желчнокаменная болезнь, и т.д.) и опорно-двигательного аппарата [13,17,30].

Актуальной причиной формирования отклонений в состоянии питания среди молодого поколения сегодня являются нарушения в пищевом поведении, связанные с психическими факторами. Эпидемиологические данные свидетельствуют о неуклонном росте числа детей и подростков, страдающих нервной анорексией и (или) нервной

булимией, из которых более 90% лица женского пола и 3/4 заболели в подростковом возрасте [10,26].

Однако несмотря на актуальность проблемы, связанной с высокой распространенностью нарушений пищевого статуса (ПС), сохраняется их низкая выявляемость на ранних этапах диагностики [29].

Таким образом, разработка и практическое внедрение системы диагностики пищевого статуса является первостепенным актуальным направлением современной медицины.

Современные подходы к диагностике пищевого статуса детей и подростков

Пищевой статус характеризует состояние здоровья, связанное не только с питанием, но и с особенностями усвоения, метаболизма, утилизации веществ, поступающих в организм, то есть функционированием всей трофической цепи.

Программа изучения статуса питания традиционно включает два блока: 1 – оценка фактического питания, 2 – определение показателей функции питания, пищевой адекватности и заболеваемости [23].

При этом под функцией питания понимают «систему обменных процессов, нейрогуморальная регуляция которых обеспечивает относительное постоянство внутренней среды организма (гомеостаз)», и для оценки которой используют показатели процессов пищеварения и обмена веществ.

Пищевая адекватность оценивается с использованием антропометрических показателей (длина тела (ДТ), масса тела (МТ), массо-ростовые индексы), маркеров обмена веществ (конечные продукты обмена в моче, содержание специфических метаболитов в крови, активность ферментов и др.); показателей функционального состояния отдельных систем организма (нервная, пищеварительная, сердечно-сосудистая и др.). На основании этих исследований выявляют ранние симптомы пищевой неадекватности [24,25].

Таким образом, для комплексной оценки ПС используют четыре группы методов исследования: соматометрические, лабораторные, клинические и функциональные [5,28].

Согласно мировому опыту, при скрининговых исследованиях состояния питания наиболее доступными являются показатели физического развития, позволяющие судить, прежде всего, о степени энергетической и пластической адекватности питания. В настоящее время существует несколько принципиально разных подходов к оценке нарушений ПС по морфологическим показателям.

Некоторые исследователи продолжают применять в качестве диагностических критериев детского ожирения и белково-энергетической недостаточности соответственно превышение фактической МТ должноствующую на 15% и более [22] и ее дефицит от 10% и более, согласно классификации, предложенной Waterlow J.C.. Вместе с тем, расчет должноствующей МТ в соответствии с возрастом и ростом ребенка, который отличается значительной вариабельностью в детской популяции, представляется весьма затруднительным, что может приводить как к гипо-, так и к гипердиагностике нарушений питания у детей и подростков.

В связи с этим возникла необходимость поиска различных формул и индексов, которые бы минимально зависели от ДТ и максимально коррелировали с массой, ее жировым компонентом и состоянием физической работоспособности. Указанным требованиям в большей степени отвечает индекс массы тела (ИМТ или индекс Кетле-2), представляющий отношение фактической МТ (кг) к квадрату ДТ (м^2). Поэтому, согласно рекомендациям экспертов по питанию FAO/UN, данный показатель рекомендован для скрининговой диагностики состояния питания [22,31].

У взрослых оценка МТ с помощью ИМТ, за норму которого принят интервал 18,5-24,9 $\text{кг}/\text{м}^2$, обладает высокой надежностью и коррелирует как с параметрами оценки ожирения, так и с показателями пищевой недостаточности, определяемыми фиксированными значениями данного индекса. К тому же для его определения необходимы простейшие антропометрические данные и не требуется никаких массо-ростовых таблиц.

В отношении детского контингента существует ряд проблем при оценке их ИМТ, связанных с тем, что данный массо-ростовой показатель существенно зависит от возраста ребенка. Так, на первом году жизни ребенка регистрируется высокий ИМТ, сниженный – в период раннего детства (2-5 лет); его значения постепенно увеличиваются в период полового развития, что в целом отражает возрастную динамику количества жировой ткани в детском организме [1]. Поэтому ИМТ у детей и подростков необходимо сопоставлять с возрастом и полом исследуемого ребенка, для чего используют данные центильных таблиц или стандартные отклонения (σ) ИМТ [33].

На основании проведенных в 2006 г. исследований специалистами ВОЗ были даны распределения детей по массо-возрастным, росто-возрастным и массо-ростовым показателям и для определения перцентиля ИМТ разработаны стандартные карты данного показателя с учетом пола ребенка: отдельно для мальчиков и девочек 2-19 лет [19]. До 2-летнего возраста диагноз ожирения ребенку не устанавливается, а избыточная относительно возраста и ДТ масса расценивается как нарушение питания – паратрофия [3]. Недостаточность питания у детей раннего возраста, имеющая свои особенности, традиционно в нашей стране обозначается термином «гипотрофия».

С целью выявления степени ожирения российские эндокринологи рекомендуют сопоставлять фактическую МТ ребенка с его идеальным весом, то есть весом, соответствующим перцентилю ДТ [11,14]. Для этого по центильной таблице ДТ находят перцентиль ДТ для ребенка, а затем по центильным таблицам МТ – его идеальный вес. Превышение фактической МТ ребенка идеальную до 29% свидетельствует о I степени ожирения; превышение от 30% до 49% расценивается как II степень ожирения, от 50% до 99% – III степень ожирения.

Помимо оценки ИМТ по центильной шкале (непараметрический метод), эксперты ВОЗ пользуются градациями σ ИМТ от медианы: -3 , -2 , -1 σ , медиана, $+1$, $+2$, $+3$ σ (сигмальный – параметрический – метод). Нормальной МТ соответствуют значения ИМТ в интервале $\pm 1\sigma$ от медианы. Недостаточность МТ I, II и III степеней определяют при отклонении индивидуальных значений показателя соответственно более чем на -1 , -2 и -3σ ; избыточную МТ – от $+1,0$ до $+2,0$ σ . Ожирение у детей и подростков диагностируют при значениях свыше $+2,0\sigma$ ИМТ [19].

В эпидемиологических исследованиях распространенности нарушений ПС детей и подростков используют также показатель Z-score, представляющий собой отношение отклонения значения индивидуального показателя от среднего значения для данной популяции к σ среднего значения. Оценка по Z-score аналогична σ [9].

Для оценки антропометрических показателей ребенка ВОЗ рекомендует использовать программное средство для персональных компьютеров Anthro, позволяющее производить оценку индивидуальных показателей в соответствии с действующими нормами ВОЗ как по центильной шкале, так и по σ (<http://who.int/childgrowth/software/en/>) [20].

Однако, характеризуясь высокой корреляцией с общим количеством жира в организме, ИМТ не всегда отражает истинное содержание жировой ткани: диагностика ожирения при повышенных значениях данного индекса может быть ошибочной у атлетически сложенных индивидуумов [35].

Поэтому для большей объективности при оценке состояния питания детей и подростков целесообразно изучение состава тела [16]. К наиболее информативным и относительно доступным методам исследования компонентного состава тела относится биоимпедансный анализ (БИА), основанный на оценке биоэлектрического сопротивления тканей организма [21]. БИА позволяет измерить абсолютное и относительное количество жировой (ЖМ) и тощей или безжировой (ТМ) массы тела, активной клеточной (АКМ) и скелетно-мышечной (СММ) массы, вне- и внутриклеточной жидкости организма, а также рассчитать вторичные данные: ИМТ, основной обмен (в т.ч. удельный), фазовый угол.

Результаты, полученные методом мультимастотной биоимпедансометрии, могут использоваться в повседневной педиатрической практике для выявления

донозологических отклонений состава тела. Динамическое исследование его показателей позволит не только проводить своевременную коррекцию пищевого рациона и двигательной активности детей и подростков с нарушениями ПС, но и оценивать эффективность проводимых мероприятий, предотвращая развитие соответствующих осложнений [15]. Однако применение трехкомпонентной модели у пациентов со сниженной массой белка, остеопенией или остеопорозом дает неадекватные результаты, что ограничивает использование данного метода при диагностике состояния питания больных нервной анорексией.

Более доступными методами анализа компонентного состава тела являются окружностный метод, основанный на измерении окружностей живота, шеи, мышц плеча, бедра и т.д. и последующем расчете относительного содержания жира в организме по специальным формулам, и калиперометрия, предполагающая расчет процента ЖМ по толщине кожно-жировых складок в определенных точках [2,27,34]. В данном случае существенно влияет на получаемый результат как выбор формулы для оценки состава тела у детей, так и погрешность измерений самого калипера и квалификация персонала, проводящего исследования, а также отсутствие единых жестких стандартов измерений и универсальных формул, особенно для детей младшего возраста.

К другим методам оценки состава тела, позволяющим оценить количество висцерального жира в организме, относятся инфракрасная термография, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, но в связи с высокой стоимостью исследования и большими затратами времени на исследование практически они являются малодоступными [19].

Наряду с антропометрическими методами исследования, большое значение в клинической практике имеют критерии лабораторной диагностики нарушений обмена веществ, которые позволяют характеризовать состояние висцерального пула белка, обмен жиров и углеводов, витаминный и минеральный статус обследуемого и уточнить степень недостаточности и избыточности питания [5].

Использование функциональных тестов (дыхательных проб, прямой мышечной стимуляции, ручной динамометрии и др.) позволяет выявить ранние изменения мышечной функции, так как доказана тесная корреляционная связь между определяемыми показателями и содержанием общего белка организма, и оценить ПС детей и подростков [36].

Для выявления ранних симптомов нарушений пищевого поведения психического характера (ограничительного и булимического), часто лежащих в основе формирования отклонений состояния питания современных подростков, с клинических позиций целесообразно использовать специальные опросники, позволяющие оценить удовлетворенность обследуемых «видом» своего тела [5,10].

На основе результатов фундаментальных исследований в области изучения нутриома и метаболома для индивидуальной комплексной оценки особенностей метаболизма здорового и больного человека специалистами ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» разработана система многоуровневой оценки нарушений состояния питания и риска развития алиментарно-зависимых заболеваний – «Нутритест-ИП» [8]. Данная система реализуется на трех уровнях исследования, что обеспечивает ее внедрение на всех этапах оказания медицинской помощи – от первичного звена до специализированной и высокотехнологичной помощи.

Диагностическая система первого уровня «Нутритест-ИП 1» применяется на стадии оказания первичной медико-санитарной помощи и включает изучение структуры фактического питания по индивидуальному профилю потребления пищевых продуктов с учетом возраста, пола, физической активности и оценку риска развития алиментарно-зависимых заболеваний на основе простых антропометрических измерений (ДТ, МТ, расчет ИМТ, окружность талии, окружность бедер и др.) и исследования уровня глюкозы и общего холестерина в крови. Полученные результаты стандартных лабораторных исследований (общий анализ крови и мочи), физикального осмотра, анамнеза, клинического обследования позволяют выявить основные нарушения питания и при необходимости провести их коррекцию за счет изменения продуктового набора, режима питания, кулинарной обработки пищи.

Комплексное обследование с использованием диагностической системы второго уровня «Нутритест-ИП 2» предполагает расширение спектра нутриметаболических исследований, включающих оценку состава тела, данных лабораторных исследований, методов функциональной и лучевой диагностики. Данный уровень позволяет оптимизировать диетологические подходы к лечению и профилактике алиментарно-зависимых заболеваний, а также выявить группы риска лиц, нуждающихся в более детализированном диетологическом обследовании.

«Нутритест-ИП 3» предполагает использование комплекса высоких медицинских технологий по оценке нарушений в данной области на основе геномного, протеомного и нутриметаболического анализа, к числу которых относится исследование энергетического обмена методом непрямой калориметрии с оценкой структуры энерготрат и определением скоростей окисления белков, жиров и углеводов. Лабораторные диагностические технологии, используемые по алгоритму «Нутритест-ИП 3», позволяют оценить обеспеченность организма различными макро- и микронутриентами, исследовать биохимические маркеры пищевого и метаболического статуса, показатели гормонального профиля, иммунного статуса, системы антиоксидантной системы, а также провести генетические исследования с оценкой полиморфизма отдельных генов.

Заключение

Таким образом, учитывая многообразие методов оценки ПС, возникает необходимость поиска наиболее точных, информативных, удобных и доступных в использовании критериев оценки. Раннее выявление отклонений в пищевом поведении, диагностика избытка или недостатка ЖМ, адекватная и объективная оценка состояния питания детей и подростков будут способствовать своевременной коррекции выявленных нарушений, минимизации риска развития алиментарно-зависимых заболеваний, ассоциированных с избыточностью и недостаточностью питания, а, значит, и сохранению потенциала здоровья нации. Значимость этой проблемы во многом определяется и фактом снижения затрат здравоохранения на диспансерное наблюдение и лечение ребенка с отклонениями ПС. Сочетанное использование нутриметаболомных (оценка нутриметаболограммы), протеомных (оценка регуляции протеома и метаболома) и геномных (оценка нарушений экспрессии генов) технологий при комплексной оценке нарушений состояния питания подрастающего поколения позволят персонализировать диетотерапию, определить адекватный режим их физической активности, назначить оптимизированную медикаментозную и физиотерапию.

Несмотря на многочисленные исследования в области изучения и коррекции ПС исследуемого контингента, на современном этапе имеются следующие нерешенные проблемы, определяющие значимость дальнейших научных изысканий в данной области:

- отсутствуют унифицированные точные, адекватные, информативные, доступные и удобные в использовании критерии оценки ПС детей и подростков с учетом их специфики для различных возрастных групп;
- отсутствуют интегральные программные продукты по оценке и коррекции отклонений состояния питания подрастающего поколения с учетом возрастной их дифференцировки, что не позволяет реализовать принцип ранней диагностики и своевременной коррекции нарушений состояния питания;
- не организован повсеместный мониторинг ПС, основанный на принципе персонализированной медицины (индивидуальный подход при коррекции ПС).

Необходима разработка и практическое внедрение соответствующих программных продуктов на основе нутриметаболомных, протеомных и геномных технологий, и включение в критерии социально-гигиенического мониторинга детского населения оценки ПС с их использованием.

Список литературы

1. Аверьянов А.П., Поляков В.К., Болотова Н.В. Диагностика ожирения у детей школьного возраста на основе показателей, характеризующих количество жировой ткани. *Вопросы детской диетологии* 2013; (11) 1: 19-23.
2. Алешина Е.И., Новикова В.П., Комиссарова М.Ю., Кликунова К.А., Воронцова Л.В. Окружность живота у детей: современные нормативы и диагностическое значение. *Вопросы детской диетологии* 2014; (12) 1: 33-38.
3. Давыдова А.В., Логачев М.Ф. Актуальные проблемы развития повышенной массы тела и ожирения у детей и подростков. *Детская больница* 2014; 1: 31-36.
4. Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Арчаков А.И., Мошковский С.А. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2012; 12: 4-12.
5. Ерпулѳа Ю.В., Корсунский А.А. Оценка статуса питания ребенка в практике врача-педиатра. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 80 с.
6. Шишкин С.В. Здравоохранение: современное состояние и возможные сценарии развития. Доклад к XVIII Апрельской международной научной конференции по проблемам развития экономики и общества (Москва, 11–14 апреля 2017 г.). М.: Издательский дом Высшей школы экономики, 2017. 54 [2] с.
7. Карташова Е.А. Эффективность персонализированной терапии в рамках терапевтического сотрудничества при лечении пациентов разного возраста. Наука сегодня: проблемы и пути решения. Сб. трудов конференции. Вологда, 2016, С. 78-80.
8. Клинические рекомендации по диагностике и коррекции нарушений пищевого статуса. Москва, 2013.
9. Ковальчук В.К., Саенко А.Г., Скварник В.В. Сравнительная оценка пищевого статуса городских и сельских подростков в Приморье на основе Z-скоргов. *Здоровье. Медицинская экология. Наука* 2014; 4 (58): 89-91.
10. Медведев В.П., Лоскучерявая Т.Д. Нервная анорексия и нервная булимия у детей и подростков: диагностика и лечение. *Российский семейный врач* 2013; (17) 1: 4-15.
11. Никитина И.Л., Тодиева А.М., Каронова Т.Л., Буданова М.В. Ожирение у детей и подростков: особенности фенотипа, ассоциация с компонентами метаболического синдрома. *Вопросы детской диетологии* 2012; (10) 5: 23-30.
12. Об утверждении научных платформ медицинской науки: Приказ Минздрава России от 30.04.2013 № 281.
13. Панькин В.И. Ожирение. *Международный эндокринологический журнал* 2013; 5 (53): 150-156.
14. Павловская Е.В., Багаева М.Э., Сурков А.Г., Строкова Т.В., Каганов Б.С. Ожирение у детей: критерии диагностики и клинические проявления. *Вопросы детской диетологии* 2012; (10) 3: 18-22.
15. Поляшова А.С., Игнатьев В.А., Караева А.Ф. Биоимпедансный анализ состава тела – неотъемлемый компонент оценки пищевого статуса при ожирении. Актуальные вопросы питания населения: сборник материалов V юбилейной межрегиональной научно-практической конференции ПФО (Нижний Новгород, 27-28 марта 2015 г.). Нижний Новгород, 2015. С. 45-47.
16. Русакова Д.С. Сравнительная характеристика методов оценки состава тела и разработка корректирующей диетотерапии у пациентов с нарушением пищевого статуса. Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. М., 2012. 23 с.

17. Рябиченко Т.И., Скосырева Г.А., Карцева Т.В. Состояние репродуктивного здоровья девочек – подростков с дефицитом массы тела. *Вестник НГУ* 2011; (9)2: 44-47.
18. Сафоницева О.Г., Мартынич С.А. Задачи развития научной платформы медицинской науки "профилактическая среда": Технологические решения. *Успехи современного естествознания* 2015; 3: 102-106.
19. Федеральные клинические рекомендации (протоколы) по ведению детей с эндокринными заболеваниями. Под ред. И.И. Дедова, В.А. Петерковой. М.: Практика, 2014. 442 с.
20. Фролов С.В., Дубровин В.В., Лядов М.А., Потлов А.Ю., Фролова М.С., Голофеев А.А. Развития программно-аппаратных средств для оценки состояния здоровья детей на примере комплекса "Здоровый ребёнок". *Врач и информационные технологии* 2012; 3: 37-47.
21. Эдлеева А.Г., Хомич М. М., Леонова И. А., Богданов В. А. Биоимпедансометрия как метод оценки компонентного состава тела у детей старше 5 лет. *Детская медицина Северо-Запада* 2011; (2)3: 30-35.
22. Cole T.J., Lobstein T. Extended international (IOTF) body mass index cut-offs for thinness, overweight and obesity. *Pediatric Obesity* 2012; 4: 284-294.
23. Corsi D.J., Subramanyam M.A., Subramanian S.V. Measuring nutritional status of children. *International Journal of Epidemiology* 2011; 40: 1030-1036.
24. Ramires E.K., de Menezes R.C., Oliveira J.C., Oliveira M.A., Temoteo T.L., Longo-Silva G., Leal V.S., Costa E.C., Asakura L. Nutritional status of children and adolescents from a town in the semiarid Northeastern Brazil. *Revista paulista de pediatria* 2014; 3: 200-207.
25. Garver W.S., Newman S.B., Gonzales-Pacheco D.M. et al. The genetics of childhood obesity and interaction with dietary macronutrients. *Genes Nutr.* 2013; 8(3): 271-287.
26. Gerbasi M.E., Becker A.E., Richards L.K., Thompson-Brenner H., Thomas J.J., Gilman S.E., Agnew-Blais J.C. Globalization and eating disorder risk: Peer influence, perceived social norms, and adolescent disordered eating in Fiji. *International Journal of Eating Disorders*. 2014; (47) 7: 727-737.
27. Mager D.R. et al. Anthropometric measures of visceral and subcutaneous fat are important in the determination of metabolic dysregulation in boys and girls at risk for nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr. Clinical Pract.* 2013; 28 (1): 101-112.
28. Manna P.K. et al. Anthropometric assessment of physical growth and nutritional status among schoolchildren of North Bengal. *Anthropologist* 2011; 13 (4): 299-305.
29. Capanzana M.V., Aguila D.V., Gironella G.M.P. Montecillo K.V. Nutritional status of children ages 0-5 and 5-10 years old in households headed by fisherfolks in the Philippines. *Archives of Public Health* 2018; (76)24: 1-8.
30. Nam E.W., Sharma B., Kim H.Y. et al. Obesity and Hypertension among School-going Adolescents in Peru. *J Lifestyle Med.* 2015; 5(2): 60-67.
31. Ozsaker M. Evaluation of BMI of secondary school students in terms of some variables. *International Journal of Human Sciences* 2012; (9)2: 276-287.
32. Piernas C., Wang D., Du S. et al. The double burden of under- and overnutrition and nutrient adequacy among Chinese preschool and school-aged children in 2009-2011. *European journal of clinical nutrition* 2015; 69(12): 1323-1329.
33. Ramachandran P., Gopalan H.S. Assessment of nutritional status in Indian preschool children using WHO 2006 Growth Standards. *Indian J Med Res* 2011; 134: 47-53.

34. Spolidoro J.V., Pitrez Filho M.L., Vargas L.T., Santana J.C., Pitrez E., Hauschild J.A. et al. Waist circumference in children and adolescents correlate with metabolic syndrome and fat deposits in young adults. *Clinical Nutrition* 2013; 32 (1): 93-100.
35. Starc G., Strel J. Is there a rationale for establishing Slovenian body mass index references of school-aged children and adolescents. *Anthropological Notebooks* 2011; 17 (3): 89-100.
36. Torun N.T., Yildiz Y., Assessment of nutritional status of 10-14 years old adolescents using Mediterranean and diet quality index (kidmed). *Procedia – Social and Behavioral Sciences* 2013; 106: 512-518.
37. Tzioumis E., Adair L.S. Childhood dual burden of under- and overnutrition in low- and middle-income countries: a critical review. *Food and nutrition bulletin* 2014; 35(2): 230-243.

Methodical Approaches to Diagnostics of Nutritional Status of Children and Adolescents (Literature Review)

Bogomolova E. S.

Doctor of Medicine, Professor, Head, Chair for Hygiene

Olyushina E. A.

MD, PhD, Assistant Professor

Kotova N. V.

MD, PhD, Assistant Professor

Maksimenko E. O.

MD, PhD, Assistant Professor

Shaposhnikova M. V.

MD, PhD, Assistant Professor

Kiseleva A. S.

MD, PhD, Assistant Professor

Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod

Corresponding Author: Olyushina Ekaterina Anatol'yevna, **e-mail:** ekatol@rambler.ru.

Conflict of interest: None declared

Funding: The study had no sponsorship

Abstract

Nowadays a high prevalence of nutritional status disturbances (under- and overnutrition) among the youth is called «the double burden» in a foreign literature. An actual cause of deviations in children's health is eating disorders including psychosomatic disorders. This determines the necessity to develop and implement of a unified diagnostic system, primary prevention and correction of nutritional status disturbances in children and adolescents. Purpose of the study. This is an analytical review of Russian and foreign literature about the assessment of youth's nutritional status formulating of modern methodical approaches in diagnostics of children's and adolescents' nutritional status. Study material and research methods. Analytical methods of processing scientific significant information about the object of study were used in a research article. A critical evaluation of various methods (somatometric, laboratory, clinical, functional) for diagnostics of nutritional status of the studied contingent was given. A design of multi-level system for assessment and correction of nutritional disorders and risk of alimentary dependent diseases was introduced. Conclusion. In spite of numerous studies of nutritional status the unsolved problems are the following: absence of unified adequate informative and easy-to-use criteria for assessment the nutritional status for different age groups; absence of software on assessment and correction of

nutritional status, taking into account age differentiation that does not allow to realize the principle of early diagnostics and modern correction of nutritional disorders.

Keywords: nutritional status, diagnostic criteria, children and adolescents, overnutrition, undernutrition, obesity, standard deviation

References

1. Aver'yanov A.P., Polyakov V.K., Bolotova N.V. Diagnostika ozhireniya u detej shkol'nogo vozrasta na osnove pokazatelej, harakterizuyushchih kolichestvo zhirovoj tkani. [Diagnostics of obesity in schoolchildren is based on the signs characterizing the amount of adipose tissue] *Voprosy detskoj dietologii [Questions of childhood's diet therapy]* 2013; (11) 1: 19-23.
2. Aleshina E.I., Novikova V.P., Komissarova M.Yu., Klikunova K.A., Voroncova L.V. Okruzhnost' zhivota u detej: sovremennye normativy i diagnosticheskoe znachenie. [Abdominal circumference in children: modern standards and diagnostic value] *Voprosy detskoj dietologii [Questions of childhood's diet therapy]* 2014; (12) 1: 33-38.
3. Davydova A.V., Logachev M.F. Aktual'nye problemy razvitiya povyshennoj massy tela i ozhireniya u detej i podrostkov. [Actual problems of increased body weight and obesity development in children and teenagers] *Detskaya bol'nica [Children's Hospital]* 2014; 1: 31-36.
4. Dedov I.I., Tyul'pakov A.N., Chekhonin V.P., Baklaushev V.P., Archakov A.I., Moshkovskij S.A. Personalizirovannaya medicina: sovremennoe sostoyanie i perspektivy. [Personalized medicine: comprehensive state and perspectives] *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk [Vestnik of Russian academy of medical sciences]* 2012; 12: 4-12.
5. Erpulyova Yu.V., Korsunskij A.A. Ocenka statusa pitaniya rebenka v praktike vracha-pediatra. [Evaluation of child's nutritional status in pediatrician's practice]. Moscow: GEHOTAR-Media [Moscow: Geotar-Media], 2016.
6. Shishkin S.V. Zdravoohranenie: sovremennoe sostoyanie i vozmozhnye scenarii razvitiya. [Health care: comprehensive state and possible development scenarios] Doklad k XVIII Aprel'skoj mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii po problemam razvitiya ehkonomiki i obshchestva (Moskva, 11–14 aprelya 2017 g.). [International scientific conference Report on economics and society development (Moscow, 11-14 April, 2017)] Moscow: Izdatel'skij dom Vysshej shkoly ehkonomiki, 2017.
7. Kartashova E.A. Ehffektivnost' personalizirovannoj terapii v ramkah terapevticheskogo sotrudnichestva pri lechenii pacientov raznogo vozrasta. [Efficiency of personalized therapy in therapeutic partnership at treatment of different ages patients] Nauka segodnya: problemy i puti resheniya. Sb. tr konferencii Vologda [Science today: problems and ways of solution. [Collection of scientific works of Vologda conference]] Vologda: 2016, p. 78-80.
8. Klinicheskie rekomendacii po diagnostike i korrekcii narushenij pishchevogo statusa. [Clinical recommendations on diagnostics and correction of nutritional status disorders] Moscow: 2013, p.45.
9. Koval'chuk V.K., Saenko A.G., Skvarnik V.V. Sravnitel'naya ocenka pishchevogo statusa gorodskih i sel'skih podrostkov v Primor'e na osnove Z-skorov. [Comparative evaluation of nutritional status of urban and rural teenagers in Seaside on Z-scores basis] *Zdorov'e. Medicinskaya ehkologiya. Nauka [Health. Medical ecology. Science]* 2014; 4 (58): 89-91.
10. Medvedev V.P., Loskucheryavaya T.D. Nervnaya anoreksiya i nervnaya bulimiya u detej i podrostkov: diagnostika i lechenie. [Anorexia nervosa and bulimia nervosa in children and teenagers: diagnostics and treatment] *Rossijskij semejnyj vrach [Russian family doctor]* 2013; (17) 1: 4-15.
11. Nikitina I.L., Todieva A.M., Karonova T.L., Budanova M.V. Ozhirenie u detej i podrostkov: osobennosti fenotipa, associaciya s komponentami metabolicheskogo sindroma. [Obesity in children and teenagers: phenotype features,

- association with components of metabolic syndrome] *Voprosy detskoj dietologii [Questions of childhood's diet therapy]* 2012; (10) 5: 23-30.
12. Ob utverzhdenii nauchnyh platform medicinskoj nauki: Prikaz Minzdrava Rossii ot 30.04.2013 № 281. [On approval of scientific platforms of medical science: Ministry of Health order of 30.04.2013 № 281].
13. Pan'kiv V.I. Ozhirenie. [Obesity] *Mezhdunarodnyj ehndokrinologicheskij zhurnal [International endocrinological journal]* 2013; 5(53): 150-156.
14. Pavlovskaya E.V., Bagaeva M.EH., Surkov A.G., Strokova T.V., Kaganov B.S. Ozhirenie u detej: kriterii diagnostiki i klinicheskie proyavleniya. [Obesity in children: diagnostic criteria and clinical manifestations] *Voprosy detskoj dietologii [International endocrinological journal]* 2012; (10)3: 18-22.
15. Polyashova A.S., Ignat'ev V.A., Karaeva A.F. Bioimpedansnyj analiz sostava tela – neot'emlemyj komponent ocenki pishchevogo statusa pri ozhireнии. Aktual'nye voprosy pitaniya naseleniya: sbornik materialov V yubilejnoy mezhtsegoional'noj nauchno-prakticheskoy konferencii PFO (Nizhnij Novgorod, 27-28 marta 2015 g.). [Bioimpedance body composition analysis is an integral component of the nutritional status evaluation in obesity. Current nutritional issues: collection of scientific works V anniversary interregional scientific practical conference PFO (Nizhnij Novgorod, 27-28 March 2015)] Nizhnij Novgorod: 2015, p. 45-47.
16. Rusakova D.S. Sravnitel'naya harakteristika metodov ocenki sostava tela i razrabotka korriruyushchej dietoterapii u pacientov s narusheniem pishchevogo statusa. [Comparative characteristic of body composition assessment methods and development of corrective diet therapy in patients with nutritional status disorders] Avtoref. diss. na soiskanie uchenoj stepeni k.m.n. [Author's abstract, PhD Thesis] Moscow: 2012.
17. Ryabichenko T.I., Skosyreva G.A., Karceva T.V. Sostoyanie reproduktivnogo zdorov'ya devochek-podrostkov s deficitom massy tela. [Reproductive health of girls-teenagers with body weight deficiency] *Vestnik NGU [Vestnik NGU]* 2011; (9)2: 44-47.
18. Safonicheva O.G., Martynchik S.A. Zadachi razvitiya nauchnoj platformy medicinskoj nauki "profilakticheskaya sreda": Tekhnologicheskie resheniya. [Tasks of development of scientific platform of medical science "preventive environment": Technological solutions] *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya [Advances in modern science]* 2015; (3): 102-106.
19. Federal'nye klinicheskie rekomendacii (protokoly) po vedeniyu detej s ehndokrinnyimi zabolevaniyami [Federal clinical guidelines (protocols) to manage a sick child with endocrine diseases] Editors I.I. Dedov, V.A. Peterkova, Moscow: Praktika, 2014.
20. Frolov S.V., Dubrovin V.V., Lyadov M.A., Potlov A.Yu., Frolova M.S., Golofeev A.A. Razvitiya programmno-apparatnyh sredstv dlya ocenki sostoyaniya zdorov'ya detej na primere kompleksa "Zdorovyj rebyonok". [Development of software and hardware for child health assessment on the example of a complex "Healthy child"] *Vrach i informacionnye tekhnologii [Doctor and information technology]* 2012; (3): 37-47.
21. Ehdleeva A.G., Homich M. M., Leonova I. A., Bogdanov V. A. Bioimpedansometriya kak metod ocenki komponentnogo sostava tela u detej starshe 5 let. [Bioimpedancemetry as a method of body composition assessment in children over 5 years old] *Detskaya medicina Severo-Zapada [Childhood medicine of north-west]* 2011; (2) 3: 30-35.
22. Cole T.J., Lobstein T. Extended international (IOTF) body mass index cut-offs for thinness, overweight and obesity. *Pediatric Obesity* 2012; 4: 284-294.
23. Corsi D.J., Subramanyam M.A., Subramanian S.V. Measuring nutritional status of children. *International Journal of Epidemiology* 2011; 40: 1030-1036.
24. Ramires E.K., de Menezes R.C., Oliveira J.C., Oliveira M.A., Temoteo T.L., Longo-Silva G., Leal V.S., Costa E.C., Asakura L. Nutritional status of children and adolescents from a town in the semiarid Northeastern Brazil. *Revista paulista de pediatria* 2014; 3: 200-207.

25. Garver W.S., Newman S.B., Gonzales-Pacheco D.M. et al. The genetics of childhood obesity and interaction with dietary macronutrients. *Genes Nutr.* 2013; 8(3): 271-287.
26. Gerbasi M.E., Becker A.E., Richards L.K., Thompson-Brenner H., Thomas J.J., Gilman S.E., Agnew-Blais J.C. Globalization and eating disorder risk: Peer influence, perceived social norms, and adolescent disordered eating in Fiji. *International Journal of Eating Disorders.* 2014; (47) 7: 727-737.
27. Mager D.R. et al. Anthropometric measures of visceral and subcutaneous fat are important in the determination of metabolic dysregulation in boys and girls at risk for nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr. Clinical Pract.* 2013; 28 (1): 101-112.
28. Manna P.K. et al. Anthropometric assessment of physical growth and nutritional status among schoolchildren of North Bengal. *Anthropologist* 2011; 13 (4): 299-305.
29. Capanzana M.V., Aguila D.V., Gironella G.M.P. Montecillo K.V. Nutritional status of children ages 0-5 and 5-10 years old in households headed by fisherfolks in the Philippines. *Archives of Public Health* 2018; (76)24: 1-8.
30. Nam E.W., Sharma B., Kim H.Y. et al. Obesity and Hypertension among School-going Adolescents in Peru. *J Lifestyle Med.* 2015; 5(2): 60-67.
31. Ozsaker M. Evaluation of BMI of secondary school students in terms of some variables. *International Journal of Human Sciences* 2012; (9)2: 276-287.
32. Piernas C., Wang D., Du S. et al. The double burden of under- and overnutrition and nutrient adequacy among Chinese preschool and school-aged children in 2009-2011. *European journal of clinical nutrition* 2015; 69(12): 1323-1329.
33. Ramachandran P., Gopalan H.S. Assessment of nutritional status in Indian preschool children using WHO 2006 Growth Standards. *Indian J Med Res* 2011; 134: 47-53.
34. Spolidoro J.V., Pitrez Filho M.L., Vargas L.T., Santana J.C., Pitrez E., Hauschild J.A. et al. Waist circumference in children and adolescents correlate with metabolic syndrome and fat deposits in young adults. *Clinical Nutrition* 2013; 32 (1): 93-100.
35. Starc G., Strel J. Is there a rationale for establishing Slovenian body mass index references of school-aged children and adolescents. *Anthropological Notebooks* 2011; 17 (3): 89-100.
36. Torun N.T., Yildiz Y., Assessment of nutritional status of 10-14 years old adolescents using Mediterranean and diet quality index (kidmed). *Procedia – Social and Behavioral Sciences* 2013; 106: 512-518.
37. Tzioumis E., Adair L.S. Childhood dual burden of under- and overnutrition in low- and middle-income countries: a critical review. *Food and nutrition bulletin* 2014; 35(2): 230-243.

Негативное влияние длительного систематического приёма алкоголя на печень крыс

Розенфельд И. И.

к.м.н., доцент, кафедра патологической физиологии

Донсков С. А.

к.с.-х.н., старший преподаватель, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии

Чиликина Д. Л.

студентка, педиатрический факультет

Акопян А. В.

студент, лечебный факультет

Кухарчук А. Н.

студентка, педиатрический факультет

Мамедсахатова Л. А.

студентка, педиатрический факультет

Пацоева Х. М.

студентка, педиатрический факультет

ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России

Автор для корреспонденции: Розенфельд Игорь Игоревич; **e-mail:** iiggo@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Экспериментальное исследование было проведено на 60 белых лабораторных крысах. Данная работа была проведена на самках крыс аутбредной популяции линии «Wistar» массой от 150 до 170 граммов и возрастом от года. Все животные были разделены на 3 исследовательские группы (по 20 особей в каждой): группа I (контрольная интактная группа), которой не давался алкоголь; группа II (первая опытная группа), в которой каждый день в течение 6 месяцев пероральным путём вводился 70% этиловый спирт в дозировке 1 мл; группа III (вторая опытная группа крыс) включала потомство от первой опытной группы после употребления алкоголя, им также каждый день в течение 6 месяцев вводился 70% этиловый спирт пероральным путём в дозировке 1 мл. Для оценки результатов животным выполнялась лапаротомия под эфирным наркозом с последующей биопсией печени и гистологической верификацией. В ходе исследований на лабораторных животных создана экспериментальная модель негативного влияния алкоголя на печень.

Ключевые слова: алкоголь, лапаротомия, белые крысы, гистологические препараты, биоптат, печень, беременность, потомство

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-57-66

Для цитирования: Розенфельд И. И., Донсков С. А., Чиликина Д. Л., Акопян А. В., Кухарчук А. Н., Мамедсахатова Л. А., Пацоева Х. М. Негативное влияние длительного систематического приёма алкоголя на печень крыс. *Медицина* 2019; 7(4): 57-66

Введение

Алкоголь (этиловый спирт; этанол; винный спирт; C_2H_5OH) – это бесцветная летучая жидкость с характерным запахом и жгучим вкусом, хорошо смешиваемая с водой [3].

Этиловый спирт широко распространен в живой природе. Малая диссоциация и очень слабая полимеризация небольших молекул этанола обуславливают его необычайную способность растворяться в воде и жирах и, следовательно, легко проходить через биологические мембраны. Данные свойства определяют его важную роль в физиологических и биохимических процессах, происходящих в организме [1].

Этанол является универсальным цитоплазматическим ядом, который разрушающе действует на все системы и органы человека. При систематическом употреблении алкоголя существенно поражаются центральная и периферическая нервная система, сердце и сосуды, почки, лёгкие, половые железы, система крови, желудочно-кишечный тракт, а также печень [5].

Выделяют две стадии воздействия алкоголя на организм. Первая – всасывание или резорбция, вторая – выведение или же элиминация. Время всасывания считается от начала приёма алкоголя до достижения его максимальной концентрации в крови. Этот период у разных людей протекает с различной скоростью, которая может варьироваться от 2 до 6 часов. Период выведения начинается лишь после того, как концентрация алкоголя в крови достигнет показателя свыше 90%. 2-10% алкоголя выделяется из организма в неизменном виде через мочу, кал, пот. Этот процесс происходит в течение 8-12 часов. Остальное количество алкоголя окисляется в организме. Таким образом, выводится он гораздо дольше, чем всасывается [2,10].

Токсическое действие экзогенного этанола на организм чрезвычайно сложно и многообразно. Окисление этанола осуществляется преимущественно в печени, где метаболизируется до 90% введённого в организм алкоголя, что приводит к изменениям этого органа [4,8]. Остальные 10% алкоголя обезвреживают другие органы [9]. Печень выполняет в человеческом организме огромное количество функций. Она играет важную роль во всех обменных процессах, выполняет детоксикационную функцию. Когда человек употребляет алкоголь, на печень возлагается обязанность окислять этиловый спирт алкоголя до ацетата альдегида, а затем до уксусной кислоты, а следующим этапом до воды и углекислого газа.

Безусловно, клетки печени очень сильно страдают от влияния алкоголя на них. Отмирая, клетки печени замещаются либо жировой тканью (развивается алкогольный стеатогепатоз), либо соединительной тканью (гепатофиброз и цирроз печени) [6,11].

Употребление алкоголя женщиной до и во время беременности ведёт к токсикозу беременности, выкидышам, преждевременным родам, внутриутробным порокам

развития ребёнка, дефициту массы плода к моменту рождения, замедлению темпов психофизического развития. Родившиеся от пьяных родителей умственно отсталые люди неизбежно дают такое же потомство [7].

Целью настоящего исследования явилось выявление закономерности влияния алкоголя на печень крыс и их потомство, которых длительно поили этиловым спиртом, а также изучение гистологических препаратов, которые позволяют визуализировать и оценить структурные изменения печени.

Материалы и методы

Все эксперименты на лабораторных животных были выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверждёнными приказом Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12.08.1977 года, и основываясь на положениях Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации от 1964 года, дополненной в 1975, 1983, 1989 и 2000 годы.

Экспериментальные манипуляции выполнялись в соответствии с международными рекомендациями по использованию животных в биологических и медицинских исследованиях (1986), методическими рекомендациями «Деонтология медико-биологического эксперимента» (1987). Условия содержания и кормления экспериментальных животных осуществляли в соответствии «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник», утвержденным приказами Минздрава СССР № 1045 от 06.04.1973 года, № 1179 от 10.10.1983 года. Все животные содержались в стандартных условиях вивария с учётом требований к работе с экспериментальными животными. Выведение животных из эксперимента осуществляли в соответствии с Приказом № 742 от 13.11.1984 года «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Исследовательская работа проводилась на базе экспериментальной лаборатории вивария и гистологической лаборатории кафедры гистологии ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России.

Экспериментальное исследование проводилось на самках половозрелых белых лабораторных крысах линии «Wistar».

В опыте использовались животные с массой тела от 150 до 170 граммов.

В исследовании было использовано 60 белых лабораторных крыс. В работе использовались половозрелые самки возрастом от года. Все животные были разделены на следующие 3 исследовательские группы (по 20 особей в каждой).

Группа I (контрольная интактная группа) – крысы с обычным рационом питания, где алкоголь не использовался. Рацион питания в этой группе применялся на основе приказа от 10.03.1966 года № 163 Министерства здравоохранения СССР «О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов».

Группа II (первая опытная группа) – беременные животные, которым каждый день в течение 6 месяцев пероральным путём вводился 70% этиловый спирт в дозировке 1 мл. Дозировка алкоголя была рассчитана на среднюю массу крысы.

Группа III (вторая опытная группа) – взрослое потомство от первой опытной группы крыс, которым также каждый день в течение 6 месяцев вводился 70% этиловый спирт пероральным путём в дозировке 1 мл.

Спустя 8 месяцев каждой крысе из трёх групп была проведена лапаротомия под ингаляционным этиловым эфирным наркозом с целью взятия биопсии печени для последующего гистологического исследования.

Накануне дня операции животных мыли, операционное поле тщательно выбривалось и закрывалось повязкой. Перед операцией катетеризацией опорожнялся мочевого пузырь.

Животных фиксировали в спинном положении с несколько приподнятой задней половиной туловища, что позволяло отеснить к диафрагме органы брюшной полости, предотвратить выпирание кишечника в рану и тем самым создать большую свободу движений оперирующему хирургу.

Клиновидной резекцией интраоперационным путём получали биоптат печени.

Иссечённые участки печени фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина, после чего проводили их в изопропиловом спирте с добавлением спирта «IsoPrep» (абсолютизированный изопропанол в концентрации не ниже 99,7% – ТритонХ15 – октилфеноксиполиэтоксиганол) и заливали в гомогенизированную парафиновую среду «HISTOMIX», формируя блоки. Из парафиновых блоков изготавливали серийные гистотопографические препараты толщиной 5-6 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином.

Кроме вышеуказанной методики применяли гистохимическую окраску по Вейгерту – Ван Гизону с помощью набора готовых красителей производства итальянской фирмы «Bio-Optica Milano SPA». Применение указанных гистологических окрасок относится к числу

интегрированных методов выявления эластических волокон, коллагена и ядер клеток соединительной ткани.

При изучении микроскопических препаратов оценивали динамику развития воспалительной реакции в тканях печени, формирование рубца и особенности репаративной регенерации.

Микроскопическое исследование, а также фоторегистрацию проводили на едином аппаратном комплексе, который включал в себя: исследовательский тринокулярный микроскоп «Nikon Eclipse 50i»; цифровую фотокамеру «Nikon DS-Fi 2»; персональный компьютер, работающий под управлением операционной системы «Windows 7»; специализированные морфометрические программы «NIS-Elements» и «Bio Vision Professional».

При статистической обработке для корректного определения меры центральной тенденции и рассеяния осуществлялась проверка выборки на нормальность распределения с использованием средств автоматизации расчётов «MS Excel» и «VBA». Поскольку переменные выборки имели ненормальный характер распределения, то мерой центральной тенденции и рассеяния явилась медиана, верхний и нижний квартили. Для оценки одинакового признака в трёх независимых группах использовался непараметрический ранговый критерий Крускала-Уоллиса. При этом если выявлялось различие между исследуемыми группами (отвергалась нулевая гипотеза), то дополнительно при помощи непараметрического рангового Q-критерия Данна определялось, между какими именно попарными группами (I-II; I-III; II-III) есть достоверные статистически значимые различия. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

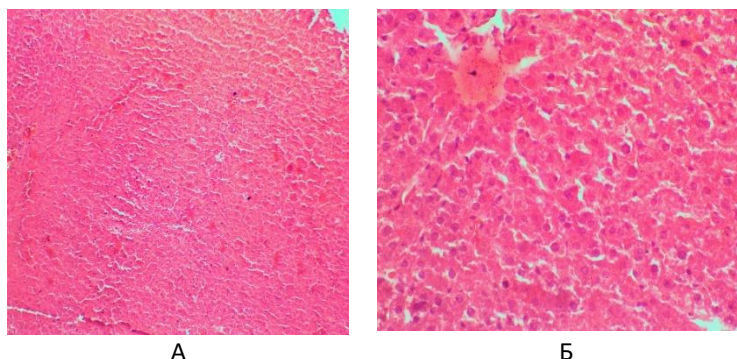
Гистологические препараты контрольной группы крыс (группа I) окрашивали гематоксилином и эозином, толщина среза составила 5-6 микрон. Было установлено классическое строение печени с чётко просматривающимися триадами и центральными венами. В пространствах Диссе были обнаружены единичные эритроциты. Микроструктура печени в группе I соответствовала норме, какой-либо патологии не отмечалось (рисунок 1).

В контрольной группе крыс окраска препаратов также осуществлялась по Вейгерту – Ван Гизону, которая предназначена для выявления коллагеновых (красный цвет) и эластических (от красных до коричневых) волокон. Соединительная ткань была развита слабо, в пространствах Диссе также отмечались единичные эритроциты, что соответствовало норме (рисунок 2).

В ткани печени крыс первой опытной группы (группа II) были обнаружены множественные очаги кровоизлияний, а также жировые включения в гепатоцитах.

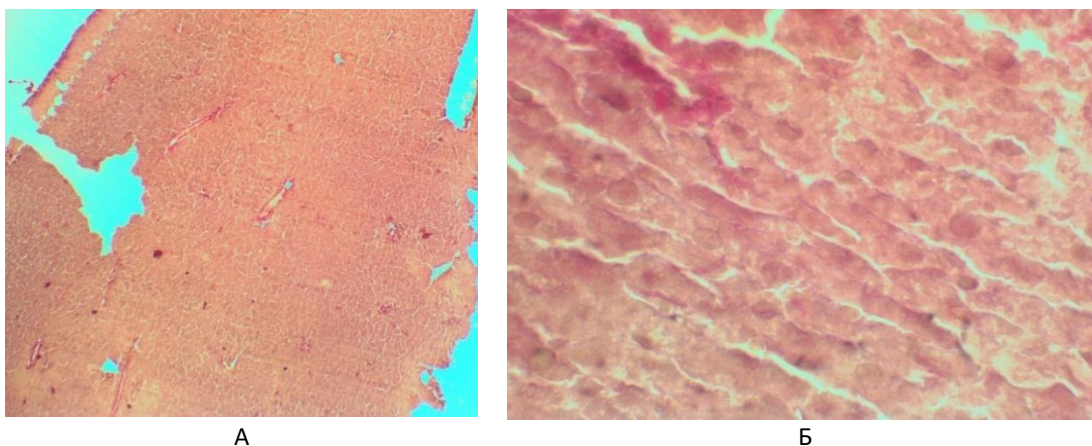
Центральные вены были расширены, в просветах вен были обнаружены эритроциты и единичные нейтрофилы (рисунок 3).

Рис. 1. Гистологические препараты печени контрольной группы крыс (группа I)



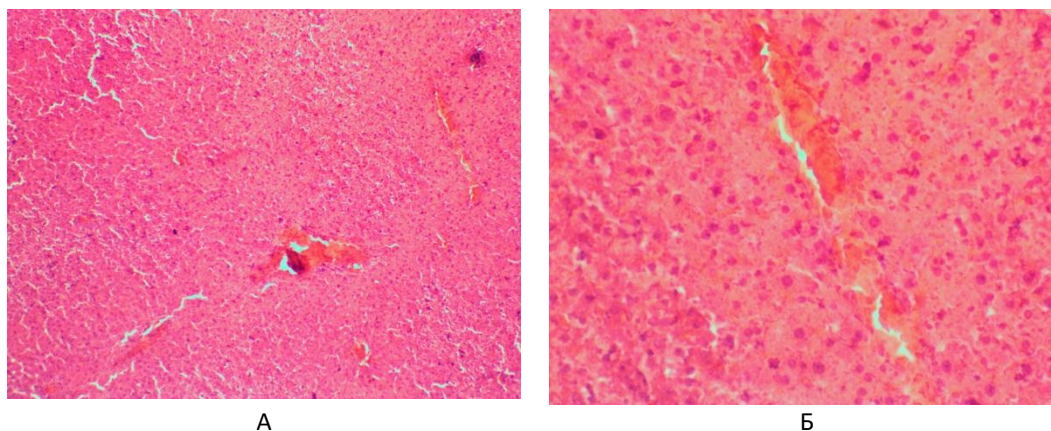
- А) Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 10х0,45).
В) Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 40х0,45).

Рис. 2. Выявление коллагеновых волокон в печени контрольной группы крыс (группа I) при окраске по Вейгерту – Ван Гизону



- А) Увеличение 10х0,45.
Б) Увеличение 40х0,45.

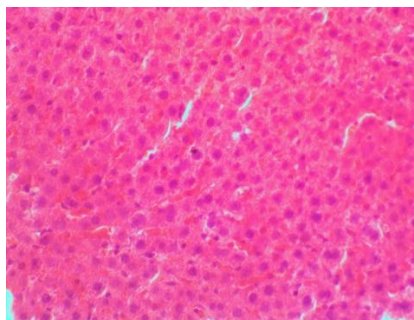
Рис. 3. Гистологические препараты печени первой опытной группы крыс (группа II), окрашенные гематоксилином и эозином



- А) В центральной зоне визуализируются локальные очаги лейкоцитарной инфильтрации. В пространствах Диссе видны столбики эритроцитов (увеличение 4х0,45).
Б) В центральной зоне также визуализируются локальные очаги лейкоцитарной инфильтрации (увеличение 10х0,45).

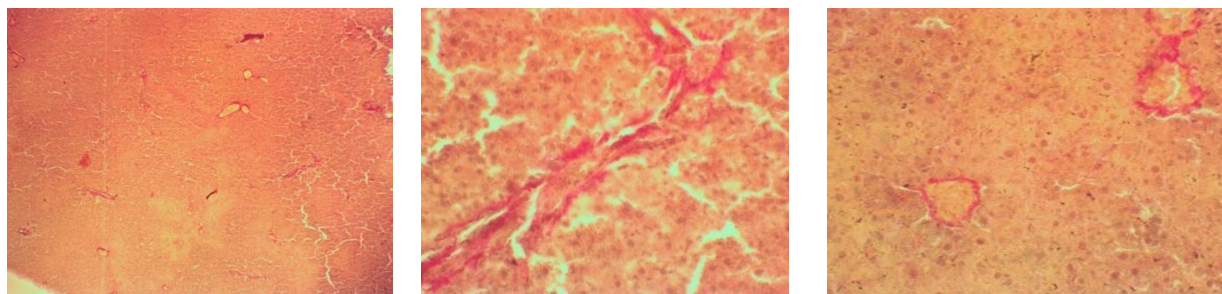
В ткани печени второй опытной группы крыс (группа III) были видны очаги более выраженных массивных кровоизлияний, единичные гепатоциты находились в состоянии некроза, отмечалась воспалительно-клеточная инфильтрация портальных трактов нейтрофилами (рисунок 4).

Рис. 4. Гистологические препараты печени второй опытной группы крыс (группа III), окрашенные гематоксилином и эозином. Увеличение 40×0,45.



При окраске по Вейгерту – Ван Гизону в группе III наблюдалось разрастание соединительной ткани с формированием фиброза печени. При этом у этой группы после взятия биопсии наблюдалось кровотечение более 1,5 минут, которое в других группах моментально останавливалось (рисунок 5).

Рис. 5. Гистологические препараты печени второй опытной группы крыс (группа III), окрашенные по Вейгерту – Ван Гизону



А

Б

В

А) Наличие очагов инфильтрации светло-жёлтого цвета, а также стаза крови в сосудах (увеличение 4×0,45).

Б) Увеличение 40×0,45.

В) Стаз форменных элементов крови в сосудах (увеличение 40×0,45).

Заключение

Экспериментальным путём доказано негативное влияние систематического употребления алкоголя на печень крыс.

Кроме того, доказано ещё более пагубное влияние этанола в тех же дозировках на печень крыс, которые появились от алкоголизированных до этого беременных животных.

Таким образом, выявлена генетическая предрасположенность, которая приводит к ещё более выраженной патологии печени в тех же дозировках этилового спирта по сравнению с крысами, получающими этанол, и которые были рождены не от алкоголизированных самок.

Созданная экспериментальная модель на лабораторных животных может быть использована для сравнительной оценки употребления алкоголя женщинами во время беременности, а полученные при этом результаты будут максимально приближены к таковым в клинических условиях.

Список литературы

1. Альтшулер В.Б. Алкоголизм. М.: Геотар-медиа, 2010.
2. Егоров А.Ю., Шайдукова Л.К. Современные особенности алкоголизма у женщин: возрастной аспект. 2005. 105 с.
3. Кириенко А.И., Шулутко А.М., Семиков В.И., Андрияшкин В.В. Хирургические болезни: учебно-методическое пособие. М.: Геотар-медиа, 2011. 497 с.
4. Марков В.К. Вредные привычки. М.: АСТ, 2010. 360 с.
5. Мухин Н.А., Моисеев В.С. *Пропедевтика внутренних болезней: учебник. 2-е изд., доп. и перераб.* М.: Геотар-медиа, 2011. 254 с.
6. Немцов А.В. Алкоголизм в России: история вопроса, современные тенденции. *Журнал неврологии и психиатрии имени С. Корсакова*. 2008; 2: 25-77.
7. Реутов О.А., Курц А.Л., Бутин К.П. Органическая химия. 3-е изд. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2010. 344 с.
8. Рослый И.М. Алкоголизм. Крах белкового обмена. М.: Медицинское информационное агентство, 2013. 128 с.
9. Северин С.Е. Биологическая химия с упражнениями и задачами. М.: Геотар-медиа, 2011. 624 с.
10. Семёнов Б.С., Виденин В.Н., Вошевоз А.Т. Оперативная хирургия у животных. М.: 2012. 423 с.
11. Шабанов П.Д. Наркология. М.: 2013. 107 с.

The Negative Effect of Long-Term Systematic Alcohol Intake on Rat Liver

Rozenfeld I. I.

MD, PhD, Assistant Professor, Chair for Pathological Physiology

Donskov S. A.

PhD (Agriculture), Senior Lecturer, Chair for Histology, Embryology and Cytology

Chilikina D. L.

Student, Faculty of Pediatrics

Akopyan A. V.

Student, Therapeutic Faculty

Kukharchuk A. N.

Faculty of Pediatrics

Mamedsahatova L. A.

Student, Faculty of Pediatrics

Pasoeva H. M.

Student, Faculty of Pediatrics

Tver State Medical University, Tver, Russian Federation

Corresponding Author: Rozenfeld Igor; **e-mail:** iiggo@mail.ru

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Abstract

An experimental study was conducted on 60 white laboratory rats. This work was carried out on female rats of the out-bred population of the "Wistar" line weighing from 150 to 170 grams and the age of one year. All animals were divided into the following 3 research groups (20 animals each): group I (control intact group), which was not given alcohol; group II (the first experimental group), in which 70% ethyl alcohol was administered orally every day for 6 months at a dosage of 1 ml; group III (the second experimental group of rats) included offspring from the first experimental group after drinking alcohol; they also received 70% ethyl alcohol by oral route for 6 months every day at a dosage of 1 ml. To assess the results, the animals underwent laparotomy under ether anesthesia with subsequent liver biopsy and histological verification. In the course of research on laboratory animals, an experimental model of the negative effect of alcohol on the liver was created.

Keywords: alcohol, laparotomy, white rats, histological preparations, biopsy, liver, pregnancy, offspring

References

1. Al'tshuler V.B. Alkogolizm [Alcoholism] Moscow: Geotar-media, 2010. (In Russ.)
2. Egorov A.Yu., Shajdukova L.K. Sovremennye osobennosti alkogolizma u zhenshchin: vozrastnoj aspekt [Modern features of alcoholism in women: age aspect]. 2005. (In Russ.)
3. Kirienko A.I., Shulutko A.M., Semikov V.I., Andriyashkin V.V. Hirurgicheskie bolezni: uchebno-metodicheskoye. posobie [Surgical diseases: Teaching Aid]. Moscow: Geotar-med, 2011. (In Russ.)
4. Markov V.K. Vrednye privychki [Pernicious habits]. Moskva: AST, 2010. (In Russ.)
5. Muhin N.A., Moiseev V.S. Propedevtika vnutrennih boleznej: uchebnik. 2-e izd., dop. i pererab. [Propedeutics of internal diseases: textbook]. Moscow: Geotar-media, 2015. (In Russ.)

6. Nemcov A.V. "Alkogolizm v Rossii: istoriya voprosa, sovremennye tendencii [Alcoholism in Russia: background, current trends]." *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S. Korsakova*, no. 2 (2008): 25-77. (In Russ.)
7. Reutov O.A., Kurts A.L., Butin K.P. *Organicheskaya himiya*. 3-e izd. [Organic chemistry]. Moscow: Binom. Knowledge laboratory, 2010. (In Russ.)
8. Roslyj I.M. *Alkogolizm. Krah belkovogo obmena* [Alcoholism. The collapse of protein metabolism]. Medical news Agency-Moscow, 2013. (In Russ.)
9. Severin S.E. *Biologicheskaya himiya s uprazhneniyami i zadachami* [Biological chemistry with exercises and tasks]. Moscow: Geotar-media, 2011. (In Russ.)
10. Semyonov B.S., Videnin V.N., Voshchevoz A.T. *Operativnaya hirurgiya u zhivotnyh* [Operative surgery in animals], 2012. (In Russ.)
11. Shabanov P.D. *Narkologiya* [Narcology]. Moscow, 2013. (In Russ.)

Особенности внегастроинтестинальных проявлений хеликобактерной инфекции

Мартусевич А. К.¹

д.б.н., руководитель, лаборатория медицинской биофизики Университетской клиники

Шульгина Е. М.²

ассистент, кафедра госпитальной терапии

Симонова Ж. Г.²

д.м.н., доцент, профессор, кафедра госпитальной терапии

1 – ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

2 – ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, Киров, Россия

Автор для корреспонденции: Мартусевич Андрей Кимович; **e-mail:** cryst-mart@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Цель обзора: систематизировать современные представления о некоторых внегастроинтестинальных проявлениях хеликобактерной инфекции, имеющих иммунно-метаболическую природу. На основании анализа данных литературы расширено понятие «континну́м хеликобактерной инфекции», ранее включавшее преимущественно гастроинтестинальные проявления хеликобактериоза. Показано многообразие функциональных и органических нарушений, возникающих в результате наличия данной инфекции. Раскрыты доказанные и потенциальные механизмы развития *Helicobacter*-ассоциированной патологии, систематизированной по принципу выделения поражаемых органов и систем. Подчеркнута превалирующая роль иммунных и метаболических нарушений в патогенезе большинства рассматриваемых патологических состояний. Таким образом, *Helicobacter pylori*-инфекция, классический представитель «терапевтических инфекций», традиционно рассматриваемая как причина патологии гастродуоденальной зоны, в последнее время приобретает черты полиморфного заболевания с множественными клиническими масками и гетерогенными механизмами реализации патологических эффектов, подчас образующими порочные круги и обнаруживающими синергетическое действие.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, хеликобактериоз, внегастроинтестинальные проявления, терапевтические инфекции

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-67-86

Для цитирования: Мартусевич А. К., Шульгина Е. М., Симонова Ж. Г. Особенности внегастроинтестинальных проявлений хеликобактерной инфекции. *Медицина* 2019; 7(4): 67-86

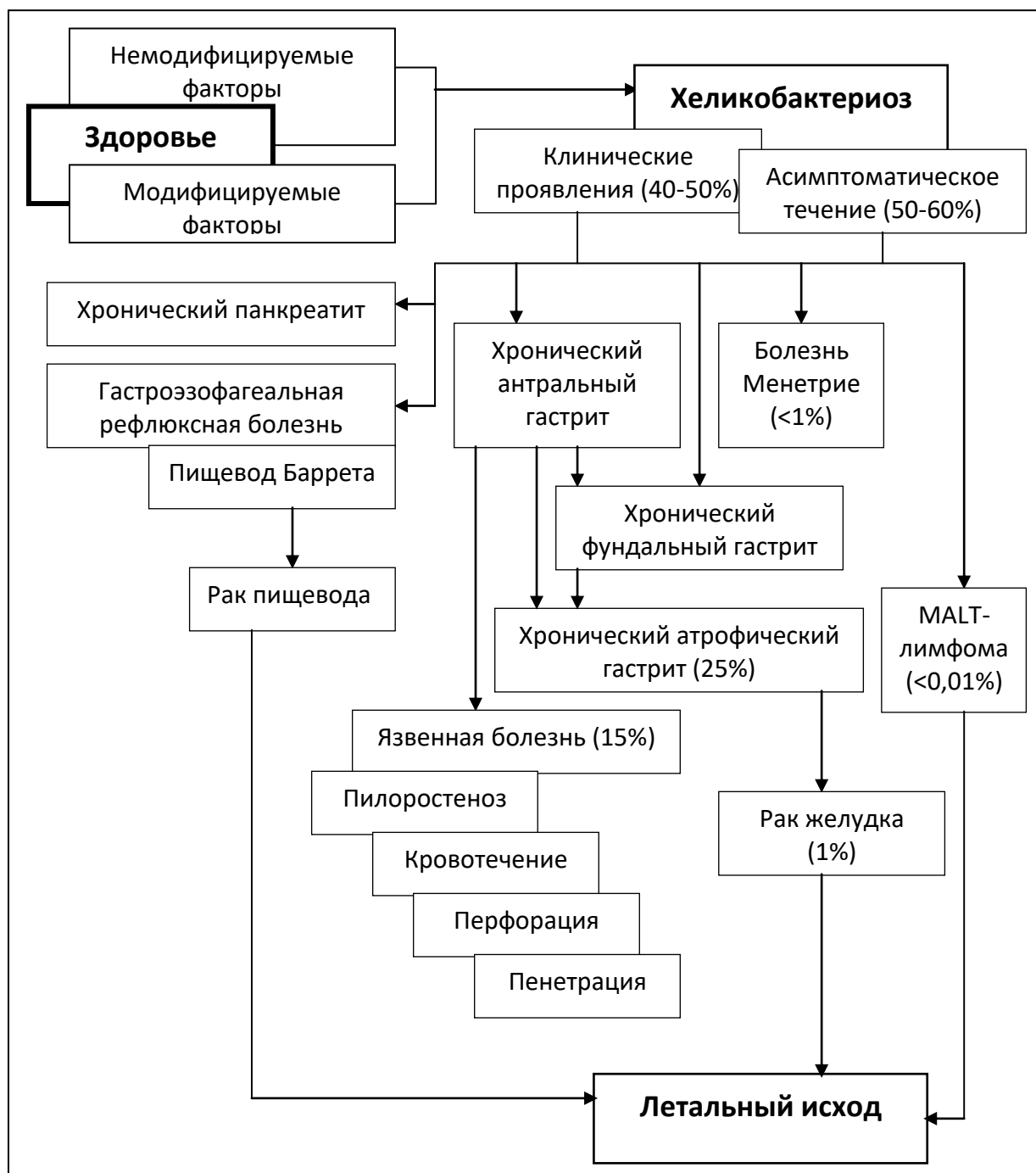
*«...тот, кто ищет простые ответы на вопрос, каким образом *H. pylori* вызывает развитие различных *H. pylori*-ассоциированных заболеваний, несомненно, будет разочарован: сложность этой проблемы, вероятно, старше даже, чем само человечество»*

Blaser M. J., 1999

В настоящее время наметилась четкая тенденция к изучению внепищеварительных проявлений хеликобактерной инфекции, которые обнаружены у относительно многих систем организма [14,25,26,66]. В условиях, когда, подобно интегративному подходу в

патологии сердечно-сосудистой системы, все изменения, происходящие внутри пищеварительного тракта, объединены в континуум хеликобактерной инфекции (рис. 1), особый интерес вызывает вопрос о включении в него функциональных и морфоструктурных сдвигов, обнаруживаемых вне желудочно-кишечного тракта. В соответствии с данными М.Б. Щербиной (2005), континуум хеликобактерной инфекции образован лишь последовательными гастроинтестинальными патологическими процессами в желудочно-кишечном тракте [30].

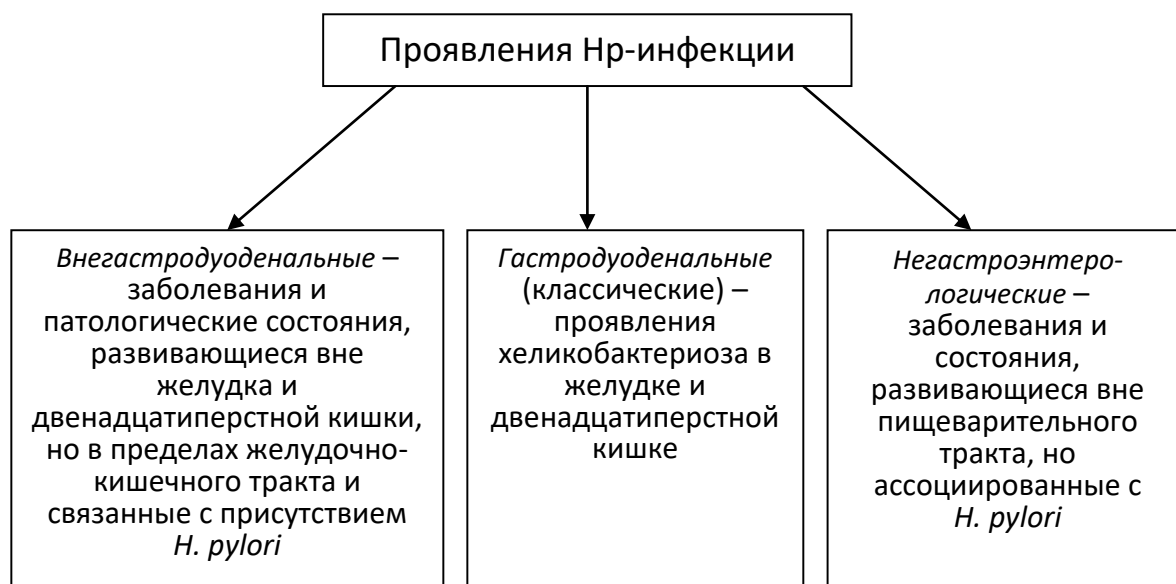
Рис. 1. Схема континуума хеликобактерной инфекции [30]



Основным принципом построения данной схемы является поэтапная эволюция нарушений деятельности системы пищеварения от минимальных к максимальным (от функциональных к морфологическим, от компенсированных к декомпенсированным). Кроме того, формирование континуума хеликобактерной инфекции невозможно без соответствующего фонового состояния организма, обеспечивающего условия для контаминации слизистой гастродуоденальной зоны *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Именно результат данного взаимодействия определяет дальнейшее течение хеликобактериоза и развивающуюся у конкретного пациента клиническую форму патологии пищеварительного тракта либо других систем.

Важно, что участие двух основных параметров, детерминирующих результат рассматриваемого взаимодействия (вирулентности штамма *H. pylori* и резистентности макроорганизма), приводит к формированию либо заболевания, либо асимптомного течения (носительства). Это, в частности, подтверждают данные о присутствии *H. pylori* у более чем половины населения Земли, а в России – у более чем 80% [1], однако распространенность *H. pylori*-ассоциированной патологии на порядок ниже. Сущность этого феномена до конца не изучена и по сей день, но относительно микроорганизма в качестве причины предполагается его штаммовая генетическая неоднородность, в частности, по CagA+, CagE+, VacAs1+, VacAm1+, BabA2+ – генам и культуральным свойствам [1,36,43,62]. В целом, *H. pylori* обладает большим количеством генетически детерминированных факторов патогенности [10,14].

Рис. 2. Классификация проявлений хеликобактерной инфекции



Со стороны организма хозяина развитию определенной патологии гастродуоденальной зоны способствует особый фенотип («язвенный», «раковый» – по P. Sipponen [59,60]), а

также характер секреторной деятельности желудка и генетическая предрасположенность [52].

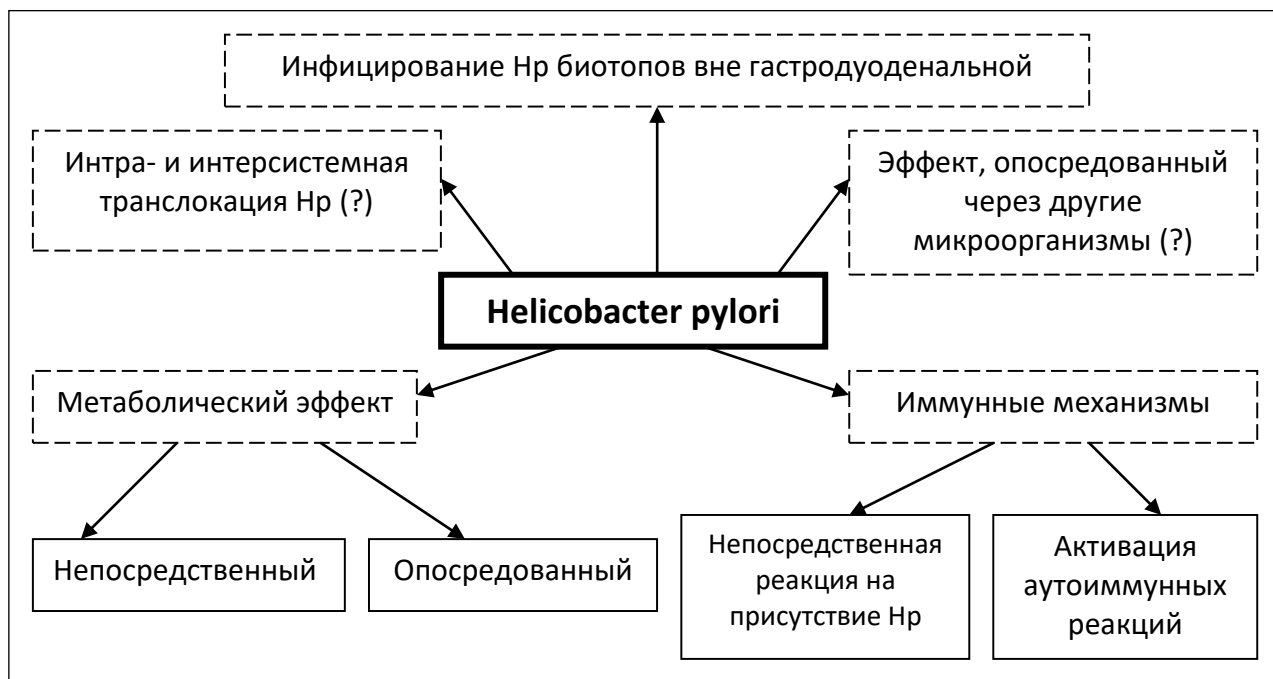
Кроме традиционных представлений о *H. pylori* как одном из наиболее значимых этиологических факторов хронической патологии среднего отдела желудочно-кишечного тракта [1,10,14,66], в последние несколько лет появляются сообщения о роли данного микроорганизма в развитии патогенетически различных заболеваний [9,25,28,34]. В соответствии с этим, можно выделить 3 основных группы *H. pylori*-ассоциированных заболеваний человека (рис. 2).

Установлено, что присутствие *H. pylori* является фактором риска развития многих, патогенетически не связанных между собой заболеваний. Наиболее хорошо изученными являются метаболическое и иммунное действие *H. pylori*. Так, в литературе выделяется непосредственный метаболический эффект, когда патогенез связан с прямым воздействием продуктов обмена веществ бактерии (например, активных форм кислорода) на слизистый барьер желудка и двенадцатиперстной кишки, а также стенку данных органов. Кроме того, возможен также опосредованный метаболический эффект, предположительно осуществляющийся с участием вторичных передатчиков. Он был косвенно показан, в частности, по согласованности сдвигов кристаллогенных свойств биосубстратов желудочно-кишечного тракта и других систем организма при *H. pylori*-ассоциированной патологии [17-19]. Однако показано, что «интенсивность» данного информационно-метаболического сигнала снижается при его передаче из пищеварительной в другие системы.

Значительный патогенетический и диагностический интерес представляет реакция системы иммунитета на присутствие *H. pylori* в слизистой оболочке гастродуоденальной зоны (рис. 3). В настоящее время в алгоритме верификации хеликобактериоза прочное место заняли методы, основанные на регистрации иммунного ответа организма хозяина на микроорганизм (чаще всего по установлению антител класса IgG) [31,49,54,55]. Это указывает на участие иммунного компонента в патогенезе хеликобактер-ассоциированной патологии как внутри, так и вне пищеварительного тракта. Особое значение в этом плане имеют данные, касающиеся нарушений в функционировании большинства звеньев иммунной системы при контаминации слизистой гастродуоденальной зоны *H. pylori*. Так, изменения иммунитета при клинически манифестировавшей и «немой» *H. pylori*-инфекции отмечаются многими авторами [32,33,39,49]. Кроме того, приводятся сведения о дефектах местного иммунитета у таких пациентов, причем эта реакция связана с инфильтрацией слизистой оболочки желудка иммунокомпетентными клетками с активацией цитокиновой системы [32,42,46,49], что способствует постепенному развитию хронического воспаления. Однако необходимо признать, что в формировании и характере иммунного ответа значительная роль отведена и состоянию самой слизистой желудка [8,27]. Впоследствии достаточно глубокая инвазия в слизистую микроорганизма совместно с результатами активации местного и общего иммунитета предохраняет *H. pylori* от элиминации путем действия внутрижелудочных

защитных механизмов (соляная кислота, пепсин и т. д.), чем предупреждается спонтанное излечение от Нр [27,35,63].

Рис. 3. Доказанные и потенциальные механизмы развития экстрагастродуоденальных проявлений хеликобактериоза



Представляют интерес также данные о более высоком уровне активации иммунитета при подтвержденной *H. pylori*-инфекции у пациентов-детей с отсутствием клинической манифестации заболевания желудочно-кишечного тракта, чем при его наличии, что может свидетельствовать о формировании аутоиммунных нарушений, становящихся в дальнейшем фоном для развития внегастроинтестинальных заболеваний [33-36]. В то же время большинством исследователей упускается момент запуска *H. pylori* аутоиммунных реакций, что находит проявление в патологии различных органов и систем (поджелудочной железы, прежде всего по ее инкреторной деятельности; кожи; возникновения системных заболеваний соединительной ткани; нарушений состава периферической крови и т.д.). Так, С.В. Бельмером с соавт. (2004) описана цепь патогенетических механизмов, приводящая к параллельному развитию сахарного диабета 1 типа и хронического атрофического гастрита [5]. Кроме того, автором подчеркивается значимость генотипа организма хозяина в развитии аутоиммунного процесса вследствие особенностей цитокинового профиля.

Особый аспект вопроса о формировании экстрагастродуоденальной патологии при хеликобактерной инфекции лежит в плоскости взаимодействия изучаемого микроорганизма с естественной микробиотой организма человека в различных биотопах [3,10,19,47,49,55]. Предпосылкой к такому рассмотрению проблемы послужил целый ряд работ последних лет, в которых обращалось внимание на повышенную частоту

встречаемости дисбиотических явлений кишечной микрофлоры при колонизации слизистой оболочки желудка *H. pylori* [4,8,10]. Однако характер, природа и значимость этого феномена на данный момент дискуссионны. Предполагается, что *H. pylori* преобразует естественную микробиоту таким образом, что она приобретает патологические черты (по качественным и количественным параметрам), но этот процесс описан лишь в отношении микроорганизмов, локализующихся в просвете пищеварительного тракта. Данные об особенностях взаимодействия *H. pylori* и микроорганизмов в других биотопах отсутствуют.

В настоящее время широко обсуждается характер взаимоотношений между *H. pylori* и дрожжеподобными грибами. Было обнаружено, что при колонизации слизистой гастродуоденальной зоны изучаемой бактерией имеет место повышенная выявляемость в желудочной слизи грибов [47], но преемственность и причина их совместного присутствия пока не установлены. Так, В.Б. Гриневичем с соавт. (2004) высказывается предположение о существовании общих предрасполагающих факторов к попаданию и дальнейшему освоению *H. pylori* и грибами гастродуоденальной зоны. В то же время Л.Б. Лазебник с соавт. (2005) выдвигают тезис об антагонизме *H. pylori* и дрожжеподобных грибов, обосновывая его наличием у изучаемого микроорганизма фунгицидных свойств (вследствие стимуляции секреции соляной кислоты, активации воспалительной реакции в слизистой оболочке желудка, а также синтеза высокоселективного фунгицидного вещества – рибосомального протеина L1, способствующего нарушению структуры мембран грибковой клетки, заканчивающегося лизисом последней [47]). В отношении других микроорганизмов взаимосвязь может быть дополнительно обусловлена сопровождающими *H. pylori*-инфекцию изменениями секреторно-моторной деятельности желудочно-кишечного тракта, что, в свою очередь, приводит к дисмоторике кишечника, а, следовательно, и к нарушениям качественно-количественного состава его микрофлоры.

Кроме того, в литературе практически отсутствуют упоминания о вторичной патогенетической роли *H. pylori*, реализуемой через воздействие на естественную микробиоту организма, участвующую в регуляции всех видов обменных процессов организма хозяина (метаболизма углеводов, белков, липидов, нуклеиновых кислот, электролитов, печеночно-кишечной рециркуляции желчных кислот, стероидов и других макромолекул). Показана возможность кишечной микрофлоры синтезировать биологически активные вещества (летучие жирные кислоты, витамины, гормоны, токсины, антибиотики и т. д.), а также ее роль в обеспечении детоксикации и антимуtagenной защите макроорганизма.

Нормальная микрофлора способствует адекватному становлению и развитию иммунной системы и механизмов неспецифической резистентности [5,30]. Все вышеперечисленное обосновывает возможность *H. pylori* косвенно влиять на развитие интра- и экстрагастродуоденальной патологии.

Таблица 1. Основные группы экстрагастроудоденальных заболеваний, механизм развития которых связан с возможным участием *H. pylori* [3]

Сосудистые заболевания	Аутоиммунные болезни и синдромы	Кожные болезни	Другие заболевания
1. Атеросклероз 2. Ишемическая болезнь сердца 3. Синдром (феномен) Рейно	1. <i>Органо-специфические заболевания</i> – аутоиммунный тиреоидит, тиреоидит Хашимото 2. <i>Органо-неспецифические заболевания</i> – тромбоцитопеническая пурпура, коллагеновые болезни (ревматоидный артрит) 3. <i>Аутоиммунные болезни промежуточного типа</i> – синдром Шегрена 4. <i>Цирроз печени</i>	1. Атопический дерматит 2. Кожный зуд 3. Крапивница 4. Розовые угри 5. Псориаз 6. Хроническая и узловатая почесуха 7. Красный плоский лишай 8. Дерматиты 9. Эритродермия	1. Хронический бронхит 2. Болезнь Паркинсона 3. Сахарный диабет 4. Железодефицитная анемия 5. Увеит 6. Глаукома 7. Головная боль, мигрень 8. Целиакия 9. Хроническая почечная недостаточность 10. Аневризма аорты 11. Неукротимая рвота беременных 12. Бесплодие 13. Пищевая аллергия 14. Очаговая аллопеция 15. Задержка роста 16. Позднее менархе 17. Синдром внезапной детской смерти 18. Отсутствие аппетита при старении 19. Печеночная энцефалопатия

Одним из потенциальных механизмов, способствующих возникновению негастроэнтерологических проявлений хеликобактериоза, может явиться феномен транслокации бактерий [10]. Перемещение *H. pylori* через кишечную стенку позволило бы по-иному трактовать некоторые внепищеварительные заболевания, развитие которых связывается с присутствием данного микроорганизма (например, сердечно-сосудистой патологии), однако эта гипотеза требует тщательной проверки на большом экспериментальном и клиническом материале.

Итак, наличие многочисленных механизмов, обеспечивающих плеотропное действие *H. pylori* позволяет рассматриваемому микроорганизму вызывать широкий спектр внегастроудоденальных проявлений. При этом большинство представленных в литературе данных об экстрагастроудоденальной патологии, ассоциированной с хеликобактериозом, посвящено исследованию группы заболеваний или даже отдельной нозологической формы [7,12,13,21,23,24,27,36,44,57]. Попытки классификации связанных с микроорганизмом внепищеварительных нарушений единичны [3,5,56]. Наиболее полной является классификация Бардахчян Э.А. с соавт. (2005) [3], в соответствии с

которой все заболевания подразделяются на сосудистые, аутоиммунные, кожные и прочие (табл. 1).

В целях более подробной систематизации присутствующего в литературе описания внегастроуденальных проявлений *H. pylori*-инфекции был проведен анализ заболеваний по основным системам организма.

H. pylori и сердечно-сосудистая система. Влиянию *H. pylori* на сердце и сосуды посвящено достаточно большое количество работ, однако в них подчас высказываются диаметрально противоположные мнения. Так, о повышенном риске развития и прогрессирования ишемической болезни сердца (до 2 раз) свидетельствуют исследования R. Pellicano с соавт. (1999), выполненные на обширном клиническом материале (более 2300 обследуемых в возрасте 25-64 года, соотношение мужчин и женщин примерно 1:1) [56]. При этом другие масштабные работы не позволили обнаружить достоверной связи между инфицированием *H. pylori* и риском ИБС [7,13,26,41,45,54].

Кроме того, в литературе встречаются сведения, косвенно указывающие на влияние рассматриваемого микроорганизма на прогноз больных с ишемией миокарда. Так, приводятся данные о выраженном и достоверном повышении уровня антихеликобактерных IgG у лиц, погибших от заболеваний сердца (151 нг/мл), по сравнению с выжившими после острого коронарного инцидента (88 нг/мл; $p=0,034$), а также у обоих вышеперечисленных клинических групп с уровнем практически здоровых людей (58 нг/мл; $p=0,039$) [31]. При этом повышенный риск развития ИБС также может быть связан с CagA-генотипом *H. pylori* [40,50,51,63].

Конкретный механизм или совокупность механизмов воздействия *H. pylori* на сердечно-сосудистую систему в настоящий момент не установлены, но предполагается, что в этом процессе может играть роль повышение фибриногена, гомоцистеина, триглицеридов, снижения уровня холестерина липопротеидов высокой плотности, сопровождаемое возможными перекрестными иммунологическими реакциями на белки человека и бактерий [49], однако эта точка зрения дискуссионна [56]. Приводятся результаты, указывающие на связь степени сужения коронарных сосудов, каротидного стеноза с инфицированием *H. pylori* [50]. По данным P. Whincup с соавт. (1996), инфицирование пилорическим хеликобактером отмечено не только у 70% больных с инфарктом миокарда, но и у 68% пациентов с инсультом, что свидетельствует о наличии общего сосудистого механизма реализации этого патогенетического эффекта [64]. Существуют также сведения об участии аутоиммунного компонента с агрессией против эндотелиальных клеток [45,51,53,57,63], при этом в качестве лимитирующего фактора предполагается синтез анти-CagA антител, которые могут непосредственно взаимодействовать с белками сосудистой стенки [21,46].

Определенный интерес представляют данные R. Pellicano с соавт. (2000) [56], доказывающие, что в эксперименте на мышах *H. pylori* обладает способностью вызывать внутрисосудистую агрегацию, на основании чего предполагается их участие в развитии острой фазы инфаркта миокарда [3], однако является спорным вопрос о возможности попадания микроорганизма в коронарные артерии.

В целом имеет место многогранный механизм действия *H. pylori* на кардиоваскулярную систему, включающий в себя, прежде всего, метаболическое и иммунное звено, а также потенциально – ряд непосредственных эффектов микроорганизма.

Роль H. pylori в развитии аутоиммунных болезней и синдромов. В зависимости от характера аутоиммунизации Э.А. Бардахчян с соавт. (2005) выделяют четыре типа заболеваний (табл. 1) [3].

Первая группа включает органоспецифические заболевания, возникновение которых ассоциировано с присутствием инфекции и хронического воспаления. На основе этого формируются иммунологические реакции в виде гиперчувствительности замедленного типа. Наиболее часто из данной группы выявляется тиреоидит Хашимото в сочетании с аутоиммунным гастритом, что связывается исследователями с синтезом антител к поверхностным антигенам тиреоцитов и тиреоглобулину, определенную роль играет и перекрестное реагирование антител, вырабатывающихся к CagA-позитивным штаммам *H. pylori*, с фолликулярными клетками щитовидной железы [39].

Вторая группа образована органонеспецифической аутоиммунной патологией, развивающейся при нарушении контроля иммунологического гомеостаза вследствие генетических факторов, вирусной или бактериальной инфекции и др. Морфологические изменения в органах и тканях соответствуют реакциям гиперчувствительности немедленного или замедленного типа. В качестве наиболее часто обнаруживаемых заболеваний второй группы отмечаются сочетанные с *H. pylori*-инфекцией тромбоцитопеническая пурпура и ревматоидный артрит [48,67]. Считается, что одним из наиболее значимых механизмов формирования этих нарушений является молекулярная мимикрия, связанная с наличием CagA. В дальнейшем связь между контаминацией слизистой оболочки желудка *H. pylori* и иммунной тромбоцитопенической пурпурой была убедительно доказана в обзорах M.A. Donald, S. Roberto (2008); R. Sato et al. (2008) и R. Stasi et al. (2009) [37,58,61]. Важность диагностики и лечения хеликобактериоза у данного контингента пациентов подтверждена указанными авторами на основании результатов проведенной адекватной эрадикации микроорганизма. В дальнейшем необходимость данного мероприятия у рассматриваемой категории больных была закреплена в тексте соглашения «Маастрихт-3» [48].

В **третью группу**, представляющую собой аутоиммунные процессы промежуточного типа, включен синдром Шегрена, связанный с хроническим гепатитом В и С [29]. **Четвертая группа** на данный момент образована циррозом печени, который более правильно

следует трактовать не как аутоиммунное заболевание, а как патологию с аутоиммунными нарушениями.

Итак, инфицирование *H. pylori* является существенным фактором, оказывающим иммуномодулирующее действие, а также способным вызывать многообразные иммунологические нарушения.

Кожные болезни и H. pylori. Наличие дерматологических нарушений при хеликобактерной инфекции также обусловлено иммунопатологическими реакциями. В частности, описана роль *H. pylori* в провокации атопического дерматита у детей [5,22] и взрослых [24]. При этом сопоставление *H. pylori*-позитивных и негативных форм заболевания указывает на существенное утяжеление клинического течения патологии при наличии данного микроорганизма [24]. Приводятся сведения относительно значимости изучаемой бактерии в формировании рефрактерного к комплексной традиционной терапии хронического кожного зуда и хронической крапивницы [11,33], однако последнее утверждение в настоящий момент дискуссионно и обсуждается отдельными специалистами [22]. Кроме того, в качестве одного из главных внежелудочных проявлений хронического хеликобактерного гастрита являются розовые угри, возникновение которых ассоциируется с нарастанием в плазме крови ФНО- α и ИЛ-8 [22,23]. Для купирования данного дерматологического синдрома сейчас находит применение семидневная тройная терапия, включающая омепразол, кларитромицин и метронидазол, на основании чего получены благоприятные клинические результаты [24]. Устанавливается связь между *H. pylori*-инфекцией и группой заболеваний кожи, таких как псориаз, хроническая и узловатая чесотка, красный плоский лишай, некоторые дерматиты и эритродермии [5,23].

H. pylori и сахарный диабет. Большинство исследователей разделяет точку зрения, что бактерия играет определенную роль в эволюции сахарного диабета типа 1. Так, при анализе выявляемости антихеликобактерных антител класса IgG они обнаружены у 55,6% больных детей, тогда как в популяции здоровых лиц они встречаются только у 30,9% ($p < 0,01$) [31]. Исходя из имеющихся данных можно сделать вывод о том, что *H. pylori* способен усугублять течение сахарного диабета [6]. Кроме того, наличие у пациента диабета может стать условием для колонизации микроорганизмом слизистой оболочки гастродуоденальной зоны. С другой стороны, одним из наиболее значимых эффектов микроорганизма является его способность приводить к аутоиммунизации, в том числе и по отношению к поджелудочной железе, чем замыкается порочный круг патогенеза, обеспечивающего взаимное поддержание и усугубление сахарного диабета и *H. pylori*-инфекции.

Потенциальная роль H. pylori в развитии заболеваний почек. Рассмотренное выше взаимодействие микроорганизма и сахарного диабета типа 1, в частности, связано с особенностями интерлейкинового статуса (прежде всего, ИЛ-1b). В то же время указывается на значимость ИЛ-1b в развитии и прогрессировании диабетической

нефропатии [4,44], однако С.В. Бельмером с соавт. (2004) подчеркивается практически полное отсутствие информации, объясняющей причину этого феномена [5].

Интерес представляют данные, касающиеся обнаружения *H. pylori* при хронической почечной недостаточности (ХПН) [4]. Так, в терминальной стадии ХПН в желудочном соке регистрируется повышенная концентрация мочевины, что косвенно свидетельствует о присутствии в слизистой оболочке желудка *H. pylori*. При этом имеет место угнетение *H. pylori* при хроническом системном гемодиализе и после трансплантации почки, что демонстрирует достоверно меньшая частота его обнаружения в вышеуказанных случаях по сравнению с лицами с нормальной почечной функцией [44]. Обращает на себя внимание тот факт, что на додиализном периоде частота *H. pylori*-ассоциированных эрозивно-язвенных поражений верхних отделов желудочно-кишечного тракта составляет всего 18%, а после любого вида заместительной терапии она достоверно нарастает, достигая 50-58% [4]. Возможно, это связано со снижением иммунологической резистентности организма при гемодиализе.

Прочая патология. Спектр заболеваний, относительно которых дискутируется роль *H. pylori*, достаточно широк, и включает очаговую алопецию, задержку роста, позднее менархе, синдром внезапной детской смерти (синдром ночного апноэ), отсутствие аппетита при старении, печеночную энцефалопатию и так далее (табл. 1). Кроме того, *H. pylori* может оказаться причастным к развитию болезни Паркинсона, а также болезни Бехтерева [65]. В отношении патогенеза рассматриваемых состояний предполагается опосредованное метаболическое действие *H. pylori*. В качестве казуистических наблюдений в литературе описана связь хеликобактериоза с заболеваниями органа зрения. В частности, приводится случай рецидивирующего увеита в ребенка 14 лет, в гастробиоптатах которого была обнаружена бактерия. После проведения адекватной эрадикационной терапии исчезновение *H. pylori* сопровождалось регрессом увеита. Также обсуждается причастность микроорганизма к возникновению глаукомы, прежде всего открытоугольной, в основе развития которой предполагается участие аутоиммунного и метаболического компонента, активации апоптоза [43,62]. Показано, что у инфицированных *H. pylori* девочек в пубертатный период выявляется задержка полового созревания по отношению к неинфицированным (средний рост 163,4 см против 165,2 см; $p=0,023$).

Также имеются веские доказательства участия *H. pylori* в патогенезе железодефицитной анемии [2,48], причем эта зависимость показана как у взрослых пациентов, так и у детей [15] и подростков [16].

В целом, характеризуя современное состояние вопроса, следует отметить, что наиболее значимым из последних принятых согласительных документов по диагностике и лечению хеликобактериоза является «Маастрихт-3» [48]. В нем, в частности, указывается, что в настоящее время только в случаях аутоиммунной тромбоцитопении и эссенциальной железодефицитной анемии (в отсутствие выявленного источника хронической

кровопотери) необходимо тестирование на наличие инфекции *Helicobacter pylori* и при ее обнаружении – проведение эрадикации. Что же касается всех других заболеваний этой группы (в том числе и дерматологической патологии), то, как отметило согласительное совещание, пока нет убедительных данных об их связи с инфекцией *H. pylori*.

Итак, *H. pylori*-инфекция, классический представитель «терапевтических инфекций» (по Е.И. Ткаченко), традиционно рассматривающаяся как причина патологии гастродуоденальной зоны, в последнее время приобретает черты полиморфного заболевания с множественными клиническими проявлениями и гетерогенными механизмами реализации патологических эффектов, подчас образующими порочные круги и обнаруживающими синергетическое действие. Дискуссия об истинной роли *Helicobacter pylori* продолжается до настоящего времени, так как окончательно не установлено, является ли данный микроорганизм инициатором, триггером или просто свидетелем разнообразных патологических изменений в различных органах.

Список литературы

1. Аруин Л.И. *Helicobacter pylori*: каким образом один возбудитель вызывает разные болезни. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология* 2004; (1): 36-41.
2. Бабак О.Я., Зелёная И.И. Хеликобактерная инфекция и железодефицит. Современное состояние проблемы. *Сучасна гастроентерологія* 2005; (6): 82-85.
3. Бардахчян Э.А. с соавт. Роль *Helicobacter pylori* при развитии экстрагастродуоденальных заболеваний. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология* 2005; (3): 20-27.
4. Бевзенко А.Ю., Корнюков Г.В., Евсеев А.Н. Состояние слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки у больных с терминальной хронической почечной недостаточностью. Профилактика и лечение предраковых заболеваний желудочно-кишечного тракта. Хабаровск. 2004: 15-22.
5. Бельмер С.В., Гасилина Т.В., Аль Хатиб М. *Helicobacter pylori* и аллергия. *Лечащий врач* 2004; (4): 21-24.
6. Бурков С.Г., Бурдина Е.Г. Инфекция *Helicobacter pylori* с позиции практического врача. *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии* 2003; (5): 16-20.
7. Васильев Ю.В. Кислотозависимые заболевания ЖКТ и ишемическая болезнь сердца. *Лечащий врач* 2006; (1): 50-55.
8. Дудаева Н.Г., Гречушников В.Б., Бугаева И.О., Тарасова Г.Н., Головачева Т.В. Иммунологические и морфологические аспекты диагностики инфекции *Helicobacter pylori* и вирусов семейства Herpesviridae. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2010; 6 (2): 361-364.
9. Исаева Г.Ш. Возможное участие бактерий рода *Helicobacter* в патогенезе гепатобилиарных заболеваний. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии* 2008; 18 (4): 14-22.
10. Исаков В.А., Домарадский И.В. Хеликобактериоз. М.: Медпрактика, 2003. 412 с.
11. Карельская И.А., Игнатъев В.К. Инфекция *Helicobacter pylori* у больных с хронической крапивницей и бронхиальной астмой. *Клиническая медицина* 2005; (3): 58-61.

12. Катаев С.С., Лебедев С.П., Голованова О.Ю. с соавт. *Campylobacter pylori* у больных циррозом печени различной этиологии. *Архив патологии* 1990; (10): 45-49.
13. Козич С.В., Колесник П.О., Албок Є.Й. Ішемічна хвороба серця та *helicobacter pylori*. *Сімейна медицина* 2007; (2): 66-69.
14. Кориненко Е.А. Инфекция *Helicobacter pylori* у детей. М.: 2011. 272 с.
15. Корниенко Е.А. Внежелудочные проявления инфекции *Helicobacter pylori* у детей. *Consilium medicum* 2009; (1): 4-7.
16. Куликов А.М. Анемии у подростков. *Terra Medica Nova* 2009; (3): 20-23.
17. Мартусевич А. К., Колеватых Е. П. Внутри- и межсистемные метаболические трансформации кристаллообразования биосубстратов у пациентов с Нр-ассоциированными заболеваниями. *Альманах клинической медицины* 2006; 14: 54-58.
18. Мартусевич А.К., Колеватых Е.П. Кристаллоскопическая картина биожидкостей при язвенной болезни. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология* 2006; (6): 35-40.
19. Мартусевич А.К., Зимин Ю.В. Роль физико-химических процессов в системе "микроорганизм – человек". *Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова* 2008; (3): 112-115.
20. Павлов О.Н. Носительство *Helicobacter pylori* как скрытый системный фактор риска. *Медицинский альманах* 2011; (4): 125-130.
21. Передерий В.Г., Безюк Н.Н., Чернов А.Ю. Существует ли связь между хронической инфекцией *H. pylori* и вегетососудистыми расстройствами у больных с функциональной диспепсией. *Сучасна гастроентерологія* 2004; (2): 15-18.
22. Ревякина В.А. Атопия и атопические заболевания у детей. *Consilium medicum* 2001; (4): 188-190.
23. Синицин М.В. Атопический дерматит и геликобактерная инфекция. Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. Саратов, 1998. 24 с.
24. Соколова Т.В., Ахметов И.И., Тарарак Т.Я. с соавт. Влияние на течение атопического дерматита у взрослых инфекции *Helicobacter pylori* и схемы ее эрадикации. *Consilium medicum* 2004; (1, Прил.): 3-6.
25. Фадеенко Г.Д. *Helicobacter pylori* и внегастральные проявления. *Український терапевтичний журнал* 2004; (2): 95-99.
26. Фарбер А.В., Зарубина И.Г., Андропова О.В. Инфекция *Helicobacter pylori*, атеросклероз и ишемическая болезнь сердца. *Российский кардиологический журнал* 2003; (3): 69-71.
27. Хардинова С.А., Непомнящих Г.И., Айдагулова С.В. с соавт. Ультраструктурная характеристика клеточных популяций в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки при псориазе. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2002; (11): 568-573.
28. Циммерман Я.С. *Helicobacter pylori*-инфекция: внежелудочные эффекты и заболевания (критический анализ). *Клиническая медицина* 2006; (4): 63-67.
29. Чернецова О.В., Лопаткина Т.Н., Воробьева А.А. с соавт. Клинико-морфологическая характеристика синдрома Шегрена при хроническом гепатите В и С. *Российский гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии* 2004; (2): 40-45.

30. Щербинина М.Б. Континуум хеликобактерной инфекции как научное обоснование принятия клинических решений. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология* 2005; (4): 20-26.
31. Altannavch Ts. et al. Serological markers of Chl. pneumoniae, cytomegalovirus and H. pylori infection in diabetic and non-diabetic patients with unstable angina pectoris. *Cent. Eur. J. Public Health* 2003; 11 (2): 102-106.
32. Andrié R.P. et al. Impact of intimal pathogen burden in acute coronary syndromes--correlation with inflammation, thrombosis, and autoimmunity. *Cardiovasc. Pathol.* 2010; 19 (6): e205-e210.
33. Bakos N., Hillander M. Comparison of chronic autoimmune urticaria with chronic idiopathic urticaria. *Int. J. Dermatol.* 2003; 42 (8): 613-615.
34. Blaser M.J. Allelic variation in Helicobacter pylori. Progress but no panacea. *Gut* 1999; 45: 477-479.
35. Brandt S. et al. Use of a novel coinfection system reveals a role for Rac1, H-Ras, and CrkII phosphorylation in Helicobacter pylori-induced host cell actin cytoskeletal rearrangements. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2007; 50: 190-205.
36. Diomedi M. et al. CagA-positive Helicobacter pylori strains may influence the natural history of atherosclerotic stroke. *Neurology* 2004; 63 (5): 800-804.
37. Donald M.A., Roberto S. Does Helicobacter pylori Eradication Therapy Result in a Platelet Count Improvement in Adults with Immune Thrombocytopenic Purpura Regardless of H pylori Infection? ASH Evidence-based Review 2008. *Hematology* 2008; 1: 31.
38. Fagoonee S. et al. Potential link between Helicobacter pylori and ischemic heart disease: does the bacterium elicit thrombosis? *Minerva Med.* 2010; 101 (2): 121-125.
39. Figura N. et al. The infection by Helicobacter pylori strains expressing CagA is highly prevalent in women with autoimmune thyroid disorders. *J. Physiol. Pharmacol.* 1999; 50 (5): 817-826.
40. Franceschi F. et al. CagA antigen of Helicobacter pylori and coronary instability: insight from a clinico-pathological study and a meta-analysis of 4241 cases. *Atherosclerosis* 2009; 202 (2): 535-542.
41. Franceschi F. et al. Helicobacter pylori and atherosclerosis. A review of the literature. *Recenti Prog. Med.* 2009; 100 (2): 91-96.
42. Huang X.-W. et al. Helicobacter pylori induces mitochondrial DNA mutation and reactive oxygen species level in AGS cells. *Int. J. Med. Sci.* 2011; 8 (1): 56-67.
43. Jones N.L. et al. Helicobacter pylori induces gastric epithelial cell apoptosis in association with increased Fas receptor expression. *Infect. Immun.* 1999; 67 (8): 4237-4242.
44. Korzonek M. et al. Is it necessary to treat Helicobacter pylori infection in patients with end-stage renal failure and in renal transplant recipients? *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2004; 111 (3): 297-304.
45. Lanza G.A. et al. Assessment of systemic inflammation and infective pathogen burden in patients with cardiac syndrome X. *Am. J. Cardiol.* 2004; 94 (1): 40-44.
46. Leach S.T. et al. S100 calgranulin proteins S100A8, S100A9 and S100A12 are expressed in the inflamed gastric mucosa of Helicobacter pylori-infected children. *Can. J. Gastroenterol.* 2008; 22 (5): 461-464.
47. Lee D.G. et al. HP (2-20) derived from the amino terminal region of helicobacter pylori ribosomal protein L1 exerts its antifungal effects by damaging the plasma membranes of Candida albicans. *J. Pept. Sci.* 2002; 8 (8): 453-460.

48. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-781.
49. Mayr M. et al. Infections, immunity, and atherosclerosis: associations of antibodies to *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, and cytomegalovirus with immune reactions to heat-shock protein 60 and carotid or femoral atherosclerosis. *Circulation* 2000; 102 (8): 833-839.
50. Mendall M.A. et al. Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Br. Heart J.* 1994; 71 (5): 437-439.
51. Miyazaki M. et al. Is *Helicobacter pylori* infection a risk factor for acute coronary syndromes? *J. Infect.* 2006; 52 (2): 86-91.
52. Nogueira C. et al. *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. *Am. J. Pathol.* 2001; 158 (2): 647-654.
53. Oshima T. et al. Association of *Helicobacter pylori* infection with systemic inflammation and endothelial dysfunction in healthy male subjects. *J. Am. Coll. Card.* 2005; 45: 1219-1222.
54. Ozdogru I. et al. The relationship between *Helicobacter pylori* IgG titre and coronary atherosclerosis. *Acta Cardiol.* 2007; 62 (5): 501-505.
55. Patel P. et al. Association of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *Br. Med. J.* 1995; 311: 711-714.
56. Pellicano R. et al. *Helicobacter pylori*: from the stomach to the heart. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1999; 11 (11): 1335-1337.
57. Rasmi Y., Raeisi S. Possible role of *Helicobacter pylori* infection via microvascular dysfunction in cardiac syndrome X. *Cardiol. J.* 2009; 16 (6): 585-587.
58. Sato R. et al. Effect of *Helicobacter pylori* Eradication on Platelet Recovery in Patients with Chronic Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Arch. Intern. Med.* 2008; 164: 1904-1907.
59. Sipponen P. Gastric cancer: pathogenesis, risks, and prevention. *J. Gastroenterol.* 2002; 37 (Suppl. 13): 39-44.
60. Sipponen P., Price A.B. The Sydney System for classification of gastritis 20 years ago. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2011; 26 (Suppl. 1): 31-34.
61. Stasi R. et al. Effects of eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with immune thrombocytopenic purpura: a systematic review. *Blood* 2009; 113 (6): 1231-1240.
62. Umreda M. et al. *Helicobacter pylori* CagA causes mitotic impairment and induces chromosomal instability. *J. Biol. Chem.* 2009; 284 (33): 22166-22172.
63. Weydig C. et al. CagA-independent disruption of adherence junction complexes involves E-cadherin shedding and implies multiple steps in *Helicobacter pylori* pathogenicity. *Exp. Cell Res.* 2007; 313 (16): 3459-3471.
64. Whincup P.H. et al. Prospective relations between *Helicobacter pylori* infection, coronary heart disease, and stroke in middle aged men. *Heart* 1996; 75 (6): 568-572.
65. Wlodarek D. et al. *Helicobacter pylori* infection and its influence on Parkinson disease. *Pol. Merkur. Lekarski* 2003; 15 (89): 428-431.
66. Yakovenko E. et al. The state of gastro-esophageal mucous and *Helicobacter pylori* infection in patients with cholelithiasis. *Helicobacter* 2006; 11: 415.

67. Zentilin P. et al. Can Helicobacter pylori infection be a risk factor for the severity of rheumatoid arthritis? *Recenti Prog. Med.* 2000; 91 (4): 175-180.

Features of Extragastrointestinal Signs of Helicobacter Pylori Infection

Martusevich A. K.¹

Doctor of Biology, Head, Laboratory of Medical Biophysics, University Hospital

Shulgina E. M.²

Assistant, Chair for Hospital Therapy

Simonova Zh. G.²

Doctor of Medicine, Professor, Chair for Hospital Therapy

1 – Volga Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

2 – Kirov State Medical University, Kirov, Russia

Corresponding Author: Martusevich Andrew; **e-mail:** cryst-mart@yandex.ru

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Abstract

The purpose of the review was to systematize modern views on some extra-gastrointestinal manifestations of Helicobacter pylori infection, having the immune-metabolic nature. Based on the analysis of the literature data, the concept of "continuum of Helicobacter pylori infection", previously including mainly gastrointestinal manifestations of Helicobacter pylori, was expanded. The variety of functional and organic disorders resulting from the presence of this infection is shown. Proven and potential mechanisms of Helicobacter-associated pathology development, systematized according to the principle of the affected organs and systems isolation, are revealed. The predominant role of immune and metabolic disorders in the pathogenesis of most of the considered pathological conditions is emphasized. Thus, Helicobacter pylori-infection, a classic example of "therapeutic infections", traditionally considered as the cause of the pathology of the gastroduodenal zone, has recently acquired features of a polymorphic disease with multiple clinical masks and heterogeneous mechanisms for the implementation of pathological effects, sometimes forming vicious circles and revealing a synergistic effect.

Keywords: Helicobacter pylori, extragastrointestinal signs, therapeutic infections

References

1. Aruin L.I. Helicobacter pylori: kakim obrazom odin vozbuditel' vyzivaet raznye bolezni. [Helicobacter pylori: how one pathogen causes different diseases]. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya [Experimental and clinical gastroenterology]* 2004; (1): 36-41. (In Russ.)
2. Babak O.Ya., Zelyonaya I.I. Helikobakter'naya infekciya i zhelezodeficit. Sovremennoe sostoyanie problemy [Helicobacter infection and iron deficiency. Current state of the problem]. *Suchasna gastroenterologi [The modern gastroenterology]* 2005; (6): 82-85.
3. Bardahch'yan E.A. et al. Rol' Helicobacter pylori pri razvitii ekstragastroduodenal'nyh zabolevanij [The role of Helicobacter pylori in the development of extra-gastroduodenal diseases]. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya [Experimental and clinical gastroenterology]* 2005; (3): 20-27. (In Russ.)
4. Bevzenko A.Yu., Korniyukov G.V., Evseev A.N. Sostoyanie slizistoj obolochki zheludka i dvenadcatiperstnoj kishki u bol'nyh s terminal'noj hronicheskoy pochechnoj nedostatochnost'yu [Condition of gastric and duodenal mucosa

in patients with terminal chronic renal failure]. Profilaktika i lechenie predrakovykh zabolevanij zheludochno-kishechnogo trakta [Prevention and treatment of precancerous diseases of the gastrointestinal tract]. Khabarovsk. 2004: 15-22. (In Russ.)

5. Bel'mer S.V., Gasilina T.V., Al' Hatib M. Helicobacter pylori i allergiya [Helicobacter pylori and Allergy]. *Lechashchij vrach [Practitioner]* 2004; (4): 21-24. (In Russ.)

6. Burkov S.G., Burdina E.G. Infekciya Helicobacter pylori s pozicii prakticheskogo vracha [Helicobacter pylori infection from the position of a practical doctor]. *Klinicheskie perspektivy gastroenterologii, gepatologii [Clinical perspectives in gastroenterology and hepatology]* 2003; (5): 16-20. (In Russ.)

7. Vasil'ev Yu.V. Kislotozavisimye zabolevaniya ZHKI i ishemicheskaya bolezni' serdca [Acid-dependent gastrointestinal diseases and coronary heart disease]. *Lechashchij vrach [Practitioner]* 2006; (1): 50-55. (In Russ.)

8. Dudaeva N.G., Grechushnikov V.B., Bugaeva I.O., Tarasova G.N., Golovacheva T.V. Immunologicheskie i morfologicheskie aspekty diagnostiki infekcii Helicobacter pylori i virusov semeystva Herpesviridae [Immunological and morphological aspects of diagnosis of Helicobacter pylori infection and Herpesviridae family viruses]. *Saratovskij nauchno-meditsinskij zhurnal [Saratov scientific medical journal]* 2010; 6 (2): 361-364. (In Russ.)

9. Isaeva G.SH. Vozmozhnoe uchastie bakterij roda Helicobacter v patogeneze gepatobiliarnykh zabolevanij [Possible participation of bacteria of the genus Helicobacter in the pathogenesis of hepatobiliary diseases]. *Rossiyskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii [Russian journal of gastroenterology, hepatology and coloproctology]* 2008; 18 (4): 14-22. (In Russ.)

10. Isakov V.A., Domaradskij I.V. Helikobakterioz [Helicobacteriosis]. Moscow, 2003. 412 p. (In Russ.)

11. Karel'skaya I.A., Ignat'ev V.K. Infekciya Helicobacter pylori u bol'nykh s hronicheskoy krapivnicей i bronhial'noj astmoy [Helicobacter pylori infection in patients with chronic urticaria and bronchial asthma]. *Klinicheskaya medicina [Clinical medicine]* 2005; (3): 58-61. (In Russ.)

12. Kataev S.S., Lebedev S.P., Golovanova O.Yu. et al. Campylobacter pylori u bol'nykh cirrozom pecheni razlichnoj etiologii [Campylobacter pylori in patients with liver cirrhosis of different etiology]. *Arhiv patologii [Pathology archiv]* 1990; (10): 45-49. (In Russ.)

13. Kozich S.V., Kolesnik P.O., Albok E.J. Ishemichna hvoroba serdca ta helikobakter pylori [Coronary heart disease and helicobacter pylori]. *Simejna medicina [Family medicine]* 2007; (2): 66-69. (In Russ.)

14. Korinenko E.A. Infekciya Helicobacter pylori u detej [Helicobacter pylori infection in children]. Moscow, 2011. (In Russ.)

15. Kornienko E.A. Vnezheludochnye proyavleniya infekcii Helicobacter pylori u detej [Extragastic manifestations of Helicobacter pylori infection in children]. *Consilium medicum* 2009; (1): 4-7. (In Russ.)

16. Klikov A.M. Anemii u podrostkov [Anemia in adolescents]. *Terra Medica Nova* 2009; (3): 20-23. (In Russ.)

17. Martusevich A. K., Kolevatykh E. P. Vnutri- i mezhsistemnye metabolicheskie transformacii kristalloobrazovaniya biosubstratov u pacientov s Hp-associirovannyimi zabolevaniyami [Intra- and inter-system metabolic transformation of crystal formation of biological substrates took place in patients with Hp-associated diseases]. *Al'manah klinicheskoy mediciny [Almanac of clinical medicine]* 2006; 14: 54-58. (In Russ.)

18. Martusevich A.K., Kolevatykh E.P. Kristalloskopicheskaya kartina biozhidkostej pri yazvennoj bolezni [Crystalloscopic picture of biological fluids in peptic ulcer disease]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya [Experimental and clinical gastroenterology]* 2006; (6): 35-40. (In Russ.)

19. Martusevich A.K., Zimin Yu.V. Rol' fiziko-himicheskikh processov v sisteme "mikroorganizm – chelovek" [The role of physical and chemical processes in the "microorganism – human being" system]. *Vestnik Sankt-Peterburgskoj*

gosudarstvennoj medicinskoj akademii im. I. I. Mechnikova [Bulletin of the St. Petersburg state medical Academy named after I.I. Mechnikov] 2008; (3): 112-115. (In Russ.)

20. Pavlov O.N. Nositel'stvo *Helicobacter pylori* kak skrytyj sistemnyj faktor riska [Carriage of *Helicobacter pylori* as a latent systemic risk factor]. *Medicinskij al'manah [Medical almanac] 2011; (4): 125-130. (In Russ.)*

21. Perederij V.G., Bezyuk N.N., Chernov A.Yu. Sushchestvuet li svyaz' mezhdru hronicheskoy infekciej *N. pylori* i vegetosudistymi rasstrojstvami u bol'nyh s funkcional'noj dispepsiej [Is there a link between chronic h infection? *pylori* and vascular disorders in patients with functional dyspepsia]. *Suchasna gastroenterologi [The modern gastroenterology] 2004; (2): 15-18. (In Russ.)*

22. Revyakina V.A. Atopiya i atopicheskie zabolevaniya u detej [Atopy and atopic diseases in children]. *Consilium medicum 2001; (4): 188-190. (In Russ.)*

23. Sinicin M.V. Atopicheskij dermatit i gelikobakter'naya infekciya [Atopic dermatitis and *H. pylori* infection]. Author's abstract, PhD Thesis. Saratov, 1998. 24 p. (In Russ.)

24. Sokolova T.V., Ahmetov I.I., Tararak T.Ya. et al. Vliyanie na techenie atopicheskogo dermatita u vzroslyh infekcii *Helicobacter pylori* i skhemy ee eradikacii [Effect of *Helicobacter pylori* infection and its eradication scheme on the course of atopic dermatitis in adults]. *Consilium medicum 2004; (1, Suppl.): 3-6. (In Russ.)*

25. Fadeenko G.D. *Helicobacter pylori* i vnegastral'nye proyavleniya [Helicobacter pylori and extra-gastral manifestations]. *Ukrains'kij terapevtichnij zhurnal [Ukrainian therapeutic journal] 2004; (2): 95-99. (In Russ.)*

26. Farber A.V., Zarubina I.G., Andropova O.V. Infekciya *Helicobacter pylori*, ateroskleroz i ishemicheskaya bolezni serdca [Helicobacter pylori infection, atherosclerosis and coronary heart disease]. *Rossiiskij kardiologicheskij zhurnal [Russian journal of cardiology] 2003; (3): 69-71. (In Russ.)*

27. Hardikova S.A., Nepomnyashchih G.I., Ajdagulova S.V. et al. Ul'trastrukturnaya harakteristika kletochnyh populyacij v slizistoj obolochke zheludka i dvenadcatiperstnoj kishki pri psoriaze [Ultrastructural characteristics of cell populations in gastric and duodenal mucosa in psoriasis]. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny [Bulletin of experimental biology and medicine]. 2002; (11): 568-573. (In Russ.)*

28. Cimmerman Ya.S. *Helicobacter pylori*-infekciya: vnezheludochnye efekty i zabolevaniya (kriticheskij analiz) [Helicobacter pylori-infection: extracellular effects and diseases (critical analysis)]. *Klinicheskaya medicina [Clinical medicine] 2006; (4): 63-67. (In Russ.)*

29. Chernecova O.V., Lopatkina T.N., Vorob'eva A.A. et al. Kliniko-morfologicheskaya harakteristika sindroma Shegrena pri hronicheskim gepatite B i C [Chernetsova O. V., Lopatkina T. N., Vorobyova A. with et al. Clinical and morphological characteristics of Sjogren's syndrome in chronic hepatitis B and C]. *Rossiiskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii [Russian journal of gastroenterology, hepatology and coloproctology] 2004; (2): 40-45. (In Russ.)*

30. Shcherbinina M.B. Kontinuum helikobakternoj infekcii kak nauchnoe obosnovanie prinyatiya klinicheskikh reshenij [Continuum of *Helicobacter pylori* infection as a scientific basis for clinical decision-making]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya [Experimental and clinical gastroenterology] 2005; (4): 20-26. (In Russ.)*

31. Altannavch Ts. et al. Serological markers of *Chl. pneumoniae*, cytomegalovirus and *H. pylori* infection in diabetic and non-diabetic patients with unstable angina pectoris. *Cent. Eur. J. Public Health 2003; 11 (2): 102-106.*

32. Andrié R.P. et al. Impact of intimal pathogen burden in acute coronary syndromes--correlation with inflammation, thrombosis, and autoimmunity. *Cardiovasc. Pathol. 2010; 19 (6): e205-e210.*

33. Bakos N., Hillander M. Comparison of chronic autoimmune urticaria with chronic idiopathic urticaria. *Int. J. Dermatol. 2003; 42 (8): 613-615.*

34. Blaser M.J. Allelic variation in *Helicobacter pylori*. Progress but no panacea. *Gut* 1999; 45: 477-479.
35. Brandt S. et al. Use of a novel coinfection system reveals a role for Rac1, H-Ras, and CrkII phosphorylation in *Helicobacter pylori*-induced host cell actin cytoskeletal rearrangements. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2007; 50: 190-205.
36. Diomedei M. et al. CagA-positive *Helicobacter pylori* strains may influence the natural history of atherosclerotic stroke. *Neurology* 2004; 63 (5): 800-804.
37. Donald M.A., Roberto S. Does *Helicobacter pylori* Eradication Therapy Result in a Platelet Count Improvement in Adults with Immune Thrombocytopenic Purpura Regardless of H pylori Infection? ASH Evidence-based Review 2008. *Hematology* 2008; 1: 31.
38. Fagoonee S. et al. Potential link between *Helicobacter pylori* and ischemic heart disease: does the bacterium elicit thrombosis? *Minerva Med.* 2010; 101 (2): 121-125.
39. Figura N. et al. The infection by *Helicobacter pylori* strains expressing CagA is highly prevalent in women with autoimmune thyroid disorders. *J. Physiol. Pharmacol.* 1999; 50 (5): 817-826.
40. Franceschi F. et al. CagA antigen of *Helicobacter pylori* and coronary instability: insight from a clinico-pathological study and a meta-analysis of 4241 cases. *Atherosclerosis* 2009; 202 (2): 535-542.
41. Franceschi F. et al. *Helicobacter pylori* and atherosclerosis. A review of the literature. *Recenti Prog. Med.* 2009; 100 (2): 91-96.
42. Huang X.-W. et al. *Helicobacter pylori* induces mitochondrial DNA mutation and reactive oxygen species level in AGS cells. *Int. J. Med. Sci.* 2011; 8 (1): 56-67.
43. Jones N.L. et al. *Helicobacter pylori* induces gastric epithelial cell apoptosis in association with increased Fas receptor expression. *Infect. Immun.* 1999; 67 (8): 4237-4242.
44. Korzonek M. et al. Is it necessary to treat *Helicobacter pylori* infection in patients with end-stage renal failure and in renal transplant recipients? *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2004; 111 (3): 297-304.
45. Lanza G.A. et al. Assessment of systemic inflammation and infective pathogen burden in patients with cardiac syndrome X. *Am. J. Cardiol.* 2004; 94 (1): 40-44.
46. Leach S.T. et al. S100 calgranulin proteins S100A8, S100A9 and S100A12 are expressed in the inflamed gastric mucosa of *Helicobacter pylori*-infected children. *Can. J. Gastroenterol.* 2008; 22 (5): 461-464.
47. Lee D.G. et al. HP (2-20) derived from the amino terminal region of *helicobacter pylori* ribosomal protein L1 exerts its antifungal effects by damaging the plasma membranes of *Candida albicans*. *J. Pept. Sci.* 2002; 8 (8): 453-460.
48. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-781.
49. Mayr M. et al. Infections, immunity, and atherosclerosis: associations of antibodies to *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, and cytomegalovirus with immune reactions to heat-shock protein 60 and carotid or femoral atherosclerosis. *Circulation* 2000; 102 (8): 833-839.
50. Mendall M.A. et al. Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Br. Heart J.* 1994; 71 (5): 437-439.
51. Miyazaki M. et al. Is *Helicobacter pylori* infection a risk factor for acute coronary syndromes? *J. Infect.* 2006; 52 (2): 86-91.

53. Nogueira C. et al. Helicobacter pylori genotypes may determine gastric histopathology. *Am. J. Pathol.* 2001; 158 (2): 647-654.
53. Oshima T. et. al. Association of Helicobacter pylori infection with systemic inflammation and endothelial dysfunction in healthy male subjects. *J. Am. Coll. Card.* 2005; 45: 1219-1222.
54. Ozdogru I. et al. The relationship between Helicobacter pylori IgG titre and coronary atherosclerosis. *Acta Cardiol.* 2007; 62 (5): 501-505.
55. Patel P. et al. Association of Helicobacter pylori and Chlamydia pneumoniae infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *Br. Med. J.* 1995; 311: 711-714.
56. Pellicano R. et al. Helicobacter pylori: from the stomach to the heart. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1999; 11 (11): 1335-1337.
57. Rasmi Y., Raeisi S. Possible role of Helicobacter pylori infection via microvascular dysfunction in cardiac syndrome X. *Cardiol. J.* 2009; 16 (6): 585-587.
58. Sato R. et al. Effect of Helicobacter pylori Eradication on Platelet Recovery in Patients With Chronic Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Arch. Intern. Med.* 2008; 164: 1904-1907.
59. Sipponen P. Gastric cancer: pathogenesis, risks, and prevention. *J. Gastroenterol.* 2002; 37 (Suppl. 13): 39-44.
60. Sipponen P., Price A.B. The Sydney System for classification of gastritis 20 years ago. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2011; 26 (Suppl. 1): 31-34.
61. Stasi R. et al. Effects of eradication of Helicobacter pylori infection in patients with immune thrombocytopenic purpura: a systematic review. *Blood* 2009; 113 (6): 1231-1240.
62. Umreda M. et al. Helicobacter pylori CagA causes mitotic impairment and induces chromosomal instability. *J. Biol. Chem.* 2009; 284 (33): 22166-22172.
63. Weydig C. et al. CagA-independent disruption of adherence junction complexes involves E-cadherin shedding and implies multiple steps in Helicobacter pylori pathogenicity. *Exp. Cell Res.* 2007; 313 (16): 3459-3471.
64. Whincup P.H. et al. Prospective relations between Helicobacter pylori infection, coronary heart disease, and stroke in middle aged men. *Heart* 1996; 75 (6): 568-572.
65. Wlodarek D. et al. Helicobacter pylori infection and its influence on Parkinson disease. *Pol. Merkur. Lekarski* 2003; 15 (89): 428-431.
66. Yakovenko E. et al. The state of gastro-esophageal mucous and Helicobacter pylori infection in patients with cholelithiasis. *Helicobacter* 2006; 11; 415.
67. Zentilin P. et al. Can Helicobacter pylori infection be a risk factor for the severity of rheumatoid arthritis? *Recenti Prog. Med.* 2000; 91 (4): 175-180.

Сравнительная оценка пространственной контрастной чувствительности у пациентов с миопией на фоне очковой и ортокератологической коррекции

Шарапов И. Ю.

врач-офтальмолог

Матросова Ю. В.

к.м.н., зав. детским отделением

Тамбовский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Минздрава России

Автор для корреспонденции: Шарапов Илья Юрьевич; **e-mail:** naukatmb@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Цель. Получить сравнительную оценку состояния пороговой контрастной чувствительности у пациентов с миопией, использующих очковую коррекцию, а также пациентов с миопией, использующих ортокератологические линзы. Материал и методы. Исследованы параметры монохромной пространственной чувствительности у 24 пациентов (48 глаз) с установленным диагнозом миопия средней степени. Все пациенты были распределены на две группы. В первую группу входили пациенты, использующие ортокератологические линзы со сроком ношения не менее 6 месяцев. Вторая группа включала пациентов с очковой коррекцией. Для определения пороговой контрастной чувствительности использовалась компьютерная программа «Зебра» (3-я версия). Результаты. Сравнительный анализ показал, что достоверные значения пороговой контрастной чувствительности выше у пациентов с ортокератологической коррекцией на средних пространственных частотах (4 и 8 цикл/град). На низких и высоких пространственных частотах значимых различий между группами не выявлено. Заключение. Положительное воздействие ортокератологических линз на ПКЧ на средних частотах позволяет нам рекомендовать этот метод коррекции для получения лучшего качества центрального зрения у пациентов с миопией средней степени в сравнении очковой коррекцией.

Ключевые слова: офтальмология, пространственная контрастная чувствительность, миопия

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-87-93

Для цитирования: Шарапов И. Ю., Матросова Ю. В. Сравнительная оценка пространственной контрастной чувствительности у пациентов с миопией на фоне очковой и ортокератологической коррекции. *Медицина* 2019; 7(4): 87-93

Актуальность

Пространственная контрастная чувствительность (ПКЧ) представляет собой одну из функций зрительной системы. Эта функция определяет наименьший контрастный уровень, необходимый для четкого определения изображения различного контраста и размера [1,3,4]. ПКЧ является обратно пропорциональной величиной по отношению к

минимальному контрасту решетки, при котором она едва различима при данной пространственной частоте. ПКЧ имеет другую природу, нежели острота зрения. При снижении остроты зрения становится невозможным определить ПКЧ на высоких частотах, однако наличие идеальной остроты зрения не исключает снижения ПКЧ на тех же частотах. При проверке остроты зрения определяется минимальная величина различимых глазом символов, которые имеют максимальный контраст с фоном [14]. Главным недостатком показателей остроты зрения является их контрастная монотонность. Проведение визоконтрастометрии для определения контрастной чувствительности позволяет различать двухмерные, а также трехмерные объекты. Контрастная чувствительность зависит от различных параметров, таких как возраст, наличие аномалий рефракции, возраста, прозрачности оптических сред глаза. Для правильного восприятия контрастной чувствительности необходимо отсутствие патологии центрального зрения [5]. Ряд авторов имеют высказывания об изменениях ПКЧ в области высоких пространственных частот у миопов [2].

Ежегодно количество людей с аномалиями рефракции становится больше, на миопию приходится наибольшее количество случаев. При этом возраст начала заболевания уменьшается, что делает изучение причин, методов лечения и последствий наиболее актуальным. По данным ВОЗ на 2015 год, около 1,6 млрд. человек во всем мире страдают аномалиями рефракции. Некоторые учёные отмечают, что к 2020 году 2,5 млрд. человек будут страдать от близорукости. В связи с этим ВОЗ выбрала приоритетной задачей исправление аномалий рефракцией для предотвращения слепоты до 2020 года [10]. Актуальность сохранения зрения в современных условиях также подтверждается итогами диспансеризации в 2017 году – в РФ за последние 10 лет заболеваемость детей миопией выросла с 734,4 до 1175,0 на 100000 населения. В России миопия имеется у 25% учащихся [11].

Консервативное аппаратное лечение является наиболее распространенным методом лечения. Применяются такие методы лечения миопии, как варианты аккомодотренировок и физиотерапевтического лечения (лазер-, магнито-, электростимуляция) и пр. Эти методики часто сочетаются с другими методами лечения миопии [5-9,13]. При прогрессирующей миопии средней степени предпочтение отдается склеропластике или ортокератологии [3,9,10]. В последнее время большее применение в приостановке прогрессирования миопии находят ортокератологическим линзам (ОКЛ). Использование этого метода позволяет временно устранить миопическую рефракцию, изменяя при этом форму роговицы и её оптическую силу [10-12]. Этот эффект позволяет пациенту избавиться от негативных эффектов при ношении очков, таких как оптические аберрации, что позволяет улучшить качество жизни.

Цель

Получить сравнительную оценку состояния пороговой контрастной чувствительности у пациентов с миопией, использующих очковую коррекцию, а также пациентов с миопией, использующих ортокератологические линзы.

Материал и методы

Исследованы параметры монохромной пространственной чувствительности у 24 пациентов (48 глаз). Средний возраст составлял $13,4 \pm 2,9$ лет. Среди них было 14 девочек, 10 мальчиков. У всех имелась миопия средней степени со сферозэквивалентом от 3,5 до 6,0 диоптрий. Все пациенты были распределены на две группы. Основную группу составляли пациенты, использующие ОКЛ. Группа сравнения включала пациентов с очковой коррекцией (по 12 человек в каждой группе). Срок ношения ОКЛ составлял от 6 до 36 месяцев. Всем исследуемым определялась ПКЧ при помощи программы «Зебра» (3-я версия). Использовались черно-белые синусоидальные решетки вертикальной ориентации с пространственными частотами от 0,5 до 16 цикл/град и эффективными угловыми размерами $3,1^\circ \times 3,1^\circ$.

Измерение проводилось монокулярно, поочередно на каждый глаз, от низких частот к высоким. Расстояние до монитора составляло 1,6 метра. Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась с помощью пакета программ «Statistica 10.0». Так как распределение признаков отличалось от нормального, при сравнении групп использовали непараметрический метод – критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

В обеих группах были получены схожие результаты при обследовании на низких пространственных частотах от 0,5 до 2 цикл/град. Средние значения для основной группы для низких частот (1 цикл/град) составляли $41,75 \pm 3,25$ ($p=0,141$). При обследовании на частоте 2 цикл/град значение составляло $47,25 \pm 3,17$ ($p=0,065$). Наибольшая значимость различий наблюдалась на пространственных частотах 4 и 8 цикл/град. Она составляла $46,00 \pm 2,70$ ($p=0,002$) и $41,58 \pm 2,47$ ($p=0,001$) для основной группы, что характеризуется максимально высокой степенью значимости. В условиях обычного дневного освещения контрастная чувствительность в норме особенно высока при опознании стимулов средней пространственной частоты (порядка 4-8 цикл/град), что подтверждается результатами проведенного обследования. В случае увеличения яркости объекта сдвиг максимальной чувствительности происходит в направлении высоких, а с увеличением размеров объекта

– низких пространственных частот. Подсчитано [Prager Th.C, 1990], что если исследовать остроту зрения в темном помещении, то контраст черных знаков, предъявляемых на белом экране, оценивается в 94%, если же в комнате включить освещение, контраст знаков в тестовой таблице снижается до 31%. Именно поэтому важно получить максимальные значения ПКЧ, используя любые доступные методы лечения, особенно на средних и высоких частотах. Полученные результаты ПКЧ представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты пространственной контрастной чувствительности

Пространственная частота, цикл/град	Основная группа	Группа сравнения	Значимость различий
0,5	32,08±4,40	31,83±2,59	Z=0,29 p=0,773
1	41,75±3,25	38,92±3,15	Z=1,47 p=0,141
2	47,25±3,17	43,08±6,02	Z=1,85 p=0,065
4	46,00±2,70	38,58±7,62	Z=3,12 p=0,002*
8	41,58±2,47	29,08±11,16	Z=3,20 p=0,001*
16	26,17±7,22	19,17±8,27	Z=1,93 p=0,053

Примечание: * — различие достоверно

Средний возраст обследуемых в группах составлял 13,4±2,9 лет, что важно учитывать при проведении обследования и интерпретации результатов. Определение ПКЧ требует, как правило, большего времени по сравнению с определением остроты зрения. Помимо этого, точность полученных результатов контрастной чувствительности зависит от внимательности и концентрации пациента во время исследования. При обследовании пациентов младшего возраста (менее 9 лет) мы получали недостоверные результаты, так как при утомлении ребенок начинал отвечать в хаотичном порядке для ускорения завершения обследования. Немаловажным фактором при проведении обследования условия, в которых оно проводится. Ребенка не должны отвлекать внешние факторы, такие как посторонние звуки, присутствующие родители.

Определение пороговой контрастной чувствительности не исключает определения остроты зрения, а лишь дополняет его, тем самым увеличивая качество диагностического обследования и улучшая условия для проведения дифференциальной диагностики.

Выводы

1. У пациентов с миопией на фоне очковой и ортокератологической коррекции не выявлено значимой разницы ПКЧ на низких частотах (0,5-2 цикл/град).
2. Выявлено улучшение показателей ПКЧ на средних частотах (4-8 цикл/град) у пациентов, пользующихся ОКЛ в сравнении с очковой коррекцией.
3. Положительное воздействие ортокератологических линз на ПКЧ на средних частотах позволяет нам рекомендовать этот метод коррекции для получения лучшего качества центрального зрения у пациентов с миопией средней степени в сравнении очковой коррекцией.

Литература

1. Аветисов Э.С. Близорукость. М.: Медицина, 1999. 288 с.
2. Бейсенбаева Б.С., Тулетова А.С. Показатели контрастной чувствительности глаз у студентов. Федоровские чтения: Сб. тезисов. М., 2011. С. 218.
3. Волков В.В., Колесникова Л.Н., Шелепин Ю.Е. Методика клинической визоконтрастометрии. *Вестник офтальмологии* 1983; (3): 59-61.
4. Волков В.В., Колесникова Л.Н., Шелепин Ю.Е. Частотно-контрастные характеристики и острота зрения в офтальмологической практике. *Офтальмологический журнал* 1983; (3): 148-151.
5. Матросова Ю.В. Сравнительная оценка эффективности различных методов лечения близорукости. *Российская детская офтальмология* 2014; (4): 40-43.
6. Матросова Ю.В. Влияние ортокератологических линз на функцию аккомодационного аппарата и стабильность слезной пленки у детей и подростков с миопией. *Вестник Оренбургского государственного университета* 2013; 153 (4): 167-169.
7. Матросова Ю.В., Халеева Д.В. Сравнительная оценка эффективности ортокератологии и склеропластики в торможении прогрессирования миопии. *Вестник Тамбовского университета* 2015; 20 (3): 639-641.
8. Матросова Ю.В. Клинико-функциональные показатели при ортокератологической коррекции миопии. *Вестник Тамбовского университета* 2016; 21 (4): 1613-1617.
9. Моисеенко Е.А., Щетинина А.П., Бончукова А.А., Юрьева Т.Н. Сравнительный анализ эффективности различных методов лечения прогрессирующей осевой миопии. *Российская педиатрическая офтальмология* 2011; (1): 32-34.
10. Поболь-Солонко О.Л., Марченко Л.Н., Иванова В.Ф. Эпидемиология детской близорукости в Республике. Современная реконструктивная хирургия в офтальмологии: Материалы республиканской научной конференции с международным участием. Минск, 2013. С. 231-235.
11. Скорин В.О. Гигиенические особенности работы ответственного дежурного с использованием мультитекранного наблюдения. Материалы VIII Всероссийского конгресса "Профессия и здоровье". М., 2009. С. 453-456.

12. Фабрикантов О.Л., Матросова Ю.В. Сравнительная оценка эффективности различных методов лечения миопии. *Вестник Тамбовского университета* 2014; 19 (4): 1223-1225.
13. Хуснутдинова Э.Г. Опыт комплексной терапии приобретенной близорукости. Восток–Запад – 2011: Материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием по офтальмохирургии. Уфа, 2011. С. 443-445.
14. Шамшинова А.М., Шапиро В.М., Белозеров А.Е. и др. Контрастная чувствительность в диагностике заболеваний зрительного анализатора: методическое пособие для врачей. М., 1996. 18 с.

The comparative analysis of spatial contrast sensitivity in myopic patients in association with spectacle and orthokeratological correction

Sharapov I. Yu.

Ophthalmologist

Matrosova Yu. V.

MD, PhD, Head, Children's Department

The Academician S.N. Fyodorov FSBI IRTC "Eye Microsurgery" Tambov branch, Tambov, Russian Federation

Corresponding author: Sharapov Ilya; **e-mail:** naukatmb@mail.ru

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Abstract

Purpose. To perform the comparative analysis of the threshold contrast sensitivity in myopic patients using spectacle correction as well as orthokeratological correction. **Material and methods.** The parameters of monochrome spatial sensitivity were examined in 24 patients (48 eyes) diagnosed with average myopia. All patients were divided into two groups. Group I included patients using orthokeratological lens not less than 6 months. Group II included patients with spectacle correction. To determine threshold contrast sensitivity the computer software "Zebra" (version 3) was applied. **Results.** The comparative analysis showed that the valid values of threshold contrast sensitivity were higher in patients with orthokeratological correction at the medium spatial frequencies (4 and 8 cycles/deg). At the low and high spatial frequencies no significant differences were detected. **Conclusion.** The positive influence of the orthokeratological lens on the spatial contrast sensitivity at the medium frequencies allows us to recommend this method of correction to receive the best central vision in patients with average myopia in comparison with spectacle correction.

Keywords: ophthalmology, spatial contrast sensitivity, myopia

References

1. Avetisov E.S. Blizorukost' [Myopia]. Moscow: Medicina, 1999. (In Russ.)
2. Beysenbaeva B.S., Tuletova A.S. Pokazateli kontrastnoy chuvstvitel'nosti glaz u studentov. Fedorovskie chteniya: Sb. tezisov [Indices of contrast sensitivity of the eyes in students. Fedorov's readings: Collected abstracts]. Moscow, 2011. (In Russ.)
3. Volkov V.V., Kolesnikova L.N., Shelepin Yu.E. Metodika klinicheskoy vizokontrastometrii [The technique of clinical visiocontrastometry]. *Vestnik oftal'mologii [Annals of ophthalmology]* 1983; (3): 59-61. (In Russ.)

4. Volkov V.V., Kolesnikova L.N., Shelepin Yu.E. Chastotno-kontrastnye kharakteristiki i ostrota zreniya v oftal'mologicheskoy praktike [Frequency-contrast characteristics and visual acuity in ophthalmologic practice]. *Oftal'mologicheskii zhurnal [Journal of ophthalmology]* 1983; (3): 148-151. (In Russ.)
5. Matrosova Yu.V. Sravnitel'naya otsenka effektivnosti razlichnykh metodov lecheniya blizorukosti. [Comparative assessment of the efficacy of different methods of treating myopia]. *Rossiyskaya detskaya oftal'mologiya [Russian ophthalmology of children]* 2014; (4): 40-43. (In Russ.)
6. Matrosova Yu.V. Vliyanie ortokeratologicheskikh linz na funktsiyu akkomodatsionnogo apparata i stabil'nost' sleznoy plenki u detey i podrostkov s miopiey. [The influence of orthokeratological lenses on the function of the accommodative apparatus and tear film stability in children and teenagers with myopia]. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta [Annals of Orenburg State University]* 2013; 153 (4): 167-169. (In Russ.)
7. Matrosova Yu.V., Khaleeva D.V. Sravnitel'naya otsenka effektivnosti ortokeratologii i skleroplastiki v tormozhenii progressirovaniya miopii [Comparative estimation of orthokeratology and scleroplasty efficacy in preventing myopia progression]. *Vestnik Tambovskogo universiteta [Annals of Tambov University]* 2015; 20 (3): 639-641. (In Russ.)
8. Matrosova Yu.V. Kliniko-funktsional'nye pokazateli pri ortokeratologicheskoy korrektsii miopii. [Clinical and functional parameters in orthokeratological correction of myopia]. *Vestnik Tambovskogo universiteta [Annals of Tambov University]* 2016; 21 (4): 1613-1617. (In Russ.)
9. Moiseenko E.A., Shchetinina A.P., Bonchukova A.A., Yur'eva T.N. Sravnitel'nyy analiz effektivnosti razlichnykh metodov lecheniya progressiruyushchey osevoy miopii [Contrastive analysis of efficiency of various treatment methods for progressive axial myopia]. *Rossiyskaya pediatricheskaya oftal'mologiya [Russian pediatric ophthalmology]* 2011; (1): 32-34. (In Russ.)
10. Pobol'-Solonko O.L., Marchenko L.N., Ivanova V.F. Epidemiologiya detskoy blizorukosti v Respublike. Sovremennaya rekonstruktivnaya khirurgiya v oftal'mologii: Materialy respublikanskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem [Epidemiology in children with myopia in the Republic. Modern reconstructive surgery in ophthalmology: Collected papers]. Minsk, 2013. P. 231-235. (In Russ.)
11. Skorin V.O. Gigienicheskie osobennosti raboty otvetstvennogo dezhurnogo s ispol'zovaniem mul'tiekrannogo nablyudeniya. Materialy VIII Vserossiyskogo kongressa "Professiya i zdorov'e" [Hygienic features of the responsible duty officer using multi-screen observation. All-Russian Congress "Occupation and health": Collected papers]. Moscow, 2009. P. 453-456. (In Russ.)
12. Fabrikantov O.L., Matrosova Yu.V. Sravnitel'naya otsenka effektivnosti razlichnykh metodov lecheniya miopii [Comparative analysis of efficacy of myopia apparatus treatment]. *Vestnik Tambovskogo universiteta [Annals of Tambov University]* 2014; 19 (4): 1223-1225. (In Russ.)
13. Khusnutdinova E.G. Opyt kompleksnoy terapii priobretennoy blizorukosti. Vostok-Zapad – 2011: materialy nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem po oftal'mokhirurgii [The experience of complex therapy of acquired myopia. East-West – 2011 International conference on Ophthalmology: Collected papers]. Ufa, 2011. P. 443-445. (In Russ.)
14. Shamshinova A.M., Shapiro V.M., Belozarov A.E. et al. Kontrastnaya chuvstvitel'nost' v diagnostike zabolevaniy zritel'nogo analizatora: metod. posobie dlya vrachey [Contrast sensitivity in the diagnosis of ocular diseases: methodological guide]. Moscow, 1996. 18 p. (In Russ.)

Использование молекулярного докинга по ферменту гидролаза E.Coli (S.Aureus) в исследовании связи «структура-активность» в ряду замещенных амидов и гидразидов N-ароилантрраниловых кислот

Андрюков К. В.¹

к.фарм.н., доцент, кафедра фармацевтической химии ФОО

Коркодинова Л. М.¹

д.фарм.н., профессор, заведующая, кафедра фармацевтической химии ФОО

1 – ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автор для корреспонденции: Андрюков Константин Вячеславович; **e-mail:** k_andrukov@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Данная статья посвящена использованию молекулярного докинга по ферменту гидролаза E.Coli (S.Aureus) в исследовании связи «структура-активность» в ряду замещенных амидов и гидразидов N-ароилантрраниловых кислот. Для построения модели «структура-активность» использовали результаты молекулярного докинга по ферменту пептид деформилаза (гидролаза) E.Coli и S.Aureus производных амидов и гидразидов N-ароил антрраниловых кислот. При проведении докинга использовали ферменты гидролаза E.Coli (PDB ID code: 1LRU) и S.Aureus (PDB ID code: 1Q1Y), структуры которых были получены из базы данных RCSB Protein Data Bank. Перед проведением молекулярного докинга выполнена оптимизация и квантово-химический расчёт структур исследуемых соединений полуэмпирическим методом PM3 с использованием программы Gaussian 03. Определены значимые параметры: суммарные значения напряженности электрического поля $\Sigma(E)$, потенциал $\Sigma(\phi)$ и абсолютная величина заряда $\Sigma(|q|)$ на атомах кислорода, азота, углерода и водорода. Провели теоретический расчёт физико-химических дескрипторов исследуемых соединений: констант липофильности ($\log P_{\text{рассч}}$), констант кислотности ($pK_{\text{а, рассч}}$) и основности ($pK_{\text{б, рассч}}$). Моделирование лиганд-рецепторных взаимодействий осуществляли программой AutoDock 4.0 в составе программного комплекса MGL Tools 1.5.6, с использованием Ламарковского генетического алгоритма. В результате проведенного докинга по ферментам гидролаза E.Coli и S.Aureus, получены скоринговые функции: энергия связывания (Binding energy ($Be_{E.Coli}$ и $Be_{S.Aureus}$)), межмолекулярная энергия (Intermolecular energy ($Ime_{E.Coli}$ и $Ime_{S.Aureus}$)) и константа ингибирования ($Ki_{E.Coli}$ и $Ki_{S.Aureus}$), характеризующие взаимодействие лиганда с рецептором. Выполнены исследования зависимости противомикробной активности (ПМА) от скоринговых функций и физико-химических дескрипторов. Составлены модели «структура-активность» проведением множественного линейного регрессионного анализа с использованием программы Statistica 6. Получено четыре корреляционных уравнения связывающих скоринговые функции и физико-химические дескрипторы с противомикробной активностью с использованием 20 соединений. Выполнена проверка составленных моделей на примере 4 соединений. Линейные зависимости ПМА_{рассч.} от экспериментальных значений ПМА_{эксп.} (МПК_{эксп.} (E.Coli) и МПК_{эксп.} (S.Aureus)) для уравнений 2 и 4, из четырех составленных, с коэффициентами корреляции ($R_{\text{прогн. (2)}} = 0,961$ и $R_{\text{прогн. (4)}} = 0,911$), показывают высокую степень связи ПМА_{рассч.} с ПМА_{эксп.}.

Ключевые слова: амид, гидразид, антрраниловая кислота, молекулярный докинг, противомикробная активность, квантово-химические параметры, структура-активность

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-94-109

Для цитирования: Андрюков К. В., Коркодинова Л. М. Использование молекулярного докинга по ферменту гидролаза E.Coli (S.Aureus) в исследовании связи «структура-активность» в ряду замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот. *Медицина* 2019; 7(4): 94-109

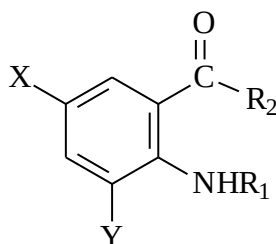
Введение

Моделирование взаимодействия с организмом с целью проведения скрининга с использованием молекулярного докинга и полученных на его основе соотношений «структура-активность», позволяет проводить целенаправленный поиск соединений с выбранным видом фармакологической активности. Использование молекулярного докинга возможно в том случае если известна мишень, с которой взаимодействует исследуемый лиганд. Перед проведением скрининга методом молекулярного докинга важно узнать фермент, воздействие на который, приводит к появлению у исследуемого лиганда анализируемой биологической активности.

Антраниловая кислота принимает участие в широком спектре биохимических реакций, используется в качестве одного из ключевых реагентов в полусинтетическом методе получения ряда антибиотиков, как например, кальцимицина, проявляющего противомикробную активность [16]. Производные антраниловой кислоты, а именно амиды и гидразиды, относятся к классу биологически активных соединений, обладающих широким спектром фармакологической активности: противомикробной [10,13,17], противовоспалительной [8,15] и анальгетической [11].

Проведение моделирования по противомикробной активности является актуальным при проведении целенаправленного поиска веществ с выраженной противомикробной активностью [12,18]. Сочетание молекулярного докинга с физико-химическими дескрипторами, позволяет учитывать в проводимых исследованиях физико-химические свойства веществ, увеличивая качество модели, как например, модель «структура-противовоспалительная активность» [2].

Цель работы заключается в исследовании связи «структура-активность» с использованием молекулярного докинга по ферменту гидролаза E.Coli (S.Aureus) в ряду замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот (20 соединений).



X=Br, Y=H, R_1 = H, R_2 = NH_2 (1); X=Br, Y=H, R_1 = CO 2-COOHC₆Cl₄, R_2 = NH_2 (2); X=Br, Y=H, R_1 = CO 3-NO₂ C₆H₄, R_2 = NH_2 (3); X=Br, Y=H, R_1 = CO 4-CH₃ C₆H₄, R_2 = NH_2 (4); X=Cl, Y=H, R_1 = CO 4-

Cl C₆H₄, R₂ = NH CH₂C₆H₅ (5); X=Br, Y=H, R₁ = CO C₆H₅, R₂ = NH C₆H₅ (6); X=Br, Y=H, R₁ = CO 2-фурил, R₂ = NH NHCO(2-фурил) (7); X=Br, Y=H, R₁ = CO C₆H₅, R₂ = NH CH₂CH₂OH (8); X=Br, Y=H, R₁ = CO 4-Cl C₆H₄, R₂ = NH₂ (9); X=Cl, Y=H, R₁ = CO 4-Cl C₆H₄, R₂ = NH 2-CH₃ C₆H₄ (10); X=Br, Y=H, R₁ = CO 4-NO₂ C₆H₄, R₂ = NH C₆H₅ (11); X=Br, Y=H, R₁ = CO 2-фурил, R₂ = NH NHCOCH₂Cl (12); X=Br, Y=H, R₁ = CO C₆H₅, R₂ = NH₂ (13); X=Br, Y=H, R₁ = CO 2-OCH₃ C₆H₄, R₂ = NH₂ (14); X=Br, Y=H, R₁ = CO 4-NO₂ C₆H₄, R₂ = NH CH₃ (15); X=Br, Y=H, R₁ = CO 4-NO₂ C₆H₄, R₂ = морфолил (16); X=I, Y=H, R₁ = CO 4-CH₃ C₆H₄, R₂ = морфолил (17); X=I, Y=H, R₁ = CO C₆H₅, R₂ = NH NHCO-2-фурил (18); X=I, Y=H, R₁ = CO C₆H₅, R₂ = NH NH COCH₂CH(CH₃)₂ (19); X=Br, Y=Br, R₁ = CO C₆H₅, R₂ = NH C₆H₁₁ (циклогексил) (20).

Материал и методы исследования

Оптимизацию структуры и расчёт квантово-химических дескрипторов исследуемых замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот проводили с использованием программы Gaussian 03 полуэмпирическим методом PM3, с полной оптимизации геометрии молекул.

Бактериостатическую активность по отношению к штаммам S.Aureus ATCC 6538-P и E.Coli ATCC 25922 определяли методом двухкратных серийных разведений в жидкой питательной среде [7]. В качестве растворителя соединений использовали диметилсульфоксид. Посевы производили в мясопептонный бульон (pH 7,0) с различной концентрацией испытуемых соединений. Микробная нагрузка составила 250 000 микробных тел на 1 мл.

Моделирование лиганд-рецепторных взаимодействий осуществляли программой AutoDock 4.0 в составе программного комплекса MGL Tools 1.5.6, с использованием Ламарковского генетического алгоритма, который позволяет воспроизводить строение комплексов более точно [14]. При проведении молекулярного докинга использовали трёхмерные модели молекул фермента пептид деформилаза (гидролаза) E.Coli и S.Aureus, информация о которых получена из базы данных RCSB Protein Data Bank: гидролаза E.Coli (PDB ID code: 1LRU [9]) и гидролаза S.Aureus (PDB ID code: 1Q1Y [20]). Изначально, все молекулы воды были удалены из структуры белка. Файлы рецептора и лигандов были конвертированы в формат PDBQT-файла, с добавлением недостающих атомов водорода и частичных атомных зарядов по методу Гастейгера.

Результаты

Структуры всех лигандов были построены и оптимизированы с использованием программы Gaussian 03 полуэмпирическим методом PM3 с полной оптимизацией

геометрии молекул, и затем были конвертированы в 3D-формат (.pdb) с помощью программы ChemBio3D Ultra 12,0.

В результате проведенных квантово-химических расчётов программой Gaussian 03, получены квантово-химические дескрипторы: суммарные значения напряженности электрического поля $\Sigma(E)$, потенциала $\Sigma(\phi)$ и заряда в модуле $\Sigma(|q|)$ на атомах углерода, кислорода, азота и водорода для всей молекулы. С использованием полученных квантово-химических дескрипторов: суммарная напряженность на атомах углерода ($C(E)$) и азота ($N(E)$), суммарный потенциал по атомам углерода ($C(\phi)$), кислорода ($O(\phi)$) и азота ($N(\phi)$), и суммарный заряд в модуле по атому кислорода ($O(|q|)$), провели теоретический расчёт физико-химических дескрипторов исследуемых соединений: констант липофильности ($\log P_{\text{рассч}}$) [3], констант кислотности ($pK_{\text{а, рассч}}$) [1] и основности ($pK_{\text{б, рассч}}$) [1] (таблица 1).

Значения констант липофильности лежат в интервале от 2,12 у соединения 1 до 3,90 (соединение 14). Константы кислотности, характеризующие ионизацию, рассчитанные значения которых находятся в пределах от 6,49 (соединение 2) до 9,58, для соединения 16. Константы основности, находятся в пределах от 11,82 у соединения 16 до 13,16, для соединения 5.

Таблица 1. Квантово-химические дескрипторы, $\log P_{\text{рассч}}$, $pK_{\text{а, рассч}}$ и $pK_{\text{б, рассч}}$ замещенных амидов и гидразидов N-ароилантранилиновых кислот

№	C(E)	N(E)	C(φ)	O(φ)	N(φ)	O(q)	log P _{рассч}	pK _{а, рассч}	pK _{б, рассч}
1	3,47	0,87	68,51	11,40	20,26	0,45	2,12	6,83	12,40
2	7,58	0,91	158,12	52,33	19,99	1,15	2,77	6,49	12,43
3	8,18	1,50	180,39	57,48	43,03	1,38	2,58	8,34	12,54
4	11,09	0,94	251,91	28,29	32,02	0,71	2,44	7,50	12,84
5	11,97	0,85	266,17	32,93	28,90	0,62	2,83	6,82	13,16
6	9,87	0,92	222,65	32,61	30,22	0,66	2,73	7,37	12,82
7	7,90	1,11	175,05	65,01	35,79	1,09	3,47	7,63	12,96
8	9,76	0,88	220,79	45,29	28,71	0,66	3,33	7,34	12,74
9	8,21	0,88	173,82	27,54	24,97	0,61	2,59	6,50	13,01
10	10,73	0,94	240,47	33,08	30,47	0,67	2,74	7,25	12,87
11	8,33	1,22	187,37	54,71	35,67	1,47	2,28	8,03	12,43
12	8,26	1,24	184,38	56,73	38,86	1,09	3,08	7,97	12,80
13	8,98	0,92	196,53	27,69	27,79	0,65	2,52	6,95	12,89
14	8,91	0,86	197,68	54,47	27,80	0,59	3,90	7,04	12,94
15	7,57	1,24	170,43	54,32	35,45	1,48	2,26	8,12	12,32
16	9,26	1,27	228,01	82,46	42,02	1,75	3,09	9,58	11,82
17	12,92	0,99	318,96	60,97	40,78	0,99	3,46	9,46	12,16
18	9,21	1,03	209,30	53,08	35,85	0,86	3,34	7,75	12,97
19	13,11	1,30	309,79	45,41	45,07	0,85	3,00	9,07	12,40
20	10,60	0,94	242,92	32,47	31,73	0,70	2,65	7,68	12,68

Для 20 соединений из ряда замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот, была экспериментально определена противомикробная активность (ПМА_{эксп.}) в отношении E.Coli и S.Aureus (таблицы 2 и 3).

Бактериостатическую активность по отношению к штаммам S.Aureus ATCC 6538-P и E.Coli ATCC 25922 определяли методом двухкратных серийных разведений в жидкой питательной среде [7]. В качестве растворителя соединений использовали диметилсульфоксид. Посевы производили в мясопептонный бульон (pH 7,0) с различной концентрацией испытуемых соединений. Микробная нагрузка составила 250 000 микробных тел на 1 мл.

Через 18-20 ч выдержки контрольных пробирок в термостате при температуре 37° С фиксировали результат. Для всех исследуемых 20 соединений определяли минимальные подавляющие концентрации (МПК) (таблицы 2 и 3) [4,5,6].

Установлено, что большинство изучаемых амидов обладает слабой бактериостатической активностью (таблицы 2 и 3), только соединение 2, по структуре амид тетрахлорфталил 5-бромантраниловой кислоты, проявило бактериостатическую активность равную 15,6 мкг/мл, в отношении обоих штаммов. Перед проведением множественного линейного регрессионного анализа, с целью получения равномерной выборки наблюдаемых значений, результат по противомикробной активности МПК (мкг/мл) переводили в логарифм: $\log(1/\text{МПК})$, который затем использовали при составлении уравнений и дальнейшей валидации полученных моделей.

Моделирование лиганд-рецепторных взаимодействий осуществляли программой AutoDock 4.0 в составе программного комплекса MGL Tools 1.5.6, с использованием Ламарковского генетического алгоритма, который позволяет воспроизводить строение комплексов более точно [14]. При проведении молекулярного докинга мы использовали трёхмерные модели молекул фермента пептид деформилаза (гидролаза) E.Coli и S.Aureus, информация о которых получена из базы данных RCSB Protein Data Bank: гидролаза E.Coli (PDB ID code: 1LRU [9]) и гидролаза S.Aureus (PDB ID code: 1Q1Y [20]). Изначально, все молекулы воды были удалены из структуры белка. Файлы рецептора и лигандов были конвертированы в формат PDBQT-файла, с добавлением недостающих атомов водорода и частичных атомных зарядов по методу Гастейгера.

В процедуре докинга с координатами точек (60×60×60) вокруг каждого моделируемого участка, по ферменту гидролаза E.Coli при построении Grid-карт за центр были взяты координаты лиганда ($x = -35,18$, $y = 28,54$, $z = 64,81$), а для фермента гидролаза S.Aureus координаты лиганда ($x = -18,26$, $y = 141,93$, $z = 49,21$). В результате получено 20 Grid-карт по параметрам для исследуемых соединений. Оценку качества позиционирования характеризовали величиной RMSD, представляющей собой среднеквадратичное отклонение положения лиганда после докинга от его начального положения.

В качестве активного сайта фермента гидролаза E.Coli был принят участок макромолекулы, содержащий аминокислоты (GLU133, LEU91, LEU125, GLY89, GLU87, ILE44) [9] и для фермента гидролаза S.Aureus, содержащий аминокислоты (GLU155, VAL151, VAL59, GLN65) [20]. Отбор значимых конформаций осуществляли по минимальному значению среднеквадратичного отклонения ΔRMSD от молекулы антибиотика актинонина, использованного в качестве исходной молекулы при построении структур.

Результат проведенного молекулярного докинга по ферментам гидролаза E.Coli и S.Aureus представлен в таблицах 2 и 3 в виде скоринговых функций: энергия связывания (Binding energy ($\text{Be}_{\text{E.Coli}}$ и $\text{Be}_{\text{S.Aureus}}$)), межмолекулярная энергия (Intermolecular energy ($\text{Ime}_{\text{E.Coli}}$ и $\text{Ime}_{\text{S.Aureus}}$)) и константа ингибирования ($\text{Ki}_{\text{E.Coli}}$ и $\text{Ki}_{\text{S.Aureus}}$), характеризующие взаимодействие лиганда с рецептором (гидролаза E.Coli и S.Aureus).

Для соединения 2 с ПМА равной 15,6 мкг/мл приведены диаграммы взаимодействия с гидролазой E.Coli (рисунок 1) и S.Aureus (рисунок 2), включающие водородные связи и гидрофобные взаимодействия по аминокислотам.

Таблица 2. Скоринговые функции и $\text{МПК}_{(\text{E.Coli})\text{эксп.}}$, $\log(1/\text{МПК})_{(\text{E.Coli})\text{эксп.}}$ замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот (20 соединений)

№	$\text{МПК}_{(\text{E.Coli})\text{эксп.}}$, мкг/мл	$\log(1/\text{МПК})_{(\text{E.Coli})\text{эксп.}}$	$\text{Be}_{\text{E.Coli}}$	$\text{Ime}_{\text{E.Coli}}$	$\text{Ki}_{\text{E.Coli}}$
1	1000	-3,000	-6,62	-7,21	14,12
2	15,6	-1,193	-4,13	-5,24	173,51
3	1500	-3,176	-7,27	-8,46	4,68
4	1000	-3,000	-6,77	-7,66	10,92
5	500	-2,699	-8,41	-9,9	687,98
6	1000	-3,000	-6,75	-7,95	11,24
7	1000	-3,000	-7,84	-9,34	1,78
8	1000	-3,000	-7,63	-9,42	13,72
9	1500	-3,176	-8,54	-9,44	546,15
10	1000	-3,000	-7,67	-8,87	2,38
11	1000	-3,000	-7,24	-8,73	4,95
12	500	-2,699	-6,95	-8,44	8,09
13	500	-2,699	-6,73	-7,63	11,63
14	1500	-3,176	-7,32	-8,51	4,3
15	500	-2,699	-6,51	-7,7	17,04
16	500	-2,699	-7,02	-8,21	7,15
17	1500	-3,176	-7,90	-8,8	1,62
18	1000	-3,000	-8,70	-10,19	421,3
19	500	-2,699	-7,81	-9,8	1,35
20	1000	-3,000	-7,08	-8,27	6,51

Таблица 3. Скоринговые функции и $МПК_{(S.Aureus)эксп.}$ $\log(1/МПК)_{(S.Aureus)эксп.}$ замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот (20 соединений)

№	$МПК_{(S.Aureus)эксп.}$ мкг/мл	$\log(1/МПК)_{(S.Aureus)эксп.}$	$Be_{S.Aureus}$	$Ime_{S.Aureus}$	$Ki_{S.Aureus}$
1	1000	-3,000	-6,94	-7,53	8,22
2	15,6	-1,193	-4,18	-6,37	266,69
3	1500	-3,176	-7,28	-8,48	14,30
4	1000	-3,000	-6,23	-7,12	27,27
5	500	-2,699	-5,56	-7,05	83,80
6	1000	-3,000	-6,52	-7,72	16,57
7	1000	-3,000	-6,31	-7,80	23,77
8	1000	-3,000	-6,22	-8,01	27,55
9	1000	-3,000	-6,20	-7,09	28,67
10	1000	-3,000	-6,55	-7,74	15,82
11	1000	-3,000	-6,15	-7,94	101,18
12	1000	-3,000	-6,31	-7,8	23,62
13	500	-2,699	-6,73	-7,63	11,63
14	1500	-3,176	-7,01	-8,21	7,21
15	500	-2,699	-6,37	-7,56	21,37
16	500	-2,699	-6,17	-7,36	30,10
17	1000	-3,000	-6,71	-7,60	12,15
18	125	-2,090	-5,69	-7,18	67,94
19	250	-2,397	-5,39	-7,18	111,72
20	1000	-3,000	-6,47	-7,67	17,97

По атому брома и бензольному кольцу антраниловой кислоты происходит гидрофобное взаимодействие соединения 2 с активным участком фермента – гидролазы E.Coli (рисунок 1) содержащим аминокислоты изолейцин (ILE44) и лейцин (LEU125). Также образуется межмолекулярная водородная связь с аминокислотой аргинин (ARG97) по карбоксилат иону карбоксильной группы заместителя в NH-ацильном фрагменте.

Соединение 2 взаимодействует с гидролазой S.Aureus гидрофобными фрагментами: ароматическим кольцом ядра антраниловой кислоты, атомом брома и атомами хлора в NH-ацильном фрагменте, водородные связи при этом не образуются. Заместитель при NH-ацильной группе, содержащий атомы хлора, вступает в гидрофобное взаимодействие с аминокислотами активного участка гидролазы S.Aureus – валин (VAL59 и VAL151).

Рис. 1. Комплекс соединения 2 с активным участком гидролазы *E.Coli*. Изображение получено с использованием программы LigandScout.

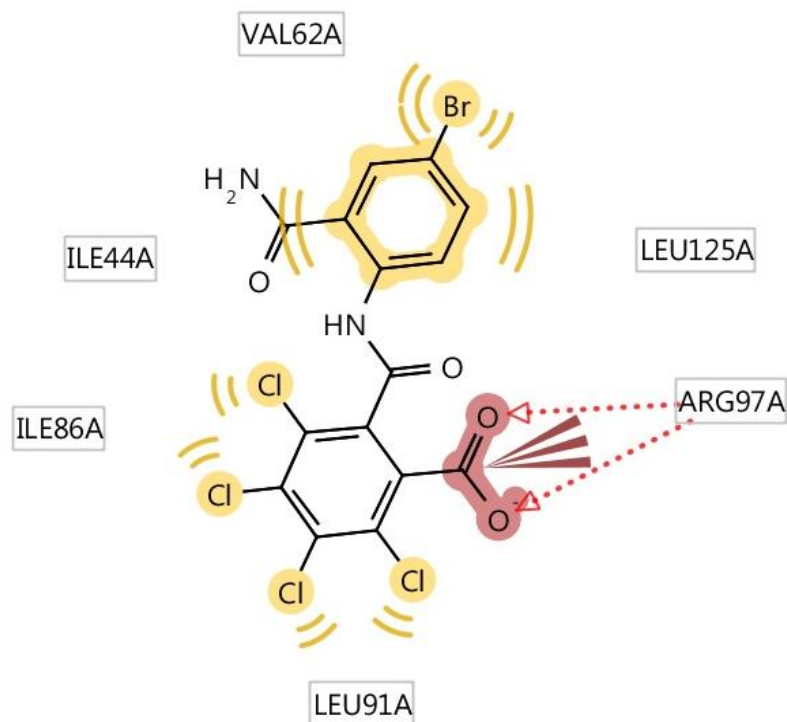
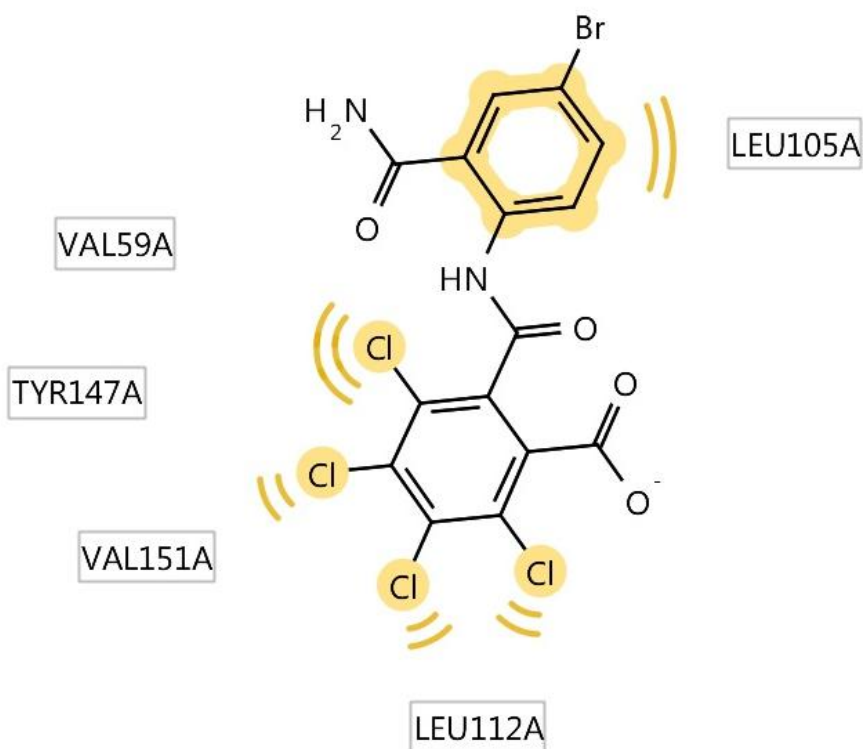


Рис. 2. Комплекс соединения 2 с активным участком гидролазы *S.Aureus*. Изображение получено с использованием программы LigandScout.



Обсуждение результатов

С целью составления модели «структура-активность», проведен множественный линейный регрессионный анализ с использованием программы Statistica 6, зависимости $\log(1/\text{МПК})E.\text{Coli}$ и $\log(1/\text{МПК})S.\text{Aureus}$ от констант липофильности ($\log P_{\text{рассч}}$), ионизации ($pK_{\text{рассч}}$ и $pK_{\text{в рассч}}$) и скоринговых функций по ферментам гидролаза $E.\text{Coli}$ ($Be_{E.\text{Coli}}$, $Ime_{E.\text{Coli}}$, $Ki_{E.\text{Coli}}$) и $S.\text{Aureus}$ ($Be_{S.\text{Aureus}}$, $Ime_{S.\text{Aureus}}$, $Ki_{S.\text{Aureus}}$).

Всего было сгенерировано свыше 43 уравнений регрессии, из которых методом пошагового включения параметров с использованием программы Statistica 6, были отобраны 4 уравнения (таблица 4) зависимости экспериментально определенной ПМА ($\log(1/\text{МПК})E.\text{Coli}$ и $\log(1/\text{МПК})S.\text{Aureus}$) от $\log P_{\text{рассч}}$, $pK_{\text{рассч}}$, $Be_{E.\text{Coli}}$, $Ime_{E.\text{Coli}}$, $Ki_{E.\text{Coli}}$, $Be_{S.\text{Aureus}}$, $Ime_{S.\text{Aureus}}$, $Ki_{S.\text{Aureus}}$.

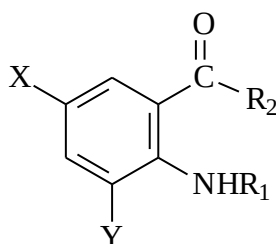
Установлено, что полученные уравнения имеют наибольшие значения коэффициента корреляции (R), критерия Фишера (F) и критерия оценки методом перекрестного контроля исключением по одному (Q^2_{LOO}), и минимальное значение среднеквадратичной ошибки (S) (таблица 4).

Таблица 4. Уравнения множественной регрессии зависимости $\log(1/\text{МПК})E.\text{Coli}$ и $\log(1/\text{МПК})S.\text{Aureus}$ от $\log P_{\text{рассч}}$, $pK_{\text{рассч}}$, $Be_{E.\text{Coli}}$, $Ime_{E.\text{Coli}}$, $Ki_{E.\text{Coli}}$, $Be_{S.\text{Aureus}}$, $Ime_{S.\text{Aureus}}$, $Ki_{S.\text{Aureus}}$

№	Уравнение регрессии	R	F	S	N	Q^2_{LOO}
1	$\log(1/\text{МПК})E.\text{Coli}_{\text{рассч. (1)}} = -0,96904 + 0,51143 \times Be_{E.\text{Coli}} + 0,17713 \times \log P + 0,00134 \times Ki_{E.\text{Coli}} + 0,16320 \times pKa$	0,927	22,98	0,181	20	0,52
2	$\log(1/\text{МПК})E.\text{Coli}_{\text{рассч. (2)}} = -0,24561 + 0,91074 \times Be_{E.\text{Coli}} - 0,42466 \times Ime_{E.\text{Coli}} + 0,00107 \times Ki_{E.\text{Coli}} + 0,10801 \times \log P$	0,944	31,20	0,158	20	0,71
3	$\log(1/\text{МПК})S.\text{Aureus}_{\text{рассч. (3)}} = -0,68705 + 0,31614 \times Be_{S.\text{Aureus}} + 0,00334 \times Ki_{S.\text{Aureus}} + 0,01502 \times \log P - 0,04255 \times pKa$	0,895	15,20	0,230	20	0,57
4	$\log(1/\text{МПК})S.\text{Aureus}_{\text{рассч. (4)}} = -0,74351 + 0,01988 \times Be_{S.\text{Aureus}} + 0,30029 \times Ime_{S.\text{Aureus}} + 0,00482 \times Ki_{S.\text{Aureus}} + 0,04753 \times \log P$	0,907	17,46	0,217	20	0,68

Проведена оценка составленных уравнений методом перекрестного контроля с выбором по одному (Leave-one-out cross-validation, LOO) (Q^2_{LOO}), с использованием программы Statographics. Определен коэффициент детерминации предсказаний Q^2_{LOO} , показывающий значимость составленных уравнений. По результатам проверки можно сделать вывод, что все составленные предсказательные модели на основе уравнений 1-4 являются значимыми, так как значение Q^2 по LOO для надежных предсказательных моделей должно быть не менее 0,5 [19]. К наиболее значимым по рассчитанным критериям R, F, Q^2_{LOO} относятся модели в виде уравнений №2 и №4.

Полученные уравнения апробированы для теоретического расчёта МПК E.Coli и S.Aureus на примере 4 соединений (21 - 24) из ряда замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот (4 соединения).



X=Br, Y=H, R₁ = CO 2-COOH C₆H₄, R₂ = NH C₆H₅ (21); X=Br, Y=H, R₁ = CO 4-Cl C₆H₄, R₂ = NH C₆H₅ (22); X=Br, Y=H, R₁ = CO 2-COONHC₆H₄, R₂ = NH₂ (23); X=Br, Y=H, R₁ = CO 2-фурил, R₂ = NH₂ (24).

Вначале были проведены расчёты физико-химических дескрипторов (logP_{расч} и pKa_{расч}) и скоринговых функций (таблица 5) по ферментам гидролаза E.Coli (Be_{E.Coli}, Ime_{E.Coli}, Ki_{E.Coli}) и S.Aureus (Be_{S.Aureus}, Ime_{S.Aureus}, Ki_{S.Aureus}) методом молекулярного докинга программой AutoDock 4.0, и на их основе было рассчитано МПК_{расч} (E.Coli) (таблица 6) и МПК_{расч} (S.Aureus) (таблица 7). Затем была проведена проверка полученных результатов расчётов на экспериментальных данных, были определены МПК_{эксп} (E.Coli) и МПК_{эксп} (S.Aureus).

Таблица 5. Скоринговые функции рассчитанные программой AutoDock 4.0 по E.Coli и S.Aureus, logP_{расч}, pKa_{расч} замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот (4 соединения)

№	Be _{E.Coli}	Ime _{E.Coli}	Ki _{E.Coli}	Be _{S.Aureus}	Ime _{S.Aureus}	Ki _{S.Aureus}	logP _{расч}	pKa _{расч}
21	-7,06	-8,55	2,04	-5,71	-7,26	48,22	2,86	7,30
22	-6,98	-8,17	7,66	-6,87	-8,06	9,26	2,65	6,35
23	-7,04	-8,25	15,94	-6,16	-7,66	30,33	2,58	6,99
24	-4,62	-5,34	138,43	-4,56	-5,46	243,38	3,01	7,24

Таблица 6. log(1/МПК)E.Coli расч., МПК_{расч} (E.Coli), log(1/МПК)E.Coli эксп., МПК_{эксп} (E.Coli) замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот (4 соединения)

№	log(1/МПК) E.Coli расч. (1)	МПК _{расч.} (E.Coli) μ мкг/мл (1)	log(1/МПК) E.Coli расч. (2)	МПК _{расч.} (E.Coli) μ мкг/мл (2)	log (1/МПК) E.Coli эксп.	МПК _{эксп.} (E.Coli) μ мкг/мл
21	-2,878	755	-2,733	541	-2,699	500
22	-3,022	1053	-2,838	689	-3,000	1000
23	-2,950	893	-2,858	721	-3,000	1000
24	-1,432	27	-1,711	51	-1,491	31

Таблица 7. $\log(1/\text{МПК})S.Aureus$ рассч., $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(S.Aureus)$, $\log(1/\text{МПК})S.Aureus$ эксп., $\text{МПК}_{\text{эксп.}}(S.Aureus)$ замещенных амидов и гидразидов *N*-ароилантраниловых кислот (4 соединения)

№	Log (1/МПК) <i>S.Aureus</i> рассч. (3)	МПК _{рассч.} (<i>S.Aureus</i>) мкг/мл (3)	Log (1/МПК) <i>S.Aureus</i> рассч. (4)	МПК _{рассч.} (<i>S.Aureus</i>) мкг/мл (4)	log (1/МПК) <i>S.Aureus</i> эксп.	МПК _{эксп.} (<i>S.Aureus</i>) мкг/мл
21	-2,598	397	-2,668	466	-2,699	500
22	-3,058	1144	-3,129	1348	-3,000	1000
23	-2,791	619	-2,897	789	-3,000	1000
24	-1,576	38	-1,156	14	-1,193	15,6

Результаты прогнозируемых значений $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(E.Coli)$ и $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(S.Aureus)$ и экспериментально найденных оказались близки (таблицы 6 и 7).

Расчет прогнозируемой ПМА ($\text{МПК}_{\text{рассч.}}(E.Coli)$, $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(S.Aureus)$, мкг/мл) для 4 соединений, показал, что экспериментально синтезировать целесообразно соединение 24, прогноз ПМА по уравнениям 1-4 составляет: $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(E.Coli)$ (1) = 27 мкг/мл; $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(E.Coli)$ (2) = 51 мкг/мл; $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(S.Aureus)$ (3) = 38 мкг/мл; $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(S.Aureus)$ (4) = 14 мкг/мл.

Полученный результат прогноза ПМА подтверждается экспериментальным исследованием, в результате которого определено $\text{МПК}_{\text{эксп.}}$ соединения 24, которое составляет 31 мкг/мл по *E.Coli* и 15,6 мкг/мл по *S.Aureus* (таблицы 6 и 7).

Для оценки качества прогноза $\text{ПМА}_{\text{рассч.}}$ ($\text{МПК}_{\text{рассч.}}(E.Coli)$ (1), $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(E.Coli)$ (2), $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(S.Aureus)$ (3), $\text{МПК}_{\text{рассч.}}(S.Aureus)$ (4), мкг/мл) составлены линейные уравнения взаимосвязи с экспериментальными значениями $\text{ПМА}_{\text{эксп.}}$ ($\text{МПК}_{\text{эксп.}}(E.Coli)$ и $\text{МПК}_{\text{эксп.}}(S.Aureus)$):

$$\text{МПК}_{\text{рассч.}}(E.Coli) (1) = 0,92 \times \text{МПК}_{\text{эксп.}}(E.Coli) + 99,20; R_{\text{прогн.}} = 0,945.$$

$$\text{МПК}_{\text{рассч.}}(E.Coli) (2) = 0,63 \times \text{МПК}_{\text{эксп.}}(E.Coli) + 95,87; R_{\text{прогн.}} = 0,961.$$

$$\text{МПК}_{\text{рассч.}}(S.Aureus) (3) = 0,86 \times \text{МПК}_{\text{эксп.}}(S.Aureus) + 3,81; R_{\text{прогн.}} = 0,884.$$

$$\text{МПК}_{\text{рассч.}}(S.Aureus) (4) = 1,08 \times \text{МПК}_{\text{эксп.}}(S.Aureus) - 27,55; R_{\text{прогн.}} = 0,911.$$

Линейные зависимости для уравнений 2 и 4, из четырех составленных, с коэффициентами корреляции ($R_{\text{прогн.}}(2) = 0,961$ и $R_{\text{прогн.}}(4) = 0,911$), показывают высокую степень связи $\text{ПМА}_{\text{рассч.}}$ с $\text{ПМА}_{\text{эксп.}}$.

Выводы

Рассчитаны квантово-химические и физико-химические дескрипторы: константа липофильности ($\log P_{\text{расч}}$), константа кислотности ($\text{pK}_{\text{расч}}$) и основности ($\text{pK}_{\text{б}}_{\text{расч}}$).

Установлено, что большинство из двадцати изученных замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот обладает слабой бактериостатической активностью по отношению к E.Coli и S.Aureus (таблицы 2 и 3). Наиболее высокую бактериостатическую активность равную 15,6 мкг/мл, в отношении обоих штаммов, проявляет только соединение 2, по структуре амид тетрахлорфталил 5-бромантраниловой кислоты.

Проведены докинг исследования анализируемых соединений, ряда замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот методом молекулярного докинга программой AutoDock 4.0, в составе программного комплекса MGL Tools 1.5.6. При проведении молекулярного докинга использовали трёхмерные модели молекул фермента пептид деформилаза (гидролаза) E.Coli и S.Aureus.

Выполнен множественный линейный регрессионный анализ, составлены 4 уравнения (таблица 4) зависимости экспериментально определенной ПМА ($\log(1/\text{МПК})_{\text{E.Coli}}$ и $\log(1/\text{МПК})_{\text{S.Aureus}}$) от $\log P_{\text{расч}}$, $\text{pK}_{\text{расч}}$, $\text{Be}_{\text{E.Coli}}$, $\text{Ime}_{\text{E.Coli}}$, $\text{Ki}_{\text{E.Coli}}$, $\text{Be}_{\text{S.Aureus}}$, $\text{Ime}_{\text{S.Aureus}}$, $\text{Ki}_{\text{S.Aureus}}$. Проведена оценка составленных уравнений методом перекрестного контроля с выбором по одному (Leave-one-out cross-validation, LOO) (Q^2_{LOO}), с использованием программы Statographics. Определен коэффициент детерминации предсказаний Q^2_{LOO} , показывающий значимость составленных уравнений.

Составленные уравнения апробированы для теоретического расчёта МПК E.Coli и S.Aureus на примере 4 соединений (21-24) из ряда замещенных амидов и гидразидов N-ароилантраниловых кислот.

В результате проведенной проверки линейные зависимости для уравнений №2 и №4, из четырех составленных, с коэффициентами корреляции ($R_{\text{прогн. (2)}} = 0,961$ и $R_{\text{прогн. (4)}} = 0,911$), показывают высокую степень связи $\text{ПМА}_{\text{расч.}}$ с $\text{ПМА}_{\text{эксп.}}$.

Предложены корреляционные уравнения №2 и №4, для проведения дальнейших исследований структура-противомикробная активность, которые позволяют производить достоверный и экономически выгодный прогноз уровня противомикробной активности, выявляя соединения с высокой ПМА до проведения их синтеза и биологических испытаний.

Таким образом, можно сделать вывод, что получены уравнения регрессии взаимосвязи «структура-активность» с использованием метода молекулярного докинга и рассчитанных физико-химических дескрипторов, для поиска биологически активных соединений с противомикробной активностью в ряду производных антраниловой кислоты.

Список литературы

1. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М. Квантово-химические параметры в исследовании зависимости структура-ионизация N-замещенных моно (ди) галоген (Н) антралиловых кислот, их амидов и гидразидов. *Химико-фармацевтический журнал* 2016; 50 (3): 23-27.
2. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М. Молекулярный докинг в изучении взаимодействия амидов и гидразидов N-арилзамещенных алоген(Н)антралиловых кислот с циклооксигеназой 1, проявляющих противовоспалительную активность. *Химико-фармацевтический журнал* 2018; 52 (5): 29-32.
3. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М. Прогнозирование коэффициента распределения октанол – вода производных N-арилзамещенных антралиловых кислот. *Химико-фармацевтический журнал* 2013; 47 (12): 38-41.
4. Андрюков К.В. Синтез, свойства и биологическая активность моно(ди)бромзамещенных производных антралиловой кислоты, изучение связи строения с действием с использованием констант ионизации и квантово-химических расчётов: Дисс. на соискание ученой степени к.фарм.н., Пермь, 2006. 166 с.
5. Андрюков К.В., Томилов М.В., Коркодинова Л.М., Одегова Т.Ф. Синтез и противомикробная активность замещенных амидов и гидразидов N-ацил-5-бромантралиловых кислот. *Химико-фармацевтический журнал* 2007; 41 (9): 29-31.
6. Подчезерцева А.В. Синтез, биологическая активность и установление количественных соотношений "структура-противовоспалительная активность" в ряду N-ацилантралиловых кислот и их амидов. Дисс. на соискание ученой степени к.фарм.н., Пермь, 2004. 142 с.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2000. М., Бионт, 540.
8. Mohamed Eissa A.A., Soliman G.A., Khataibeh M.H. Design, Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Structurally Simple Anthranilic Acid Congeners Devoid of Ulcerogenic Side Effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2012; 60 (10): 1290-1300.
9. Guilloteau J.P., Mathieu M., Giglione C., Blanc, V., Dupuy A., Chevrier M., Gil P., Famechon A., Meinne T., Mikol V. Crystal structure of E.coli peptide deformylase complexed with antibiotic actinonin. *J. Mol. Biol* 2002; 320: 951-962.
10. Al-Rahawi K., Al-Kaf A., Shada Y., El-Nabtity S., El-Sayed K., Al-Shoba N. Synthesis and biological activities of 2-carboxyphenyloxamoylamino acids, their salts with 2-ethoxy-6,9-Diaminoacridine and D-glucosamine. *Adv. Pharmacoeconom. Drug Safety* 2013; 2 (2): 2-6.
11. Abouzid K.A., Khalil N.A., Ahmed E.M., Zaitone S.A. Synthesis and Biological Evaluation of New Heteroaryl Carboxylic Acid Derivatives as Anti-Inflammatory-Analgesic Agents. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2013; 61 (2): 222-228.
12. Kuldeep M., Pradeep K., Balasubramanian N., Synthesis, antimicrobial evaluation, ot-QSAR and mt-QSAR studies of 2-amino benzoic acid derivatives. *Medicinal Chemistry Research* 2012; 21 (3): 293-307.
13. Beniwal M., Lather V., Judge V., Jain N., Beniwal A. Anti-inflammatory, antimicrobial activity and QSAR studies of anthranilic acid derivatives. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences* 2015; 4(09): 1443-1451.
14. Morris G.M., Huey R., Olson A.J. Using AutoDock for ligand-receptor docking. *Curr. Protoc. Bioinformatics* 2008; 11(13): 34-37.
15. El-Hashash M.A., Azab M.E., Faty R.A., Amr Ael-G. Synthesis, Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Some New Benzoxazinone and Quinazolinone Candidates. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2016; 64 (3): 263-271.

16. Prudhomme M., Dauphin G., Guyot J., Jeminet G. Semisynthesis of A23187 (Calcimycin) analogs II. Introduction of a methyl group on the benzoxazole ring. *The Journal of antibiotics* 1984, 37 (6): 627-634.
17. Nadendla R.R., Mukkanti K., Sudhakar G. Rao. Microwave Synthesis of some new Quinazolinone Formazans for their Antimicrobial and Anthelmintic Activities. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy* 2010; 4 (1): 545-550.
18. Shahzad M., Jamshaid A. Synthesis, Antioxidant and Antimicrobial activity of 4-aminophenol and 2-aminobenzoic acid based novel azo compounds. *Asian J. Chem.* 2015; 27 (10): 3551-3554.
19. Sippl W., Contreras J.M., Parrot I., Rival Y.M., Wermuth C.G. Structure-based 3D QSAR and design of novel acetylcholinesterase inhibitors. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 2001; 15: 395-410.
20. Yoon H.J., Kim H.L., Lee S.K., Kim H.W. Crystal structure of peptide deformylase from *Staphylococcus aureus* in complex with actinonin, a naturally occurring antibacterial agent. *Proteins* 2004; 57: 639-642.

The use of molecular docking by enzyme hydrolase E.Coli (S.Aureus) in the study of the «structure-activity» relationship in a series of substituted amides and hydrazide of N-aroil anthranilic acids

Andryukov K. V.¹

PhD (Pharmacy), Assistant Professor, Chair for Pharmaceutical Chemistry

Korkodinova L. M.¹

Doctor of Pharmacy, Professor, Head, Chair for Pharmaceutical Chemistry

1 – Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

Corresponding Author: Andryukov Konstantin; **e-mail:** k_andryukov@mail.ru

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Abstract

The article focuses on the use of molecular docking for the enzyme E. Coli hydrolase (S. Aureus) in the study of the «structure-activity» relationship in the series of substituted amides and hydrazides of N-aroil anthranilic acids. For the construction of the structure-activity model, we used the results of molecular docking on the enzyme peptide deformylase (hydrolase) E.Coli and S.Aureus of substituted amides and hydrazides of N-aroil anthranilic acids. During the docking, E. Coli hydrolase enzymes (PDB ID code: 1LRU) and S. Aureus (PDB ID code: 1Q1Y) were used, the structures of which were obtained from the RCSB Protein Data Bank database. Before carrying out molecular docking, optimization and quantum-chemical calculation of the structures of the studied compounds was performed using the PM3 semiempirical method applying Gaussian 03 software. Significant parameters were determined: total electric field strength $\Sigma(E)$, potential $\Sigma(\phi)$ and the absolute value of charge $\Sigma(|q|)$ on the atoms of oxygen, nitrogen, carbon and hydrogen. We carried out theoretical calculation of the physicochemical descriptors of the compounds under study: lipophilic constants ($\log P_{\text{calc}}$), acidity constants ($\text{pK}_{\text{a,calc}}$) and basicity ($\text{pK}_{\text{b,calc}}$). Ligand-receptor interaction modeling was performed by the AutoDock 4.0 software as part of the MGL Tools 1.5.6 software package, using the Lamarckian genetic algorithm. As a result of docking for enzymes hydrolase E.Coli and S.Aureus, scoring functions were obtained: binding energy (Binding energy ($\text{Be}_{\text{E.Coli}}$ and $\text{Be}_{\text{S.Aureus}}$)), intermolecular energy (Intermolecular energy ($\text{Ime}_{\text{E.Coli}}$ and $\text{Ime}_{\text{S.Aureus}}$)) and inhibition constant ($\text{Ki}_{\text{E.Coli}}$ and $\text{Ki}_{\text{S.Aureus}}$) characterizing the interaction of the ligand with the receptor. Studies of the dependence of antimicrobial activity (AA) from scoring functions and physicochemical descriptors were carried out. Structure-activity models were compiled by conducting multiple linear regression analysis using the Statistica 6 program. Four correlation equations were compiled relating the scoring functions and physico-chemical descriptors with antimicrobial activity using 20 compounds. A check was performed for the models created using the example of 4 compounds.

Linear dependences of AA_{calc} from experimental values of AA_{exp} ($MIC_{exp.(E.Coli)}$ and $MIC_{exp.(S.Aureus)}$ for equations 2 and 4, made up of four, with correlation coefficients ($R_{pred. (2)} = 0.961$ and $R_{pred. (4)} = 0.911$), show a high degree of communication AA_{calc} with AA_{exp} .

Keywords: amide, hydrazide, anthranilic acid, molecular docking, antimicrobial activity, quantum chemical parameters, structure-activity

References

1. Andryukov K.V., Korkodinova L.M. Kvantovo-himicheskie parametry v issledovanii zavisimosti struktura-ionizatsiya N-zameshchennyh mono (di)galogen(n) antranilovyh kislot, ih amidov i gidrazidov [Quantum and chemical parameters in a dependence research structure-ionization of the anthranilic acids N-replaced mono halogen (H), their amides and hydrazides]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal [Chemical and Pharmaceutical Journal]* 2016; 50 (3): 23-27. (In Russ.)
2. Andryukov K.V., Korkodinova L.M. Molekulyarnyj doking v izuchenii vzaimodejstviya amidov i gidrazidov N-arozhameshchennyh alogen(N)antranilovyh kislot s ciklooksigenazoj 1, proyavlyayushchih protivovospalitel'nyu aktivnost' [Molecular docking study of the interaction of cyclooxygenase 1 with N-aryl-substituted halogen(H)anthranilic acid amides and hydrazides exhibiting anti-inflammatory activity]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal [Chemical and Pharmaceutical Journal]* 2018; 52 (5): 29-32. (In Russ.)
3. Andryukov K.V., Korkodinova L.M. Prognozirovanie koefitsienta raspredeleniya oktanol-voda proizvodnyh N-arilzameshchennyh antranilovyh kislot [Prediction of the octanol-water partition coefficients of N-aryl-substituted anthranilic acid derivatives]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal [Chemical and Pharmaceutical Journal]* 2013; 47 (12): 38-41. (In Russ.)
4. Andryukov K.V. Sintez, svoystva i biologicheskaya aktivnost' mono(di)bromzameshchennyh proizvodnyh antranilovoj kisloty, izuchenie svyazi stroeniya s dejstviem s ispol'zovaniem konstant ionizatsii i kvantovo-himicheskikh raschyotov [Synthesis, properties and biological activity of mono(di)bromosubstituted anthranilic acid derivatives, study of structure-activity relationship using ionization constants and quantum chemical calculations]. Diss. na soiskanie uchenoj stepeni k.farm.n. [PhD (Pharmacy) Thesis]. Perm', 2006. (In Russ.)
5. Andryukov K.V., Tomilov M.V., Korkodinova L.M., Odegova T.F. Sintez i protivomikrobnaya aktivnost' zameshchennyh amidov i gidrazidov N-acil-5-bromantranilovyh kislot [Synthesis and antimicrobial activity of substituted amides and hydrazides of N-acyl-5-bromanthranilic acids]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal [Chemical and Pharmaceutical Journal]* 2007; 41 (9): 29-31. (In Russ.)
6. Podchezerceva A.V. Sintez, biologicheskaya aktivnost' i ustanovlenie kolichestvennyh sootnoshenij "struktura-protivovospalitel'naya aktivnost'" v ryadu N-acilantranilovyh kislot i ih amidov [Synthesis, biological activity and the establishment of quantitative correlations "structure-anti-inflammatory activity" in the row N-acylanthranilic acids and their amides]. Diss. na soiskanie uchenoj stepeni k.farm.n. [PhD (Pharmacy) Thesis]. Perm', 2004. (In Russ.)
7. Rukovodstvo po ehksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novyh farmakologicheskikh veshchestv [Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. 2000. Moscow, Biont. (In Russ.)
8. Mohamed Eissa A.A., Soliman G.A., Khataibeh M.H. Design, Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Structurally Simple Anthranilic Acid Congeners Devoid of Ulcerogenic Side Effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2012; 60 (10): 1290-1300.
9. Guilloteau J.P., Mathieu M., Giglione C., Blanc, V., Dupuy A., Chevrier M., Gil P., Famechon A., Meinel T., Mikol V. Crystal structure of E.coli peptide deformylase complexed with antibiotic actinonin. *J. Mol. Biol* 2002; 320: 951-962.

10. Al-Rahawi K., Al-Kaf A., Shada Y., El-Nabtity S., El-Sayed K., Al-Shoba N. Synthesis and biological activities of 2-carboxyphenyloxamoylamino acids, their salts with 2-ethoxy-6,9-Diaminoacridine and D-glucosamine. *Adv. Pharmacoeconom. Drug Safety* 2013; 2 (2): 2-6.
11. Abouzid K.A., Khalil N.A., Ahmed E.M., Zaitone S.A. Synthesis and Biological Evaluation of New Heteroaryl Carboxylic Acid Derivatives as Anti-Inflammatory-Analgesic Agents. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2013; 61 (2): 222-228.
12. Kuldeep M., Pradeep K., Balasubramanian N., Synthesis, antimicrobial evaluation, ot-QSAR and mt-QSAR studies of 2-amino benzoic acid derivatives. *Medicinal Chemistry Research* 2012; 21 (3): 293-307.
13. Beniwal M., Lather V., Judge V., Jain N., Beniwal A. Anti-inflammatory, antimicrobial activity and QSAR studies of anthranilic acid derivatives. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences* 2015; 4(09): 1443-1451.
14. Morris G.M., Huey R., Olson A.J. Using AutoDock for ligand-receptor docking. *Curr. Protoc. Bioinformatics* 2008; 11(13): 34-37.
15. El-Hashash M.A., Azab M.E., Faty R.A., Amr Ael-G. Synthesis, Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Some New Benzoxazinone and Quinazolinone Candidates. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2016; 64 (3): 263-271.
16. Prudhomme M., Dauphin G., Guyot J., Jeminet G. Semisynthesis of A23187 (Calcimycin) analogs II. Introduction of a methyl group on the benzoxazole ring. *The Journal of antibiotics* 1984, 37 (6): 627-634.
17. Nadendla R.R., Mukkanti K., Sudhakar G. Rao. Microwave Synthesis of some new Quinazolinone Formazans for their Antimicrobial and Antihelminthic Activities. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy* 2010; 4 (1): 545-550.
18. Shahzad M., Jamshaid A. Synthesis, Antioxidant and Antimicrobial activity of 4-aminophenol and 2-aminobenzoic acid based novel azo compounds. *Asian J. Chem.* 2015; 27 (10): 3551-3554.
19. Sippl W., Contreras J.M., Parrot I., Rival Y.M., Wermuth C.G. Structure-based 3D QSAR and design of novel acetylcholinesterase inhibitors. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 2001; 15: 395-410.
20. Yoon H.J., Kim H.L., Lee S.K., Kim H.W. Crystal structure of peptide deformylase from *Staphylococcus aureus* in complex with actinonin, a naturally occurring antibacterial agent. *Proteins* 2004; 57: 639-642.

Эффективность и безопасность гамма-интерферона при лечении внебольничной пневмонии: результаты открытого рандомизированного исследования IN/100000-317

Белевский А. С.¹

проф., д.м.н., заведующий, кафедра пульмонологии ФДПО

Бернс С. А.²

проф., д.м.н., профессор, кафедра внутренних болезней

Ларцева О. А.³

заведующая, отделение терапии №1

Мясников А. Л.³

к.м.н., главный врач

Надарая В. М.³

к.м.н., заместитель главного врача по хирургии

Талызин П. А.³

заведующий, отделение реанимации и интенсивной терапии для больных с ОНМК

1 – ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

2 – ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России

3 – ГБУЗ «ГКБ имени М.Е. Жадкевича ДЗМ»

Автор для корреспонденции: Бернс Светлана Александровна; **e-mail:** svberns@yandex.ru.

Финансирование. Исследование проведено при спонсорской поддержке ООО «НПП Фармаклон».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Введение. Гамма-интерферон занимает важное место в патогенезе бактериальных инфекций. Показано, что некоторые микроорганизмы и антибактериальные агенты могут специфически репрессировать синтез эндогенного гамма-интерферона. Следовательно, дополнительное воздействие экзогенного гамма-интерферона может играть роль индуктора иммунной системы в условиях сниженного ответа на антибактериальную терапию. **Цель исследования.** Оценить эффективность и безопасность лекарственного препарата интерферона гамма в составе антибактериальной терапии у пациентов с внебольничной пневмонией. **Материалы и методы исследования.** Открытое рандомизированное контролируемое исследование в параллельных группах. Исследуемая группа пациентов получала в дополнение к базовой антибактериальной терапии гамма-интерферон, контрольная группа пациентов получала комбинированную антибактериальную терапию: цефтриаксон и азитромицин. **Результаты исследования и обсуждение.** Из 114 рандомизированных пациентов 110 полностью завершили исследование. Фактическое распределение пациентов выглядело следующим образом: 54 пациента – в исследуемой группе и 60 пациентов – в контрольной группе. Средняя длительность госпитализации в контрольной группе была достоверно более продолжительной почти на двое суток по сравнению с исследуемой. Аналогичная тенденция отмечена при анализе в субпопуляции бактериорезистентных пациентов, хотя по причине малой выборки пациентов не было достигнуто статистически значимых различий между группами. Анализ показателей изменения шкалы Борга относительно Визита скрининга показал статистически значимые отличия между группами в пользу исследуемой. К 8-10-му дням терапии снижение суммарного балла по шкале BCSS также достигало

статистически значимых различий между группами в пользу исследуемой. В исследуемой группе также наблюдалась значимо большая динамика снижения уровня лейкоцитов. Остальные критерии оценки эффективности не показали статистической значимости различий между группами. По проявлению нежелательных реакций обе группы были сходны и статистически не различались. **Выводы.** Результаты исследования уверенно продемонстрировали клиническую эффективность и безопасность гамма-интерферона в составе антибактериальной терапии у пациентов с внебольничной пневмонией, в том числе у пациентов с бактериологически установленной резистентностью возбудителя заболевания. Применение гамма-интерферона сопровождалось достоверным сокращением периода болезни и длительности госпитализации.

Ключевые слова: гамма-интерферон, антибиотикотерапия, внебольничная пневмония, бактериальная устойчивость, цефтриаксон, азитромицин, уровень лейкоцитов

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-4-110-125

Для цитирования: Белевский А. С., Бернс С. А., Ларцева О. А., Мясников А. Л., Надарая В. М., Талызин П. А. Эффективность и безопасность гамма-интерферона при лечении внебольничной пневмонии: результаты открытого рандомизированного исследования IN/100000-317. *Медицина* 2019; 7(4): 110-125

Введение

Иммунный ответ организма является сложным многоэтапным биологическим процессом [8,24]. Раскрытие и понимание механизмов иммунологических реакций лежит в основе принципов антибактериальной терапии [5,6,9,11,13,19]. Анализ результатов исследований говорит о том, что гамма-интерферон занимает важное место в патогенезе бактериальных инфекций [17,18,21,26,27,29,33,35,38]. Показано, что некоторые микроорганизмы и антибактериальные средства могут специфически репрессировать синтез эндогенного гамма-интерферона [12,16,23,30,31].

Гипотеза исследования IN/100000-317 предполагала, что добавление гамма-интерферона к антибактериальной терапии повышает эффективность лечения пациентов с внебольничной пневмонией и снижает вероятность её неэффективности при наличии резистентности патогенного штамма возбудителя.

Основной целью исследования была оценка эффективности и безопасности препарата Ингарон® в составе антибактериальной терапии у взрослых пациентов с внебольничной пневмонией, заболевших в период эпидемиологического подъёма заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями.

Материалы и методы исследования

Открытое одноцентровое рандомизированное контролируемое в двух параллельных группах исследование проведено на базе ГБУЗ «ГКБ имени М.Е. Жадкевича ДЗМ» в период с 2017 года по 2019 год.

С целью снизить риск возникновения систематических ошибок дизайн исследования подразумевал процедуру блочной рандомизации.

Каждому пациенту после рандомизации выдавался дневник со шкалами BCSS для ежедневной самостоятельной оценки кашля и мокроты. Первоначальная оценка эффективности терапии проводилась по истечении двух суток от начала терапии. Ежедневно измерялись жизненно важные показатели, а также уровень сатурации крови. Забор мокроты для выполнения бактериологического исследования и анализа на чувствительность к антибиотикам выполнялся в течение первых трех дней с момента включения в исследование. При анализе данных были использованы стандартные критерии оценки бактериологической эффективности: эрадикация (элиминация); предполагаемая эрадикация; персистирование; эрадикация с колонизацией; суперинфекция; не определено. [22]. Положительным бактериологическим эффектом считали случаи эрадикации, в том числе предполагаемой, а также персистирования (при условии положительного клинического эффекта). Период наблюдения пациентов составил 30 дней.

В исследование были включены пациенты с внебольничной пневмонией, госпитализированные в терапевтический стационар по клиническим показаниям, отвечающие следующим критериям включения/невключения (Таблица 1).

Таблица 1. Критерии включения/невключения

№	Критерии включения	Критерии неключения
1.	Пациенты стационарного отделения обоего пола в возрасте от 18 до 60 лет.	Повышенная индивидуальная чувствительность к интерферону гамма, препарату Ингарон® и/или вспомогательным веществам, входящим в состав препарата Ингарон® или препаратов используемой антибактериальной терапии.
2.	Подтвержденный диагноз – внебольничная пневмония (возбудитель не уточнен) неосложнённого типичного течения без дыхательной недостаточности и длительностью симптомов не более 14 дней.	Применение иммуномодулирующей, иммуностимулирующей или иммунодепрессивной терапии позднее, чем за 1 месяц до включения в исследование.
3.	Класс риска летального исхода I-II по шкале Fine.	Бронхиальная астма и/или ХОБЛ.
4.	Наличие добровольно подписанного пациентом Информированного согласия.	Застойная сердечная недостаточность.
5.		Острые заболевания желудочно-кишечного тракта или иные патологии, которые могут повлиять на абсорбцию, распределение, метаболизм или выведение лекарственных препаратов.
6.		Хронические заболевания печени и/или почек или иные патологии, которые могут повлиять на абсорбцию, распределение, метаболизм или выведение лекарственных препаратов.

7.		Онкологические заболевания, аутоиммунные, иммуносупрессивные состояния в настоящее время или по данным анамнеза.
8.		Цереброваскулярная патология.
9.		Сахарный диабет.
10.		Беременность или период лактации.
11.		Индекс курения более 10 пачка/лет.
12.		Данные о тяжёлых нервных или психических заболеваниях, в том числе в анамнезе.
13.		Нарушение сознания.
14.		Участие пациента в других исследованиях с применением лекарственных препаратов или иных методов терапии, в том числе клинических, в настоящее время или позднее, чем за 1 месяц до включения в исследование.

Препаратами базовой терапии были «Цефаксон» (1 г пор. фл. №1 производства Люпин Лтд.) и препарат «Азитромицин» (500 мг капс. уп. №3 производства ООО Производство медикаментов) [2,10,14,15,20,28,32,36]. Длительность базовой терапии устанавливалась индивидуально.

Исследуемая группа пациентов получала в дополнение к стандартной антибиотикотерапии препарат Ингарон®, лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения 100 000 МЕ (производства ООО «НПП Фармаклон»), содержащий в качестве активного компонента интерферон гамма человеческий рекомбинантный. Препарат назначался внутримышечно 100 000 МЕ один раз в сутки ежедневно в течение 5 дней.

Оценка эффективности включала сравнительный анализ времени до клинической стабилизации состояния пациентов, изменений уровней лейкоцитов, сатурации кислорода крови, результатов оценки по шкалам Борга (Borg Scale) и BCSS, инфильтратов в лёгких по данным рентгенографии, посева мокроты. Дополнительно в рамках данного исследования был проведен сравнительный анализ длительности госпитализации пациентов двух групп.

Клинической стабилизацией считалось состояние пациента, отвечающее следующим требованиям: ЧСС <100 уд./мин, ЧД <24 дых./мин, АД систолическое $\geq$ 90 мм рт.ст., уровень сатурации крови $\geq$ 90%. Время до клинической стабилизации оценивалось как день, в который происходила стабилизация пациента с начала госпитализации.

Оценка безопасности проведена на основании жалоб пациента, данных физикального осмотра, оценки лабораторных и жизненно важных показателей, а также результатов ЭКГ [7].

Жалобы на симптомы интоксикации организма, такие как: головная боль, головокружение, слабость, повышение температуры тела и т.д., – которые характерны для течения основного заболевания, не регистрировались в качестве нежелательных явлений и учитывались при оценке общего состояния пациента для анализа эффективности терапии.

Из 114 рандомизированных пациентов, 4 досрочно выбыли из исследования. Данные по досрочно выбывшим пациентам были исключены из анализируемой популяции. Расчет необходимого размера выборки был выполнен с помощью программы PASS 13.0. Исследование планировалось при мощности 80% и одностороннем уровне статистической значимости 0,05. При проведении статистического анализа были изучены данные по всем пациентам, завершившим исследование без значительных отклонений от Протокола. Для анализа данных были использованы стандартные методы, доступные в программе Stata 14 [37].

Для численных показателей демографических и антропометрических данных, жизненно важных показателей, а также численных параметров эффективности были вычислены: число непропущенных значений (N); минимальное значение (Min); максимальное значение (Max); арифметическое среднее (Mean); стандартное отклонение (SD); 95 % доверительный интервал (ДИ) для среднего; медиана (Me); межквартильный размах (IQR). Для качественных переменных было приведено абсолютное количество в формате n/N, а также доля (%). При анализе количественных данных было проведено предварительное тестирование переменных на нормальность распределения с помощью теста Шапиро-Уилка, а также теста на асимметрию и эксцесс с указанием значения p при тестировании нулевой гипотезы о нормальном распределении переменной. В случае нормального распределения внутригрупповое сравнение изменения параметров проводилось помощью парного t-теста. При значительном отклонении от нормальности ($p < 0,05$) использован непараметрический тест Уилкоксона. Межгрупповое сравнение базовых количественных характеристик проведено с помощью t-теста (или теста Манна-Уитни) в зависимости от типа распределения данных. Для анализа динамики количественных показателей на различных визитах использовался тест Фридмана. В случае выявления статистически значимых различий последующие (post-hoc) попарные сравнения данных соответствующих визитов с данными на визите скрининга проводились с помощью критерия Уилкоксона. Для категориальных применен χ^2 -критерий или точный тест Фишера, если ожидаемая частота в какой-либо из ячеек была менее 5. Во всех тестах использован уровень значимости 0,05. Поправка на множественность сравнения не вводилась.

Данное исследование проведено в соответствии с Протоколом исследования, стандартом специализированной медицинской помощи при пневмонии средней степени тяжести (2013), Хельсинкской Декларацией (ICH Harmonized Tripartite Guideline for GCP) и актуальными локальными регуляторными требованиями (ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика», Приказ Минздрава РФ от 01.04.2016 №200н «Об

утверждении правил надлежащей клинической практики»), а также согласно принципам Локального этического комитета, сопровождавшего данное исследование. Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ГБУЗ «ГКБ имени М.Е. Жадкевича ДЗМ».

Результаты и обсуждение

В исследовании приняли участие 114 пациентов мужского и женского пола в возрасте от 18 до 69 лет. Ниже приведена описательная статистика демографических и антропометрических характеристик пациентов (Таблица 2).

Таблица 2. Демографическая и биометрическая характеристика пациентов

Параметр	Исследуемая группа	Контрольная группа
Возраст, лет	40,9 ± 14,7	41,9 ± 13,5
Масса тела, кг	76,5 ± 17,5*	83,9 ± 19,7*
Рост, см	172,5 ± 10,1	174,8 ± 10,6
ИМТ, кг/м ²	25,64 ± 5,01	27,37 ± 6,11

*установлены статистически значимые различия

Межгрупповое сравнение количественных базовых характеристик не выявило статистически значимых отличий между группами ($p > 0,05$) по возрасту и ИМТ. Достоверная разница в массе тела не была принята во внимание. В исследуемую группу было рандомизировано 30 мужчин (55,6%) и 24 женщины (44,4%), тогда как в контрольной группе соотношение мужчин и женщин составило 41 (68,3%) и 19 (31,7%) соответственно. Межгрупповое сравнение распределения пациентов по полу не выявило статистически значимых отличий между группами ($p = 0,160$), так же, как и по статусу курения ($p = 0,388$; Таблица 3).

Таблица 3. Распределение пациентов по статусу курения

Статус курения	Исследуемая группа n=54	Контрольная группа n=60	Суммарно n=114	P(χ^2)
Курит, %	25,9	33,3	29,8	0,388
Не курит, %	74,1	66,7	70,2	

В обеих группах наиболее распространенным (43,9%) был диагноз правосторонней внебольничной пневмонии. Зарегистрированы редкие случаи верхнедолевой, среднедолевой, нижнедолевой полисегментарной и сегментарной пневмонии. У трех пациентов (5,7%) в исследуемой группе и у шести пациентов (10,2%) в контрольной группе было зафиксировано наличие осложнений основного заболевания. Также у двух пациентов в каждой из групп отмечалось наличие дыхательной недостаточности. Средние значения длительности возникновения симптомов составили $7,2 \pm 5,4$ дней – в

исследуемой группе и $5,8 \pm 4,1$ дней в контрольной группе. Статистически значимых отличий по вышеуказанным характеристикам между группами не выявлено.

Ниже представлены данные по результатам бактериального посева на визите скрининга (Таблица 4).

Таблица 4. Данные по наличию бактериорезистентности на скрининге

Статус бактериорезистентности	Исследуемая группа n=54	Контрольная группа n=60	Суммарно n=114	P(χ^2)
Чувствительность (S+), %	75,9	81,7	79,0	0,453
Резистентность (R+), %	18,5	21,7	20,2	0,676

У 10 пациентов исследуемой группы и у 13 пациентов контрольной группы была выявлена резистентность бактерий к антибиотикам цефтриаксон и/или азитромицин. Данные пациенты были включены в подгруппу R+ (бактериорезистентные пациенты). Наиболее часто встречающимися патогенами были бактерии рода *Streptococcus*¹ и *Staphylococcus*². Статистически значимых отличий между группами по исходному статусу бактериорезистентности, а также по частоте встречаемости различных патогенных микроорганизмов по результатам первой пробы не выявлено ($p > 0,05$).

Анализ данных по жизненно важным показателям, результатам физикального осмотра и сопутствующим заболеваниям, шкалам FINE и Borg, рентгенографии на Визите скрининга также показал отсутствие статистически значимых отличий между группами. Длительность участия каждого пациента в исследовании составила в среднем 30 дней.

Оценка эффективности

В контрольной группе все пациенты были стабилизированы к 7-м суткам в группе контроля и к 5-м суткам в группе исследования. Доля нестабильных пациентов в первые сутки терапии в исследуемой группе снижалась до значения менее 25%, что наблюдалось в контрольной группе только на следующий день. Аналогичная тенденция отмечена при анализе в субпопуляции бактериорезистентных пациентов.

К 10-му дню терапии доля госпитализированных пациентов в исследуемой группе резко снижается приблизительно до 30%, в то время как в контрольной группе около половины больных по-прежнему остаются в стационаре. Выявлены статистически значимые различия между двумя группами ($p=0.034$) по данному параметру. Средняя длительность госпитализации в контрольной группе составила 11,5 дней, в исследуемой группе – 9,8 дней. Таким образом, при применении исследуемого препарата достигается сокращение

¹ *Streptococcus mitis, salivarius, oralis, pneumonia, pyogenes, parasanguinis, sanguinis, anginosus*

² *Staphylococcus aureus, saprophyticus, haemolyticus*

госпитализации на 15%. Аналогичная тенденция отмечена при анализе в субпопуляции бактериорезистентных пациентов, хотя по причине малой выборки пациентов не было достигнуто статистически значимых различий между группами.

Ниже в таблице 5 представлены результаты сравнительной оценки динамики изменения показателей эффективности в двух группах по окончании терапии относительно Визита скрининга.

Таблица 5. Динамика изменений показателей эффективности в двух группах

Параметр	Исследуемая группа	Контрольная группа	p
Уровень SpO ₂ , %	1,5 ± 2,1	1,3 ± 2,7	0,802
Шкала Борга, баллы	-0,1 ± 0,3	0,0 ± 0,2	0,0326*
BCSS, баллы	-5,6 ± 2,6*	-4,1 ± 2,7*	0,0367*
Объем инфильтратов на рентгенограмме, %	90,4	82,8	0,051
Уровень лейкоцитов, 10 ⁹ кл/л	-2,64 ± 3,30*	0,19 ± 8,67*	0,0266*

*установлены статистически значимые (<0,05) различия между группами

Анализ показателей изменения шкалы Борга на различных Визитах относительно Визита скрининга показал статистически значимое снижение в обеих группах, начиная с Визита 2. При этом к Визиту 4 наблюдались статистически значимые отличия между группами (p=0,0326) в пользу исследуемой группы, в которой отмечено более выраженное падение по данному показателю. На Визите 5 все пациенты в обеих группах отмечали отсутствие жалоб на одышку.

Аналогично был проведен анализ динамики показателей шкалы BCSS. Была отмечена тенденция к более быстрому снижению показателей в исследуемой группе. К завершению периода наблюдения (8-10-му дню терапии – Визит 4) снижение суммарного балла достигало статистически значимых различий между группами (p=0,0367). Так, среднее снижение баллов в контрольной группе составило -4,1 ± 2,7, а в исследуемой группе – -5,6 ± 2,6, что было статистически значимым.

По результатам оценки объема инфильтратов в легких по данным рентгенограммы в двух исследуемых группах пациентов не отмечено достоверных изменений между группами (p=0,051). Для большей части пациентов в обеих группах отмечалась положительная динамика инфильтративного затемнения на Визите 4 с некоторым перевесом в пользу исследуемой группы, в которой положительная динамика отмечена для 90,4% пациентов (vs. 82,8% в контрольной группе).

Наблюдалась значимо большая (p=0,0266) динамика снижения уровня лейкоцитов к Визиту 4 относительно визита скрининга в исследуемой группе по сравнению с

контрольной группой³. Так, среднее снижение уровня лейкоцитов в контрольной группе составило $0,17 \pm 8,45 \cdot 10^9$ кл/л, а в исследуемой группе – $-2,64 \pm 3,30 \cdot 10^9$ кл/л, что было статистически значимым.

Полная эрадикация (элиминация), в том числе предполагаемая, была несколько чаще достигнута в исследуемой группе по сравнению с контрольной группой. Персистирование наблюдалось в 2 раза чаще в исследуемой группе, при этом чаще всего отмечалась стабилизация роста бактерий или снижение титра микроорганизмов (частичная эрадикация); в контрольной группе в большинстве случаев персистирования наблюдался рост количества выделенных бактерий. Эрадикация с колонизацией встречалась в 4 раза чаще в контрольной группе (Таблица 6).

Таблица 6. Динамика эрадикации бактерий в обеих группах

Динамика	Исследуемая группа	Контрольная группа
Эрадикация, в т.ч. предполагаемая	36/54 (67%)	38/60 (63%)
Персистирование	8/54 (15%)	4/60 (7%)
Эрадикация с колонизацией	3/54 (6%)	14/60 (23%)
Суперинфекция	0/54 (0%)	0/60 (0%)
Не определено	7/54 (13%)	4/60 (7%)

Оценка безопасности

По проявлению нежелательных реакций обе группы были сходны и статистически не различались ($p=0,590$). Серьезных нежелательных явлений в ходе исследования не зарегистрировано.

Обсуждение результатов

Анализ на сопоставимость двух групп выявил достоверную разницу по массе тела ($p=0,0462$). При этом статистически значимых отличий между группами ($p>0,05$) по интегральному параметру «индекс массы тела» найдено не было, поэтому данный фактор не был принят во внимание.

Для большинства пациентов стабилизация состояния наблюдалась уже в первые сутки госпитализации, либо они исходно поступали в клинически стабильном состоянии. Тем не менее, в группе контроля отмечен более длительный период стабилизации пациентов по

³ Относительное снижение зарегистрировано в рамках референсных норм локальной контрольно-диагностической лаборатории.

сравнению с исследуемой группой (на 2 дня). Межгрупповое сравнение данных по уровням сатурации крови также не выявило статистически значимых отличий ни в одной из анализируемых временных точек (с 1-го по 12-й день терапии). По всей видимости, это также связано с тем, что для большинства пациентов показатели уровня сатурации крови находились в пределах нормальных значений уже на момент начала терапии, то есть пациенты были исходно клинически стабильны, и пневмония не сопровождалась дыхательной недостаточностью.

Среди прочих показателей эффективности терапии отмечено статистически значимое ($p < 0,05$) снижение уровня лейкоцитов к концу курса стационарного лечения для пациентов исследуемой группы в сравнении с контрольной группой. При этом клинически значимых изменений показателей общего анализа крови и других смещений лейкоцитарной формулы не установлено. Возможно, данное явление связано с относительным снижением количества эозинофилов. Известно, что любой инфекционный процесс сопровождается дисбалансом продукции цитокинов [4,5,35]. Поскольку цитокины, отвечающие за клеточно-опосредованный иммунный ответ – такие как интерферон гамма – способны смещать равновесие со стороны гуморального иммунитета, активируя Т-лимфоциты 1-го типа (Th1), они могут вызывать деактивацию лейкоцитов, в частности, эозинофилов, и приводить к снижению уровня данных клеток в крови [1,24,25]. В исследованиях показана обратная корреляционная зависимость между уровнями гамма-интерферона и эозинофилов [19,34]. Также есть сведения о том, что эозинофилия и лейкоцитоз ассоциированы с повреждением тканей и более тяжелым протеканием инфекционных заболеваний [1,3]. В настоящем исследовании относительное снижение уровня лейкоцитов в исследуемой группе в сравнении с контрольной сопровождалось более эффективным лечением пациентов и сокращением сроков госпитализации, что подтверждает имеющиеся в литературе данные.

Выводы

Результаты настоящего открытого рандомизированного контролируемого исследования показали клиническую эффективность гамма-интерферона в составе антибактериальной терапии при лечении внебольничной пневмонии, в том числе вызванной резистентными штаммами. Применение препарата Ингарон® в комплексной терапии внебольничной пневмонии сопровождается достоверным сокращением периода болезни и госпитализации. Отмечена высокая безопасность терапии препаратом Ингарон®, что позволяет рекомендовать его для широкого применения в клинической практике.

Список литературы

1. Ахнаев Э.Х., Чучалин А.Г. Легочные эозинофилии: диагностика, подходы к терапии. *Пульмонология* 2012; (4): 106-15.
2. Денисов И.Н. и др. Внебольничная пневмония: руководство для врачей общей практики (семейных врачей). 2014.
3. Енисеева Е.С., Орлова Г.М., Сараева Н.О., Смолькова Л.Г. Ассоциированные с эозинофилией заболевания и расстройства. *Сибирский медицинский журнал* 2006; (6): 14-20.
4. Колобовникова Ю.В., Уразова О.И., Новицкий В.В., Воронкова О.В., Михеева К.О. и др. Показатели клеточного и гуморального иммунного ответа при туберкулезе легких, сопровождающемся эозинофилией. *Бюллетень сибирской медицины* 2012; (1): 39-45.
5. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. том 1. Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
6. Мешкова Р.Я. Руководство по иммунопрофилактике для врачей. Смоленская государственная медицинская академия, 1998.
7. Национальный стандарт РФ. Оценка клинических данных по безопасности: терминология и стандарты экспресс-отчетности. 2009.
8. Орлов Р.С., Ноздрачев А.Д. Нормальная физиология: учебник. 2-е изд., исправл. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
9. Пашков Е., Караулов А., Быков С., Корн М., Быков А. и др. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. М.: Медицинское информационное агентство, 2008.
10. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. М.: НИИЛХ СГМА, 2002.
11. Прозоркина Н.В., Рубашкина Л.А. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии: учебное пособие для средних специальных медицинских учебных заведений. Ростов-на-Дону: Феникс, 2002.
12. Ризопулу А.П., Гариб Ф.Ю. Взаимодействия патогенных бактерий с врожденными иммунными реакциями хозяина. *Инфекция и иммунитет* 2012; 2(3): 581-96.
13. Соловьева А.С. Антибактериальный иммунитет. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания* 2015; (58): 115-20.
14. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. М.: 2014.
15. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С. и др. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия* 2006; 8(1): 54-86.
16. Brooks B.M., Hart C.A., Coleman J.W. Differential effects of beta-lactams on human IFN-gamma activity. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 1122-5.
17. Dalton D.K., Pitts-Meek S., Keshav S., Figari I.S., Bradley A. et al. Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon-gamma genes. *Science* 1993; 259: 1739-42.
18. Eddens T., Kolls J.K. Host defenses against bacterial lower respiratory tract infection *Curr Opin Immunol* 2012; 24(4): 424-30.

19. Fortes A., Pereira K., Antas P.R.Z., Franken C.L.M.C., Dalcolmo M. et al. Detection of in vitro interferon- γ and serum tumour necrosis factor- α in multidrug-resistant tuberculosis patients. *Clin Exp Immunol* 2005; 141(3): 541-8.
20. Garcia Vazquez E., Mensa J., Martinez J.A. et al. Lower mortality among patients with community-acquired pneumonia treated with a macrolide plus a beta-lactam agent versus a beta-lactam alone. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 190-5.
21. Gattoni A., Parlato A., Vangieri B., Bresciani M., Derna R. Interferon-gamma: biologic functions and HCV therapy (type I/II) (1 of 2 parts) *Clin Ter* 2006; 157: 377-86.
22. Gilbert D.N., Beam T.R., Kunin C.M. The implications for Europe of revised FDA guidelines for clinical trials with anti-infective agents. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9 (7): 552-8.
23. Harding C.V., Boom W.H. Regulation of antigen presentation by Mycobacterium tuberculosis: a role for Toll-like receptors. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8: 296-307.
24. Janeway C.A. Jr., Travers P., Walport M. et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science, 2001.
25. John B., Rajagopal D., Pashine A., Rath S., George A. et al. Role of IL-12-independent and IL-12-dependent pathways in regulating generation of the IFN γ component of T cell responses to Salmonella typhimurium. *J Immunol* 2002; 169: 2545-52.
26. Koh W.J., Kwon O.J., Suh G.Y., Chung M.P., Kim H. et al. Six-month therapy with aerosolized interferon-gamma for refractory multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *J Korean Med Sci* 2004; 19(2): 167-71.
27. Milanés-Virelles M.T., García-García I., Santos-Herrera Y., Valdés-Quintana M., Valenzuela-Silva C.M. et al. MACGAM Study Group. Adjuvant interferon gamma in patients with pulmonary atypical Mycobacteriosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *BMC Infect Dis* 2008; 8: 17. doi: 10.1186/1471-2334-8-17.
28. Nie W., Li B., Xiu Q. β -Lactam/macrolide dual therapy versus β -lactam monotherapy for the treatment of community-acquired pneumonia in adults: a systematic review and meta-analysis. *J Anti-microb Chemother* 2014; 69(6): 1441-6.
29. Onyeji C.O., Bui K.Q., Nicolau D.P., Nightingale C.H., Bow L. et al. Influence of adjunctive interferon-gamma on treatment of gentamicin- and vancomycin-resistant Enterococcus faecalis infection in mice. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 12(4): 301-9.
30. Parnham M.J. Immunomodulatory effects of antimicrobials in the therapy of respiratory tract infections. *Curr Opin Infect Dis* 2005; 18: 125-31.
31. Pinheiro R.O., Oliveira E.B., Santos G., Sperandio da Silva G.M., Andrade Silva B.J. et al. Different immunosuppressive mechanisms in multi-drug-resistant tuberculosis and non-tuberculous mycobacteria patients. *Clin Exp Immunol* 2013; 171(2): 210-9.
32. Pneumonia in adults: diagnosis and management. Clinical guideline [CG191], 2014.
33. Razaghi A., Owens L., Heimann K. Review of the recombinant human interferon gamma as an immunotherapeutic: Impacts of production platforms and glycosylation. *J Biotech* 2016; 240: 48-60.
34. Rubins J.B., Pomeroy C. Role of gamma interferon in the pathogenesis of bacteremic pneumococcal pneumonia. *Infect. Immun* 1997; 65(7): 2975-7.
35. Shtrichman R., Samuel C.E. The role of gamma interferon in antimicrobial immunity. *Current Opinion in Microbiology* 2001; 4: 251-9.

36. Skalsky K., Yahav D., Lador A., Eliakim-Raz N., Leibovici L. et al. Macrolides vs. quinolones for community-acquired pneumonia: meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19(4): 370-8. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03838.x.
37. Stata Statistical Software: Release 14. College Station T: SL, 2.
38. Steimle V., Siegrist C.A., Mottet A., Lisowska-Groszpiere B., Mach B. Regulation of MHC class II expression by interferon-gamma mediated by the transactivator gene CIITA. *Science* 1994; 265(5168): 106-9.

The efficacy and safety of gamma-interferon in the treatment of community-acquired pneumonia: results of the open randomized trial IN/100000-317

Belevsky A. S.¹

Doctor of Medicine, Professor, Head, Chair for Pulmonology, Faculty of Additional Professional Education

Berns S. A.²

Doctor of Medicine, Professor, Chair for Internal Medicine

Lartseva O. A.³

Head, Therapy Department №1

Myasnikov A. L.³

MD, PhD, Head Physician

Nadaraya V. M.³

MD, PhD, Deputy Chief Physician for Surgery

Talyzin P. A.³

Head, Intensive Care Unit for CVA Patients

1 – Pirogov Medical University, Moscow, Russian Federation

2 – A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

3 – M.E. Zhadkevich City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Svetlana Berns; **e-mail:** svberns@yandex.ru

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

Funding. The study was sponsored by Pharmaclon LLC.

Abstract

Introduction. Gamma-interferon plays an important role in the pathogenesis of bacterial infections. It was shown that some microorganisms, as well as the use of antibiotics, can specifically repress the synthesis of endogenous gamma-interferon. Therefore, the additional effect of exogenous gamma-interferon can play the role of the immune system inducer in a reduced response to antibiotic therapy conditions. **Objective.** To evaluate the efficacy and safety of gamma-interferon as part of antibiotic therapy in patients with community-acquired pneumonia. **Materials and methods of research.** Open randomized controlled trial in parallel groups. The studied group of patients received, in addition to the basic antibacterial therapy, gamma-interferon; the control group of patients received the combined antibacterial therapy: ceftriaxone and azithromycin. **Study Results and Discussion.** Of the 114 randomized patients, 110 completed the study. The actual distribution of patients was as follows: 54 patients in the study group and 60 patients in the control group. The average duration of hospital stay in the control group was significantly longer – by almost two days compared with the study group. The similar trend was observed in the subpopulation of bacteria resistant patients, although due to the small sample of patients no statistically significant differences between the groups were demonstrated. Changes in the Borg scale compared to the screening visit showed statistically significant differences between the groups in favor of the study group. By the 8-10th days of therapy, a decrease in the total score on the BCSS scale also reached statistically significant

differences between the groups in favor of the study group. In the study group a significantly greater dynamics of a decrease in the level of leukocytes was also observed. The remaining criteria of effectiveness did not show statistically significant differences between groups. In terms of adverse reactions, both groups were similar and did not differ statistically. Conclusions: The results of the study positively demonstrated clinical efficacy and safety of gamma-interferon as part of antibiotic therapy in patients with community-acquired pneumonia, including patients with bacteriologically confirmed pathogen resistance. The use of gamma-interferon was accompanied by a significant reduction in the length of sickness and the duration of hospital stay.

Key words: gamma-interferon, antibiotic therapy, community-acquired pneumonia, bacterial resistance, ceftriaxone, azithromycin, white blood cell count

References

1. Ahnaev Je.H., Chuchalin A.G. Legochnye eozinofilii: diagnostika, podhody k terapii [Pulmonary eosinophilia: diagnosis, treatment approaches]. *Pul'monologiya [Pulmonology]* 2012; (4): 106-15. (In Russ.)
2. Denisov I.N. et al. Vnebol'nichnaya pnevmoniya: rukovodstvo dlya vrachej obshchej praktiki (semejnyh vrachej) [Community-acquired pneumonia: a guide for general practitioners (family doctors)]. 2014. (In Russ.)
3. Eniseeva E.S., Orlova G.M., Saraeva N.O., Smol'kova L.G. Associirovannye s eozinofiliej zabolevaniya i rasstrojstva [Diseases and disorders associated with eosinophilia]. *Sibirskij medicinskij zhurnal [Siberian medical journal]* 2006; (6): 14-20. (In Russ.)
4. Kolobovnikova Ju.V., Urazova O.I., Novickij V.V., Voronkova O.V., Miheeva K.O. et al. Pokazateli kletochnogo i ghumoral'nogo immunnogo otveta pri tuberkuleze legkih, soprovozhdayushchemsya eozinofiliej [Indicators of cellular and humoral immune response in pulmonary tuberculosis accompanied by eosinophilia]. *Bjulleten' sibirskoj mediciny [Siberian medicine bulletin]* 2012; (1): 39-45. (In Russ.)
5. Medicinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya. tom 1 [Medical microbiology, virology and immunology. Vol. 1.]. V.V. Zverev, M.N. Bojchenko (editors). Moscow: GEOTAR-Media, 2010. (In Russ.)
6. Meshkova R.Ya. Rukovodstvo po immunoprofilaktike dlya vrachej [Immunization Guide for Doctors]. Smolenskaja gosudarstvennaja medicinskaja akademija [Smolensk State Medical Academy], 1998. (In Russ.)
7. Nacional'nyj standart RF. Ocenka klinicheskikh dannyh po bezopasnosti: terminologiya i standarty ekspress-otchetnosti [National Standard of the Russian Federation. Clinical Safety Data Assessment: Terminology and Express Reporting Standards]. 2009. (In Russ.)
8. Orlov R.S., Nozdrachev A.D. Normal'naya fiziologiya: uchebnik. 2-e izd., ispravl. i dop [Normal physiology: tutorial. 2-nd edition, corrected and supplemented]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. (In Russ.)
9. Pashkov E., Karaulov A., Bykov S., Korn M., Bykov A. et al. Atlas po medicinskoj mikrobiologii, virusologii i immunologii [Atlas of Medical Microbiology, Virology and Immunology]. Moscow: Medicinskoe informacionnoe agentstvo, 2008. (In Russ.)
10. Prakticheskoe rukovodstvo po antiinfekcionnoj himioterapii [Practical Guide to Anti-Infectious Chemotherapy]. L.S. Strachunsky, Ju.B. Belousov, S.N. Kozlov (editors). Moscow: NIIAH SGMA, 2002. (In Russ.)
11. Prozorkina N.V., Rubashkina L.A. Osnovy mikrobiologii, virusologii i immunologii: uchebnoe posobie dlja srednih special'nyh medicinskih uchebnyh zavedenij [Fundamentals of Microbiology, Virology and Immunology: study guide for secondary specialized medical educational institutions]. Rostov-na-Dony: Feniks, 2002. (In Russ.)
12. Rizopulu A.P., Garib F.Ju. Vzaimodejstviya patogennyh bakterij s vrozhdennymi immunnymi reakcijami hozyaina [Interactions of pathogenic bacteria with innate host immune responses]. *Infekcija i immunitet [Infection and immunity]* 2012; 2(3): 581-96. (In Russ.)

13. Solov'eva A.S. Antibakterial'nyj immunitet [Antibacterial immunity]. *Bjulleten' fiziologii i patologii dyhanija* [Bulletin of Respiratory Physiology and Pathology] 2015; (58): 115-20. (In Russ.)
14. Chuchalin A.G., Sinopal'nikov A.I., Kozlov R.S., Tjurin I.E., Rachina S.A. Vnebol'nichnaya pnevmoniya u vzroslyh: prakticheskie rekomendacii po diagnostike, lecheniju i profilaktike [Community-acquired pneumonia in adults: practical recommendations for diagnosis, treatment and prevention]. Moscow: 2014. (In Russ.)
15. Chuchalin A.G., Sinopal'nikov A.I., Strachunskij L.S. et al. Vnebol'nichnaya pnevmoniya u vzroslyh: prakticheskie rekomendacii po diagnostike, lecheniju i profilaktike [Community-acquired pneumonia in adults: practical recommendations for diagnosis, treatment and prevention]. *Klinicheskaja mikrobiologiya i antimikrobnaja himioterapija* [Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy] 2006; 8(1): 54-86. (In Russ.)
16. Brooks B.M., Hart C.A., Coleman J.W. Differential effects of beta-lactams on human IFN-gamma activity. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 1122-5.
17. Dalton D.K., Pitts-Meek S., Keshav S., Figari I.S., Bradley A. et al. Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon-gamma genes. *Science* 1993; 259: 1739-42.
18. Eddens T., Kolls J.K. Host defenses against bacterial lower respiratory tract infection *Curr Opin Immunol* 2012; 24(4): 424-30.
19. Fortes A., Pereira K., Antas P.R.Z., Franken C.L.M.C., Dalcolmo M. et al. Detection of in vitro interferon- γ and serum tumour necrosis factor- α in multidrug-resistant tuberculosis patients. *Clin Exp Immunol* 2005; 141(3): 541-8.
20. Garcia Vazquez E., Mensa J., Martinez J.A. et al. Lower mortality among patients with community-acquired pneumonia treated with a macrolide plus a beta-lactam agent versus a beta-lactam alone. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 190-5.
21. Gattoni A., Parlato A., Vangieri B., Bresciani M., Derna R. Interferon-gamma: biologic functions and HCV therapy (type I/II) (1 of 2 parts) *Clin Ter* 2006; 157: 377-86.
22. Gilbert D.N., Beam T.R., Kunin C.M. The implications for Europe of revised FDA guidelines for clinical trials with anti-infective agents. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9(7): 552-8.
23. Harding C.V., Boom W.H. Regulation of antigen presentation by Mycobacterium tuberculosis: a role for Toll-like receptors. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8: 296-307.
24. Janeway C.A.Jr., Travers P., Walport M. et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science, 2001.
25. John B., Rajagopal D., Pashine A., Rath S., George A. et al. Role of IL-12-independent and IL-12-dependent pathways in regulating generation of the IFN-gamma component of T cell responses to Salmonella typhimurium. *J Immunol* 2002; 169: 2545-52.
26. Koh W.J., Kwon O.J., Suh G.Y., Chung M.P., Kim H. et al. Six-month therapy with aerosolized interferon-gamma for refractory multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *J Korean Med Sci* 2004; 19(2): 167-71.
27. Milanés-Virelles M.T., García-García I., Santos-Herrera Y., Valdés-Quintana M., Valenzuela-Silva C.M. et al. MACGAM Study Group. Adjuvant interferon gamma in patients with pulmonary atypical Mycobacteriosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *BMC Infect Dis* 2008; 8: 17. doi: 10.1186/1471-2334-8-17.
28. Nie W., Li B., Xiu Q. β -Lactam/macrolide dual therapy versus β -lactam monotherapy for the treatment of community-acquired pneumonia in adults: a systematic review and meta-analysis. *J Anti-microb Chemother* 2014; 69(6): 1441-6.

29. Onyeji C.O., Bui K.Q., Nicolau D.P., Nightingale C.H., Bow L. et al. Influence of adjunctive interferon-gamma on treatment of gentamicin- and vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* infection in mice. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 12(4): 301-9.
30. Parnham M.J. Immunomodulatory effects of antimicrobials in the therapy of respiratory tract infections. *Curr Opin Infect Dis* 2005; 18: 125-31.
31. Pinheiro R.O., Oliveira E.B., Santos G., Sperandio da Silva G.M., Andrade Silva B.J. et al. Different immunosuppressive mechanisms in multi-drug-resistant tuberculosis and non-tuberculous mycobacteria patients. *Clin Exp Immunol* 2013; 171(2): 210-9.
32. Pneumonia in adults: diagnosis and management. Clinical guideline [CG191], 2014.
33. Razaghi A., Owens L., Heimann K. Review of the recombinant human interferon gamma as an immunotherapeutic: Impacts of production platforms and glycosylation. *J Biotech* 2016; 240: 48-60.
34. Rubins J.B., Pomeroy C. Role of gamma interferon in the pathogenesis of bacteremic pneumococcal pneumonia. *Infect. Immun* 1997; 65(7): 2975-7.
35. Shtrichman R., Samuel C.E. The role of gamma interferon in antimicrobial immunity. *Current Opinion in Microbiology* 2001; 4: 251-9.
36. Skalsky K., Yahav D., Lador A., Eliakim-Raz N., Leibovici L. et al. Macrolides vs. quinolones for community-acquired pneumonia: meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19(4): 370-8. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03838.x.
37. Stata Statistical Software: Release 14. College Station T: SL, 2.
38. Steimle V., Siegrist C.A., Mottet A., Lisowska-Grospierre B., Mach B. Regulation of MHC class II expression by interferon-gamma mediated by the transactivator gene CIITA. *Science* 1994; 265(5168): 106-9.