

с е т е в о й н а у ч н ы й ж у р н а л

НАУЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

R E S E A R C H R E S U L T **T.1, №4(6), 2015.**

МЕДИЦИНА
И ФАРМАЦИЯ

MEDICINE
AND PHARMACY

ISSN 2313-8955

сетевой научный рецензируемый журнал
online scholarly peer-reviewed journal

Сайт журнала:
rr.bsu.edu.ru



Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Свидетельство о регистрации средства массовой информации Эл. № ФС77-55674 от 28 октября 2013 г.

The journal has been registered at the Federal service for supervision of communications information technology and mass media (Roskomnadzor)
Mass media registration certificate El. № FS 77-55674 of October 28, 2013



Том 1, №4(6). 2015

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2014 г.

ISSN 2313-8955



Volume 1, № 4(6). 2015

ONLINE SCHOLARLY PEER-REVIEWED JOURNAL

First published online: 2014

ISSN 2313-8955

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: **Ефремова О.А.**, доктор медицинских наук, профессор
ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА: **Новиков О.О.**, доктор фармацевтических наук, профессор
ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ: **Камышникова Л.А.**, кандидат медицинских наук
РЕДАКТОР АНГЛИЙСКИХ ТЕКСТОВ: **Ляшенко И.В.**, кандидат филологических наук, доцент

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Чурносов М.И., доктор медицинских наук, профессор
Цимбалистов А.В., доктор медицинских наук, профессор
Должиков А.А., доктор медицинских наук, профессор
Ярош А.Л., доктор медицинских наук, доцент
Олейник Н.В., доктор медицинских наук, профессор
Пахомов С.П., доктор медицинских наук, профессор,

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Куликовский В.Ф., доктор медицинских наук, профессор, Россия
Жернакова Н.И., доктор медицинских наук, профессор, Россия
Спичак И.В., доктор фармацевтических наук, профессор, Россия
Олейник Е.А., доктор медицинских наук, профессор, Россия
Кубешова Г., доктор медицинских наук, профессор, Чехия
Лесовой В.Н., доктор медицинских наук, профессор, Украина
Каменов Б., кандидат наук, профессор, Сербия
Павлов Ч.С., доктор медицинских наук профессор, Россия
Павлова Т.В., доктор медицинских наук, профессор, Россия
Гармаш О.И., доктор медицинских наук, профессор, Украина
Настаушева Т.Л., доктор медицинских наук, профессор, Россия
Гольцев А.Н., доктор медицинских наук, профессор, Украина
Гришин И.Н., доктор медицинских наук, профессор, Республика Беларусь
Гостищев В.К., академик РАН, профессор, Россия

EDITORIAL TEAM:

EDITOR-IN-CHIEF[^] **Olga A. Efremova**, Doctor of Medicine sciences, Professor
DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF: **Oleg O. Novikov**, Doctor of of pharmacysciences sciences, Professor
EXECUTIVE SECRETARY: **Ludmila A. Kamyshnikova**, Candidate of Medicine sciences
ENGLISH TEXT EDITOR: **Igor V. Lyashenko**, Ph.D. in Philology, Associate Professor

EDITORIAL BOARD:

Mikhail I. Churnosov, Doctor of of medicine sciences, Professor
Aleksandr V. Tsimbalistov, Doctor of of medicine sciences, Professor
Yuriy I. Zhuravlev, Candidate of of medicine sciences, Professor
Aleksandr A. Dolzhikov, Doctor of of medicine sciences, Professor
Andrey L. Yarosh, Doctor of of medicine sciences, Docent
Natal'ya V. Oleynik, Doctor of of medicine sciences, Professor
Sergey P. Pakhomov, Doctor of of medicine sciences, Professor,

CONSULTING EDITORS:

Vladimir F. Kulikovskiy, Doctor of medicine sciences, Professor, Russia
Nina.I. Zhernakova, Doctor of of medicine sciences, Professor, Russia
Irina V., Spichak, Doctor of pharmacysciences, Professor, Russia
Elena A., Oleynik, Doctor of of medicine sciences, Professor, Russia
Ganna Kubeshova, Doctor of of medicine sciences, Professor, Czech Republic
Vladimir N. Lesovoy, Doctor of of medicine sciences, Professor, Ukraine
Borislav Kamenov, Candidate of medicine sciences, Professor, Serbia
Chavdar S Pavlov, Doctor of of medicine sciences, Professor, Russia
Tatyana V.Pavlova Doctor of of medicine sciences, Professor, Russia
Olga.I. Garmash, Doctor of of medicine sciences, Professor, Ukrain
Tat'yana L. Nastausheva, Doctor of of medicine sciences, Professor, Russia
Anatoliy N. Gol'cev, Doctor of of medicine sciences, Professor Russia
Igor' N. Grishin, Doctor of of medicine sciences, Professor, Republic of Belarus.
Viktor K. Gostishchev, Academician of R.A.M.S., Professor, Russia

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Издатель: НИУ «БелГУ». Адрес издателя: 308015 г. Белгород, ул. Победы, 85. Журнал выходит 4 раза в год

Founder: Federal state autonomous educational establishment of higher professional education «Belgorod State National Research University»

Publisher: Belgorod State National Research University
Address of publisher: 85 Pobeda St., Belgorod, 308015, Russia
Publication frequency: 4 / year

СОДЕРЖАНИЕ

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Губарев Ю.Д., Чефранова Ж.Ю., Яценко Е. А. Клиническая эффективность препарата «Азилект» в терапии вторично-прогрессирующего рассеянного склероза 5

Губарев Ю.Д., Чефранова Ж.Ю., Яценко Е.А. Возможности совместного применения однонаправленных препаратов «Нуклео-ЦМФ форте» и «Пк-мерц» в терапии рассеянного склероза 13

Осипова О.А., Драпкина О.М., Куликовский В.Ф., Ярош А.Л., Осипов П.Г., Клеткина А.С., Плаксина К.Г. Медикаментозная коррекция иммунных нарушений у больных с хронической сердечной недостаточностью при ишемической болезни сердца 19

Яценко Е.А., Губарев Ю.Д., Авдеева И.В., Лысых Е.А., Лапшин Д.Е. Нарушение когнитивных функций у больных с идиопатической симметричной кальцификацией базальных ганглиев 25

Губарев Ю.Д., Яценко Е.А., Авдеева И.В. Особенности течения полинейропатии при периферической Т-клеточной лимфоме на фоне терапии цитостатиками 31

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Комисов А.А., Осипова О.А., Шепель Р.Н., Клеткина А.С. Методика анализа картирования элементного состава ткани миокарда с применением сканирующего трансмиссионного микроскопа 36

Даниленко Л.М. Роль митохондриальных атф-зависимых калиевых каналов в кардиопротекторном эффекте никорандила на модели коронароокклюзионного инфаркта миокарда 40

Прядко А.О., Морозова Е.Н., Заболотная С.В., Михайлик Т. А., Морозов В.Н. Микроскопические особенности буккального эпителия студентов-индусов в НИУ «БелГУ» 45

CONTENTS

CLINICAL MEDICINE

Gubarev Yu.D., Chefranova Zh.Yu., Yatsenko E.A. Clinical efficiency of a preparation of "Azilekt" in therapy primary progressing multiple sclerosis 5

Gubarev Yu.D., Chefranova Zh.Yu., Yatsenko E.A. The therapy of multiple sclerosis with «Nukleo-cmf forte» and «Pk-merz» multidirectional drugs 13

Osipova O.A., Drapkina O.M., Kulikovskii V.F., Yarosh A.L., Osipov P.G., Kletkina A.S., Plaksina K.G. Pharmacological correction of immune disorders in patients with chronic heart failure and ischemic heart disease 19

Yatsenko E.A., Gubarev Yu.D., Avdeeva I.V., Lisich E.A., Lapshin D.E. Cognitive impairment in patients with idiopathic symmetrical calcification of basal ganglia 25

Gubarev Yu.D., Yatsenko E.A., Avdeeva I.V. Peculiarities of polyneuropathy in the peripheral T-cell lymphoma with cytostatics 31

BIOMEDICAL SCIENCES

Komisov A.A.Osipova O.A., Shepel' R.N., Kletkina A.S. Methodology analysis mapping elemental composition of myocardial tissue with a scanning transmission microscopy 36

Danilenko L.M. The role of mitochondrial atp-dependent potassium channels in the cardioprotective effect nicorandila on the model koronarolitikov myocardial infarction 40

Pryadko A.O., Morozova E.N., Zabolotnaya S.V., Mikhailik T.A., Morozov V.N. Microscopic features of buccal epithelium of the indian students studying at belgorod state national research university 45

Асадов Р.И., Морозова Е.Н., Заболотная С.В., Михайлик Т. А., Морозов В.Н. Микроскопические особенности буккального эпителия у курящих студентов индо-дравидийской расы (По Э. Хутону)	50	Asadov R.I., Morozova E.N., Zabolotnaya S.V., Mikhailik T.A., Morozov V.N. Microscopic features of buccal epithelium in smokers students indo-dravidian race (By E. Hooton)	50
Морозов В.Н., Морозова Е.Н. Взаимозависимость между показателями пейеровых бляшек тонкой кишки интактных крыс	54	Morozov V.N., Morozova E.N. The Relationship between parameters of the peyer's patches of the small intestine in intact rats	54
Денисюк Т.А. Эндотелио- и кардиопротективное действие ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы при эндотоксининдуцированной эндотелиальной дисфункции	56	Denisyuk T.A. Endothelio- and cardioprotective effects of HMG-Co-A reductase a in endotoksin-inducing endotelial dysfunction	56
Должиков А.А., Тверской А. В., Бобынцев И.И., Крюков А.А., Белых А.Е. Морфометрическое исследование нейронов гиппокампа при хроническом иммобилизационном стрессе	62	Dolzhikov A.A., Tverskoi A.V., Bobyntsev I.I., Kriukov A.A., Belykh A.E Morphometric study of hippocampal neurons in chronic immobilization stress	58
Гуреев В.В., Мартынова О.В., Анциферова О.Е., Мартынов М.А., Покровская Т.Г., Солгалова А.С., Малородова Т.Н., Локтева Т.И. Correction of adma-induced preeclampsia with use of phosphodiesterase 5 and selective inhibitor of arginase II ZB49-0010	66	Gureev V.V., Martynova O.V., Anciferova O.E., Martynov M.A., Pokrovskaja T.G., Malorodova T.N., Lokteva T.I. Correction of adma-induced preeclampsia with use of phosphodiesterase 5 and selective inhibitor of arginase II ZB49-0010	61
Мартынова О.В., Гуреев В.В., Покровский М.В., Мартынов М.А., Солгалова А.С., Анциферов О.В. Моделирование тотальной ишемии головного мозга у крыс	69	Martynova O.V., Gureev V.V., Pokrovskiy M.V., Martynov M.A., Solgalova A.S., Anciferov O.V. Simulation of total brain ischemia in rats	69
Шабельникова А.С. Фармакологическое preconditionирование никорандилом, как возможность повышения устойчивости тканей сетчатки к ишемии в эксперименте	74	Shabelnikova A.S Pharmacological preconditioning by nicorandil, as the possibility of increasing the stability of tissue of the retina to ischemia in experiment	68
ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА		PREVENTIVE MEDICINE	
Голивец Т.П., Коваленко Б.С. Анализ мировых и российских тенденций онкологической заболеваемости в XXI веке	79	Golivets T.P., Kovalenko B.S., Analysis of world and russian trends in cancer incidence in the twenty-first century	79
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ		PHARMACEUTICAL SCIENCES	
Спичак И.В., Дерезлазова Ю.С., Петровская Т.Ю. Оптимизация информационного обеспечения аптек в области фармацевтической помощи детям с заболеваниями суставов	87	Spichak I.V., Dereglazova Ju. S., Petrovskaya T.Yu. Optimization of information support for pharmacies in the field of pharmaceutical aid to children with arthropathy	87
Спичак И.В., Мурашко Ю.И. Анализ ассортимента российского рынка лекарственных средств для лечения беременных с ОРВИ	91	Spichak I.V., Murashko Yu.I. Market research of russian market of medicinal preparations used in therapeutics of acute respiratory viral infection in pregnant women	91

Новиков О.О., Писарев Д.И., Жилякова Е.Т., Трифонов Б.В., Новикова М.Ю., Корниенко И.В. Перспективы развития натуроцевтики	97	Novikov O.O., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T., Trifonov B.V., Novikova M. Yu., Kornienko I.V. Development prospects of naturotsevtika	97
Спичак И.В., Кухтина О.С., Акулова Н.А. Маркетинговый анализ рынка лекарственных препаратов, применяемых в терапии вегетососудистой дистонии у детей	102	Spichak I.V., Kukhtina O.S., Akulova N.A. Marketing analysis of the market of medicines used in the treatment of dystonia in children	102
Спичак И.В., Лапшина Л.А. Изучение эффективности программы обеспечения необходимыми лекарственными средствами на территории белгородской области	109	Spichak I.V., Lapshina L.A. Studying the efficiency of the essential drugs supply program in Belgorod region	109
Писарев Д.И., Новиков О.О., Корниенко И.В. Оптимизация методов контроля качества лекарственных препаратов стероидной структуры на примере глюкокортикостероидов	113	Pisarev D.I., Novikov O.O., Kornienko I.V. Optimization of methods of quality control drug steroid structure for example glucocorticosteroid	113
Писарев Д.И., Алексеева К.А., Новиков О.О., Корниенко И.В., Севрук И.А. Химическое изучение состава антоцианов травы <i>ocimum BASILICUM</i> L.	119	Pisarev D.I., Alekseeva K.A., Novikov O.O., Kornienko I.V., Sevruk I.A. Chemical study of herbs anthocyanins <i>ocimum BASILICUM</i> L.	119
Селютин О.А., Новиков О.О., Писарев Д.И., Куликова М.Д., Васильев Г.В. Аналитическая характеристика производных сероуглерода	125	Selyutin O.A., Novikov O.O., Pisarev D.I., Kulikova M.D., Vasilyev G.V. Analytical characteristics of carbon disulfide derivatives	125

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА CLINICAL MEDICINE

УДК 616.832

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-5-12

Губарев Ю. Д.¹,
Чефранова Ж. Ю.²,
Яценко Е. А.³

**КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА «АЗИЛЕКТ»
В ТЕРАПИИ ВТОРИЧНО-ПРОГРЕССИРУЮЩЕГО РАССЕЯННОГО
СКЛЕРОЗА**

- 1) кандидат медицинских наук, доцент кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: gubarev@bsu.edu.ru
- 2) доктор медицинских наук, профессор кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: chefranova@bsu.edu.ru
- 3) ассистент кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: yatsenko_ea@bsu.edu.ru

Аннотация. Рассеянный склероз – хроническое мультифакториальное прогрессирующее аутоиммунное заболевание центральной нервной системы, развивающееся в любом возрасте, но преимущественно у молодых людей. Одним из факторов прогрессирования его прогрессирования, наряду с демиелизирующим процессом, является аксональная дегенерация и непосредственная гибель тела нейрона. В настоящее время ведется активный поиск новых препаратов для лечения РС, способных подавлять проапоптотные факторы и активировать антиапоптотные молекулы. В качестве препарата с подобным действием на группе пациентов нами был применен препарат «Азилект» фирмы TEVA, действующий на процесс предотвращения ядерной транслокации глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, активации антиапоптотных молекул, подавление проапоптотных факторов и сохранения потенциала митохондрий. Показано, что назначение препарата «Азилект», в качестве цитопротекторной терапии больным, страдающим вторично-прогрессирующим течением рассеянного склероза, вероятно, способствует повышению эффективности лечения и улучшению качества жизни больных.

Ключевые слова: рассеянный склероз, терапия, азилект, аутоиммунная реакция, демиелизация, аксональная дегенерация, шкала EDSS.

Gubarev Yu. D.¹
Chefranova Zh. Yu.²
Yatsenko E. A.³

**CLINICAL EFFICIENCY OF AZILEKT IN THE THERAPY
OF PRIMARY PROGRESSING MULTIPLE SCLEROSIS**

- 1) PhD in Medicine, Assistant Professor. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: gubarev@bsu.edu.ru
- 2) MD, Professor. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: chefranova@bsu.edu.ru
- 3) Assistant Lecturer. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University E-mail: yatsenko_ea@bsu.edu.ru

Abstract. Multiple sclerosis – the chronic multifactorial progressing autoimmune disease of the central nervous system developing at any age, but mainly in young people. One of the factors of progression, along with the demyelination process is axonal degeneration and imminent death of the cell body. Currently, scientists are actively searching for new drugs for the treatment of MS, the drugs that can inhibit proapoptotic factors and activate the anti-apoptotic molecules. In the

capacity of a drug with similar effects on patients, we used the drug Azilekt (TEVA) which affects the process of preventing the nuclear translocation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, the activation of anti-apoptotic molecules, the suppression of proapoptotic factors and conservation capacity of mitochondria. We have revealed that the use of the drug Azilekt as a cytoprotective therapy in patients suffering from secondary progressive multiple sclerosis is likely to improve the effectiveness of treatment and quality of life of patients.

Key words: multiple sclerosis; therapy; azilekt; autoimmune reaction; demiyelizatsiya; aksonalny degeneration; EDSS scale.

Актуальность. Рассеянный склероз – довольно распространённое заболевание. В мире насчитывается около 2 млн. больных рассеянным склерозом, в России – более 200 тыс. В ряде регионов России заболеваемость рассеянным склерозом довольно высокая и находится в пределах 20 – 40 случаев на 100 тыс. населения. В крупных промышленных районах и городах она выше. В Белгородской области на настоящее время зарегистрировано свыше 600 больных.

Рассеянный склероз обычно возникает в возрасте около тридцати лет, но может встречаться и у детей. Первично-прогрессирующая форма чаще встречается в возрасте около 50-ти лет. Как многие аутоиммунные заболевания, рассеянный склероз чаще встречается у женщин и начинается у них в среднем на 1 – 2 года раньше, в то время как у мужчин преобладает неблагоприятная прогрессирующая форма течения заболевания. У детей распределение по полу может достигать до трех случаев у девочек против одного случая у мальчиков. После 50-летнего возраста соотношение страдающих рассеянным склерозом мужчин и женщин приблизительно одинаковое [4].

Этиология и патогенез. Причина возникновения рассеянного склероза точно не выяснена. На сегодняшний день наиболее общепринятым является мнение, что рассеянный склероз может возникнуть в результате случайного сочетания у данного человека ряда неблагоприятных внешних и внутренних факторов. К неблагоприятным внешним факторам относятся частые вирусные и бактериальные инфекции; влияние токсических веществ и радиация (в т. ч. солнечная); особенности питания; геоэкологическое место проживания, особенно велико его влияние на организм детей; травмы; частые стрессовые ситуации. Генетическая предрасположенность к рассеянному склерозу, вероятно, связана с сочетанием у данного индивидуума нескольких генов, обуславливающих нарушения прежде всего в системе иммунорегуляции [12].

У каждого человека в регуляции иммунного ответа принимает участие одновременно несколько генов. При этом количество взаимодействующих генов может быть большим. Гены, связанные с функционированием иммунной системы, расположены на разных хромосомах. Например, на 6-й хромосоме локализуются локусы генов I и II класса главного комплекса гистосовместимости, гены фактора некроза опухолей, комплемента, транспортных белков, цитохрома 450, гены миелолиногендендроцитарного гликопротеина (МОГ). На 7-й хромосоме – гены b-цепи Т-клеточного рецептора; на 14-й хромосоме – гены a-цепи Т-клеточного рецептора, гены константных и переменных цепей иммуноглобулинов. На 2-й хромосоме – гены рецептора интерлейкина 1, на 18-й – гены основного белка миелина [3].

Для обозначения локусов генов используется специальная номенклатура, унифицированная Всемирной организацией здравоохранения (I. Vodmer и соавт., 1989). По этой номенклатуре локусы генов обозначаются латинскими буквами. Наиболее изученной при аутоиммунных заболеваниях является HLA – система (человеческие лейкоцитарные антигены), а именно – три локуса A, B, C I класса и целый ряд локусов генов II класса, объединённых в области: DR, DQ и DP.

Отмечаются некоторые различия в сочетании частоты экспрессии генов MLA-системы I и II класса в зависимости от этнической принадлежности больных. Например, в США установлена повышенная связь возникновения рассеянного склероза с наличием у больных антигенов B7, DR2, в Центральной России – с локусами A3 и B7, в Сибири – A1, A9, B7 [3].

У европейских народов при рассеянном склерозе наиболее часто определяется гаплотип DR2 (DW2) DRB1*1501 – DQA1*0102 – DQB1*0602 MLA-системы II класса.

В то же время имеются сообщения об отсутствии у больных рассеянным склерозом локусов, выявляемых у здоровых людей, так называемых протективных локусов. Установлено также присутствие и различное сочетание тех или

иных генетических маркеров, что может предопределять не только возможность возникновения заболевания, но и отражаться на особенностях патогенеза, иммунорегуляции у больных рассеянным склерозом типа клинического течения болезни. Например, наличие маркеров DR3 и ФНО а 9 связано с неблагоприятным течением рассеянного склероза, ФНО а 7 – с клинически более мягким проявлением заболевания [10].

Исследованиями последних лет подтверждено обязательное участие иммунной системы – первичное или вторичное – в патогенезе рассеянного склероза. Нарушения в иммунной системе, как уже упоминалось, связаны с особенностями набора генов, контролирующих иммунный ответ. У больных рассеянным склерозом разных национальностей и этнических групп это генетическое своеобразие может обуславливать особенности дебюта заболевания, клинических форм типа лечения, длительности и исхода заболевания.

Для того, чтобы понимать патогенез рассеянного склероза, а также целесообразность и смысл назначения иммуномодулирующих препаратов, необходимо понимать некоторые положения о строении и функционировании иммунной системы.

Иммунная система организма человека и животных служит для защиты от проникновения и влияния внешних или образующихся в самом организме чужеродных структур, называемых антигенами. Конечной функцией иммунной системы является нейтрализация или удаление антигенов посредством целого ряда сложных иммунных реакций, включающих такие этапы, как специфическое своевременное распознавание антигена, выработка в ответ специальных белковых молекул, называемых иммуноглобулинами или антителами, взаимодействие этих антител с антигеном и удаление его из организма. Иммунный ответ может быть немедленным или отсроченным на определённый период времени, необходимый для выработки и накопления антител.

Иммунная система представляет собой сложную систему, объединяющую так называемые первичные лимфоидные органы – костный мозг и тимус (вилочковая железа)- и множество вторичных лимфоидных органов. В костном мозге происходит созревание лимфоцитов, превращение недифференцированных стволовых клеток в В-лимфоциты. Тимус представляет собой орган,

обеспечивающий специфическую дифференциацию.

К периферическим лимфоидным органам относятся лимфатические узлы, пейеровы бляшки кишечника, белая пульпа селезенки и клетки крови – лимфоциты, макрофаги, а также специализированные клетки, сходные с макрофагами и расположенные в ряде других внутренних органов. В периферических или вторичных органах иммунной системы происходит антигенспецифическая стимуляция и активация лимфоцитов. Активированные иммунокомпонентные клетки – лимфоциты проникают в место нахождения антигена, они выделяют ряд растворимых веществ, называемых цитокинами, лимфокинами или монокинами, посредством влияния которых на антиген и другие клетки иммунной системы запускается целый каскад сложных иммунных реакций, направленных на инактивацию или разрушение антигена. Когда отпадает необходимость разрушения антигена, включается другая регуляторная система, активирующая механизмы прекращения иммунной реакции.

Но в иммунологическом анализе крови больного должно быть отражено содержание и процентное соотношение иммунокомпетентных клеток и их субпопуляций. Анализ должен оцениваться клиническим иммунологом.

Важное значение в аутоиммунных реакциях имеют медиаторы иммунного ответа или цитокины. Эти вещества вырабатываются иммунокомпетентными клетками в процессе иммунного ответа. К ним относятся интерлейкины (ИЛ), фактор некроза опухолей альфа (ФНО-а), интерфероны: а, b, g, трофические ростовые факторы (ТРФ) и другие. В настоящее время в повседневной медицинской практике исследование этих показателей используется мало, в основном определение продукции цитокинов иммунокомпетентными клетками является предметом научных исследований. Считается, что повышение продукции таких цитокинов, как ФНО-а, интерферон, ИЛ-1, 2 и 6 является признаком активации патологического процесса при рассеянном склерозе. А интерлейкины ИЛ-4, 10 ТРФ являются протективными цитокинами [10].

Наибольшее распространение получила аутоиммунная теория возникновения рассеянного склероза. Несомненно, в развёрнутой стадии болезни аутоиммунные реакции играют ведущую роль. Однако до сих пор нет ответа на вопрос: первичны или вторичны эти реакции. Если

воспаление в ткани мозга и демиелинизация являются следствием иммунологической реакции на антигены мозга, можно говорить о первичном аутоиммунном заболевании, аналогичном ревматизму, ревматоидному артриту и др.

В том случае, когда сенсибилизация иммунокомпетентных клеток к антигенам мозга происходит в результате воспаления и разрушения миелина, проникновения через повреждённый гематоэнцефалический барьер в кровь мозговых антигенов и последующего развития всего комплекса иммунопатологических реакций, говорят о вторичности аутоиммунного компонента в патогенезе рассеянного склероза.

На сегодняшний день пока нельзя считать рассеянный склероз полностью первичным аутоиммунным заболеванием. Но тем не менее, учитывая ведущую роль иммунологических нарушений, лечение этого заболевания в первую очередь основывается на коррекции иммунных нарушений.

Возникновение рассеянного склероза связано со случайным индивидуальным сочетанием неблагоприятных эндогенных и экзогенных факторов риска. К эндогенным факторам прежде всего следует отнести комплекс локусов генов HLA II класса и, возможно, генов, кодирующих ФНО- α , обуславливающих генетическую несостоятельность иммунорегуляции. Среди внешних факторов могут иметь значение: зона проживания в детском возрасте, особенности питания, частота вирусных и бактериальных инфекций и др. Следует подчеркнуть, что ни один взятый изолированно фактор не может иметь значение в возникновении рассеянного склероза, только определённое сочетание ряда факторов. В организме, имеющем генетически обусловленную несостоятельность регуляторных систем иммунитета, происходит активация иммунной системы одним из неспецифических провоцирующих факторов, например, вирусной инфекцией, травмой, стрессовой ситуацией. При этом антиген-стимулированные макрофаги и активированные Т-хелперы фиксируются на клетках эндотелия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Цитокины, выделяемые фиксированными клетками, экспрессируют на поверхности ГЭБ антигены основного комплекса гистосовместимости I и II класса (для представления антигена), а также молекулы клеточной адгезии [5].

Гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) здоровых людей непроницаем для клеток крови, в том числе иммунных клеток. У больных

рассеянным склерозом проницаемость ГЭБ увеличивается, происходит миграция активированных Т-лимфоцитов в паренхиму мозга, повышение уровня провоспалительных цитокинов – γ -интерферона, ФНО- α , ИЛ-1 и других; активируются В-лимфоциты, которые начинают синтезировать противомиелиновые антитела, и таким образом формируется очаг воспалительной демиелинизации. Компенсация воспаления достигается за счёт выработки таких цитокинов, как ИЛ4, ИЛ10, ИЛ6, ТРФ [2].

Итогом описанной иммунопатологической реакции является очаг хронической воспалительной демиелинизации – бляшка рассеянного склероза. При рассеянном склерозе морфологические изменения могут регистрироваться не только непосредственно в очагах демиелинизации, но и в нормальной миелине на клеточно-молекулярном уровне. В зависимости от степени зрелости и времени возникновения у одного и того же больного можно выделить несколько типов бляшек: острые (активные новые очаги демиелинизации), старые (хронические, неактивные очаги) и старые хронические очаги с признаками активации, как правило, по периферии бляшки (W. Maethews и соавт., 1991), что можно расценить как продолжение роста бляшки. Некоторые авторы выделяют так называемые тени бляшек – зоны патологического утончения миелина. Предполагается, что это участки, где происходит ремиелинизация (H. Lassmann и соавт., 1991-1994) [11].

Располагаются очаги в любом отделе белого вещества головного и спинного мозга. Аутоиммунные реакции при рассеянном склерозе направлены исключительно против белков миелина, поэтому в белом веществе головного и спинного мозга поражается миелиновая оболочка проводников нервной системы, чаще в перивентрикулярном пространстве больших полушарий, стволе мозга, мозжечке, хиазме зрительных нервов, иногда в области гипоталамуса, подкорковых образований (О.А. Хондкариан и соавт., 1987).

При длительно текущем рассеянном склерозе и выраженном разрушении миелина может происходить вторичная дегенерация осевых цилиндров нервных волокон, в последующем – нервных клеток и олигодендроцитов. Это приводит к атрофии головного и спинного мозга, расширению желудочков мозга.

Все описанные патоморфологические изменения необходимо знать практическому

врачу, поскольку на сегодняшний день уже имеются методы диагностики, позволяющие определить у больного наличие, локализацию, величину и количество бляшек, оценить степень их активности и предположительный возраст, выявить признаки атрофии мозга.

В настоящее время не вызывает сомнения наличие при рассеянном склерозе процесса ремиелинизации одновременно с демиелинизацией. В первую очередь это происходит по краям активной бляшки (G. Prineas и соавт., 1993; С. Raine и E. Wu, 1993). Процесс ремиелинизации очень медленный и ещё более замедляется по мере увеличения длительности заболевания [13].

Клиника и диагностика. Клинические проявления рассеянного склероза связаны с очаговым поражением нескольких различных отделов головного и спинного мозга. В мире общепринятой считается оценка клинического статуса больных с помощью шкалы состояния функциональных систем (FSS) и расширенной шкалы оценки инвалидности по J.Kurtzke (EDSS) [12]. Шкала FSS подразумевает оценку в баллах от 0 до 6 степени выраженности симптомов поражения различных проводящих систем мозга, а шкала EDSS оценивает общую степень инвалидности в баллах от 0 до 10 [12].

Течение заболевания хроническое, варианты течения рассеянного склероза разнообразны: на начальных этапах болезни чаще отмечается ремиттирующее течение, которое с течением времени может перейти во вторично прогрессирующее; реже – первично прогрессирующий тип течения заболевания или стабильный рассеянный склероз.

Выделяют следующие клинические формы заболевания: цереброспинальную, спинальную мозжечковую, стволовую, оптическую. Эта классификация основана на преобладании поражения одного из отделов нервной системы. Тип течения заболевания, длительность ремиссий, обострений, ответ на лечение, избирательность возникновения бляшек рассеянного склероза в мозге чрезвычайно индивидуальны. Не бывает двух больных с одинаковым течением заболевания и идентичной симптоматикой. Поэтому диагностика рассеянного склероза требует индивидуального подхода к каждому больному, тщательной оценки объективных симптомов и жалоб.

Диагностика рассеянного склероза основывается на данных анамнеза, неврологического осмотра и результатах

дополнительных методов обследования. Удачным является определение главного критерия диагностики рассеянного склероза: «диссеминация симптомов в месте и времени». Этот термин подразумевает хроническое волнообразное течение заболевания с вовлечением в патологический процесс нескольких проводящих систем.

На сегодняшний день наиболее информативными принято считать магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного и спинного мозга и наличие олигоклональных иммуноглобулинов в ликворе больных.

Учитывая ведущую роль иммунологических реакций в патогенезе рассеянного склероза, особенно важное значение для наблюдения за активностью и развитием патологического процесса при данном заболевании приобретает регулярное исследование у больных иммунологического анализа крови (иммунологический мониторинг). На основании данных многолетнего исследования иммунитета у больных рассеянным склерозом, можно констатировать, что, во-первых, иммунологические изменения опережают клинические; во-вторых, иммунопатологический процесс динамичен, в ходе развития болезни изменяется и реакция иммунной системы на болезнь, происходит истощение ряда компенсаторных и параллельно развивается ряд новых защитных реакций. Вследствие этого иммунная система больного рассеянным склерозом функционирует на ином уровне, чем у того же человека до болезни, и тем более, чем у здорового. Вот почему важен иммунологический мониторинг: он необходим для сравнения показателей иммунитета с предыдущими показателями того же больного, но не здоровых людей контрольной группы.

Материалы и методы. Одним из факторов прогрессирования рассеянного склероза (РС), наряду с демиелизирующим процессом, является аксональная дегенерация и непосредственная гибель тела нейрона. В настоящее время ведется активный поиск новых препаратов, для лечения РС, способных подавлять проапоптозные факторы и активировать антиапоптозные молекулы, что в перспективе, возможно, повысит эффект терапии.

В качестве препарата с подобным действием нами был применен препарат «Азилект» фирмы TEVA, действующий на процесс предотвращения ядерной транслокации глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, активации антиапоптозных молекул, подавление

проапоптозных факторов и сохранения потенциала митохондрий. Было проведено исследование у 17 больных, страдающих вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза, разделенных на две группы. В 1 группу вошло 9 больных, которым проводилась традиционная симптоматическая терапия – метаболики, дезагреганты, антихолинэстеразные препараты, витамины группы В. Во 2 группу включено 8 больных, которым в традиционную схему лечения был включен «Азилект» в дозе по 1 мг/1 раз в сутки в течение 3 месяцев. Всем больным проводились клинические и параклинические методы исследования, включая МРТ головного мозга для визуализации очагов гипотрофии коры головного мозга: до лечения, через 3 месяца.

Фармакологические свойства:

Разагилин является избирательным необратимым ингибитором моноаминоксидазы типа В (МАО-В), фермента, на 80 % определяющего активность моноаминоксидазы в головном мозге и метаболизм дофамина. Он в 30-80 раз более активен в отношении МАО-В, чем к другому типу этого фермента – МАО-А[8]. В результате ингибирующего действия препарата на МАО-В в центральной нервной системе повышается уровень дофамина, снижается образование токсичных свободных радикалов, избыточное образование которых наблюдается у больных болезнью Паркинсона. Разагилин обладает также нейропротекторным действием. В отличие от неизбирательных ингибиторов МАО, препарат в терапевтических дозах не блокирует метаболизм поступающих с пищей биогенных аминов (например, тирамина), в связи с чем не вызывает тирамин-обусловленного гипертензивного синдрома («сырный эффект»).

Разагилин быстро всасывается после приема внутрь; его максимальная концентрация в плазме крови (С_{max}) достигается через 0.5 часа. Абсолютная биодоступность препарата после однократного введения составляет около 36%. Пища не влияет на время достижения максимальной концентрации разагилина в крови, однако, при потреблении жирной пищи С_{max} и площадь под кривой концентрации препарата (AUC) снижаются на 60 % и 20 %, соответственно. Фармакокинетика препарата

имеет линейный характер в диапазоне доз 0,5-2 мг. Связь с белками плазмы крови колеблется от 60 до 70 %.

Разагилин почти полностью метаболизируется в печени. Биотрансформация осуществляется путем N-деалкилирования и/или гидроксирования с образованием основного биологически малоактивного метаболита – 1-аминоиндана, а также 2-х других метаболитов -3-гидрокси-N-пропаргил-1-аминоиндана и 3-гидрокси-1-аминоиндана. Метаболизм препарата осуществляется при участии изоформы CYP 1A2 системы цитохрома P-450. Разагилин выводится преимущественно почками (более 60 %) и в меньшей степени через кишечник (более 20 %). Менее 1% введенной дозы препарата выделяется в неизменном виде. Период полувыведения составляет 0,6-2 часа. Параметры фармакокинетики разагилина практически не меняются у больных с легкой и умеренной почечной недостаточностью. При легкой печеночной недостаточности может наблюдаться повышение значений параметров AUC и С_{max} на 80 % и 38 %, а у пациентов с умеренными нарушениями функции печени эти параметры достигают более 500% и 80%, соответственно.

Результаты исследования. При сравнительном анализе эффективности традиционной терапии и терапии в сочетании с «Азилектом» у больных, включенных во 2 группу при МРТ исследованиях отмечалось снижение показателей, свидетельствующих о прогрессировании объема очагов гипотрофии коры головного мозга. Также было отмечено положительное влияние на когнитивные функции, общее самочувствие больных, снижение астеновегетативных проявлений, а также уменьшение интенсивности прогрессирования клинических проявлений заболевания.

Все больные были проанализированы по шкале EDSS до лечения, спустя месяц, 3 и 6 месяцев после лечения. При этом отмечалось среднее снижение от 0.5 до 1 балла за время контролируемых исследований во второй группе больных в сравнении с первой группой, где больные не получали препарат «азилект».

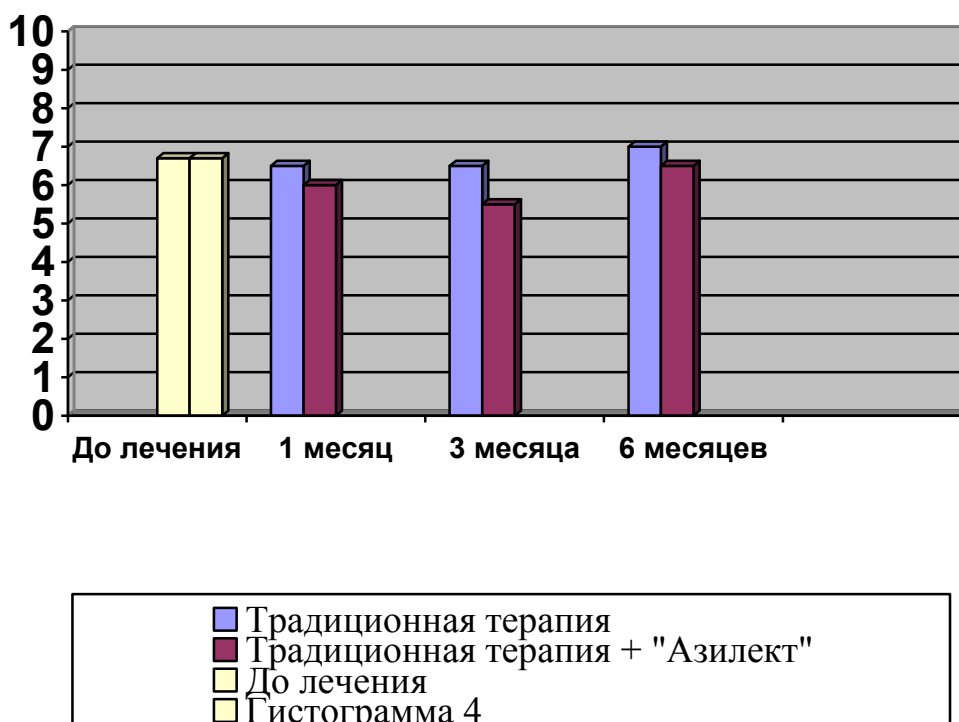


Рис. 1. Оценка инвалидизации (шкала EDSS) у больных с вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза.
Fig. 2. Evaluation of disability (EDSS scale) in patients with a secondary-progressive form of multiple sclerosis.

Выводы. Назначение препарата «азилект», в качестве цитопротекторной терапии больным, страдающим вторично-прогрессирующим течением рассеянного склероза, вероятно, способствует повышению эффективности лечения и улучшению качества жизни больных.

Литература

1. Гусев Е.И., Завалишин И.А., Бойко А.Н. / Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. М.: Миклош, 2004. 540 с.
2. Дуус П. / Топический диагноз в неврологии. Анатомия. Физиология. Клиника. // Москва: ИПЦ «Вазар-Ферро» 1997. 400с.
3. Ильвес А.Г., Прахова Л.Н., Катаева Г.В. и др. / Изменения метаболизма глюкозы головного мозга у больных рассеянным склерозом и их роль в формировании клинической картины и в развитии прогрессирования заболевания // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова – 2003. Спец. выпуск. Рассеянный склероз, №2. С.53-60.
4. Резникова Т.Н., Терентьева И.Ю., Катаева Г.В. Ильвес А.Г. / ПЭТ-исследование головного мозга человека и психологические защитные механизмы личности больных рассеянным склерозом. // Физиология человека. 2004. Т. 30, №4. С.25-31
5. Ильвес А.Г., Прахова Л.Н., Катаева Г.В. и др. / Изменения метаболизма глюкозы головного мозга у больных рассеянным склерозом и их роль в формировании клинической картины и в развитии прогрессирования заболевания // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2003. Спец. выпуск. Рассеянный склероз. №2. С.53-60.
6. Сальникова М.В., Холин А.В., Бондарева Е.В. / Магнитно-резонансная томография рассеянного склероза // Терра Медика. – 1998. – Т. 4. – С. 28-30.
7. Гусев Е.И., Демина Т.Л., Бойко А.Н. / Рассеянный склероз. М., 1997.
8. : Медицинский портал: Medzona.info. Режим доступа: URL: <http://medzona.info/lekarstva/aa/164-azilekt-azilect.html> (дата обращения 16.10.2015).
9. Евтушенко С.К., Деревянко И.Н., Когут А.И. Диссоциация клинической картины и интенсивности очагов демиелинизации при рассеянном склерозе // Материалы ежегодного 9-го симпозиума Всероссийского общества рассеянного склероза. – 25-29 мая 2000 г., СПб. С. 46-48.
10. Воробьева Н.Л., Демкина В.А., Гервазиева В.Б. Особенности противовирусного иммунитета у больных с рассеянным склерозом // Нейроиммунология. Т. 3, №1. 2005. С. 28-32.
11. Zawadzka M., Franklin R.J. / Myelin regeneration in demyelinating disorders: new developments in biology and clinical pathology. // Curr Opin Neurol. 2007. vol. 20(3) p.294-298.
12. Kurtzke J.F. / Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). // Neurology. 1983. Vol. 33. №12. P. 1444-1452.
13. Ayers M.M., Hazelwood L.J., Catmull D.V. et al. / Early glial responses in murine models of multiple sclerosis. // Neurochem Int. 2004 vol.45(2-3) p.409-419.

References

1. Gusev E.I., Zavalishin I.A., Boiko A.N. / Multiple Sclerosis and other Demyelinating Diseases // Moscow: Miklos. 2004. 540 p.
2. Duus AP / Topical Diagnosis in Neurology. Anatomy. Physiology. Clinic. // Moscow: CPI «Vasari Ferro» 1997. 400 p.
3. Ilves A.G., Prakhova L.N., Kataeva G.V. et al. / Changes in Glucose Metabolism of the Brain in Patients with Multiple Sclerosis and their Role in Shaping the Clinical Development and Progression of the Disease. // S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2003. Spec. release. Multiple Sclerosis, №2. Pp.53-60.
4. Reznikov T.N., Terentyev I.Y., Kataeva G.V., Ilves A.G. / PET scan of the Human Brain and Psychological Defense Mechanisms of the Individual Patients with Multiple Sclerosis. // Human Physiology. 2004. Volume 30, №4 Pp. 25-31.
5. Ilves A.G., Prakhova L.N., Kataeva G.V. et al. / Changes in Glucose Metabolism of the Brain in Patients with Multiple Sclerosis and their Role in Shaping the Clinical Development and Progression of the Disease. // S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2003. Spec. release. Multiple sclerosis, №2. Pp.53-60.
6. Mikhail Salnikov, Choline A.V., Bondarev E.V. / Magnetic Resonance Imaging of Multiple Sclerosis // Terra Medica. 1998. Volume 4. Pp. 28-30.
7. Gusev E.I., Demin T.L., Boiko A.N. / Multiple Sclerosis. // М. 1997.
8. Medical portal: Medzona.info Access: URL: <http://medzona.info/lekarstva/aa/164-azilekt-azilect.html> (date of access: October 16, 2015).
9. Yevtushenko S.K., Derevyanko I.N, Kohut A.I. Dissociation of the Clinical Picture and the Intensity of Demyelinating Lesions in Multiple Sclerosis // Proceedings of the 9th Annual Symposium of the Russian Society of Multiple Sclerosis. May 25-29, 2000, St. Petersburg. Pp. 46-48.
10. Vorobyov N.L. Demkina V.A., Gervazieva V.B. Features of Antiviral Immunity in Patients with Multiple Sclerosis // Neuroimmunology. Volume 3, №1. 2005. P. 28-32.
11. Zawadzka M., Franklin R.J. / Myelin regeneration in demyelinating disorders: new developments in biology and clinical pathology. // Curr Opin Neurol. 2007. vol. 20 (3) p.294-298.
12. Kurtzke J.F. / Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). // Neurology. 1983. Vol. 33. №12. P. 1444-1452.
13. Ayers M.M., Hazelwood L.J., Catmull D.V. et al. / Early glial responses in murine models of multiple sclerosis. // Neurochem Int. 2004. vol.45 (2-3) p.409-419.

УДК 616.832

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-13-18

Губарев Ю. Д.¹,
Чефранова Ж. Ю.²,
Яценко Е. А.³

**ВОЗМОЖНОСТИ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ
ОДНОНАПРАВЛЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
«НУКЛЕО – ЦМФ ФОРТЕ» И «ПК-МЕРЦ»
В ТЕРАПИИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА**

- 1) кандидат медицинских наук, доцент кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: gubarev@bsu.edu.ru
- 2) доктор медицинских наук, профессор кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: chefranova@bsu.edu.ru
- 3) ассистент кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: yatsenko_ea@bsu.edu.ru

Аннотация. Рассеянный склероз – мультифакториальное аутоиммунное заболевание, поражающее головной и спинной мозг, требующее применения в терапии лекарственных средств одновекторного действия. На группе пациентов нами был применен препарат «Нуклео – ЦМФ форте», который обеспечивает фосфатные группы, необходимые для объединения моносахаридов с церамидами для образования цереброзидов и фосфатидных кислот, которые составляют основу сфингомиелина и глицерофосфолипидов. Вторым препаратом выбора стал «ПК-мерц», блокирующий глутаматные NMDA-рецепторы являющиеся ведущими в патогенезе аксональной дегенерации. Данный выбор обусловлен непосредственным воздействием на процессы демиелинизации с одной стороны, и опосредованным воздействием препарата «ПК-мерц», направленным на снижение дегенеративных процессов в глиальной ткани, принимающих участие в синтезе миелина, с другой стороны. Были проведены клинические исследования у 15 больных, страдающих вторично-прогредиентным течением рассеянного склероза, разделенных на две группы. В 1 группу вошли 8 человек, получающих традиционную терапию (гормоны, антиагреганты витамины группы В), во 2 группу -7 человек, в схему традиционного лечения были включены препараты «ПК-мерц» в разовой дозе 100мг. (суточная доза 300мг.) -30 дней и «Нуклео – ЦМФ форте» по 2 капсулы в сутки, в течение 30 дней. Нами высказано предложение, что однонаправленное действие в одной системе разных групп препаратов, влияющих на процессы демиелинизации и аксональной дегенерации при рассеянном склерозе, возможно, имеют больше шансов на повышение эффективности терапии.

Ключевые слова: рассеянный склероз, терапия, одновекторное действие.

Gubarev Yu. D.¹
Chefranova Zh. Yu.²
Yatsenko E. A.³

**THE THERAPY OF MULTIPLE SCLEROSIS WITH NUKLEO-CMF
FORTE AND PK-MERZ MULTIDIRECTIONAL DRUGS**

- 1) PhD in Medicine, Assistant Professor. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: gubarev@bsu.edu.ru
- 2) MD, Professor. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: chefranova@bsu.edu.ru
- 3) Assistant Lecturer. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University E-mail: yatsenko_ea@bsu.edu.ru

Abstract. Multiple sclerosis – the multifactorial autoimmune disease affecting the head and spinal cord, demanding application in therapy of medicines of multidirectional action. In the group of patients, we used the drug «Nucleo-CMP Forte», which provides phosphate groups needed to combine with sugars to form ceramides and cerebroside phosphatidic acids, which form the basis of glycerophospholipids and sphingomyelin. The second drug of choice was the «PK-Merz» blocking NMDA-glutamate receptors which are leading in the pathogenesis of

axonal degeneration. This choice is due to the direct impact on the process of demyelination on the one hand, and indirect exposure to the drug «PC-Merz» aimed at reducing the degenerative processes in the glial tissue involved in the synthesis of myelin, on the other hand. Clinical studies have been conducted in 15 patients suffering from a secondary-progressive course of MS. The patients were divided into two groups. The 1st group included 8 people receiving conventional therapy (hormones, vitamins B antiplatelet agents). The second group included 7 persons. The scheme of conventional treatment included drugs «PC-Merz» in a single dose of 100mg. (a daily dose of 300 mg.) –30 days «Nucleo-CMP forte» – 2 capsules a day, for 30 days. We suggest that the one-way action in one system of different groups of drugs, affecting the process of demyelination and axonal degeneration in multiple sclerosis, may have a better chance to improve the effectiveness of therapy.

Key words: multiple sclerosis; therapy; multidirectional action.

Актуальность. Несмотря на новые методы лечения рассеянного склероза (РС), проблема остается очень актуальной на сегодняшний день потому, что рассеянным склерозом заболевают люди очень молодого возраста. Средний возраст начала заболевания – 17-25 лет. Во-вторых, больных рассеянным склерозом очень много; по всей России около 200 000. В-третьих, эта болезнь быстро инвалидизирует пациентов, а это означает, что еще совсем молодые люди становятся нетрудоспособными. И в четвертых, это семейная проблема – вся семья вынуждена подстраиваться под режим дня больного, ведь таким пациентам нужен постоянный уход. Поэтому очень актуальны социальные проблемы, связанные с инвалидизацией. Фундаментальные исследования в области молекулярной биологии, иммунологии, генетики в последние годы позволили достигнуть значительного прогресса в понимании механизмов развития патологического процесса при РС [5] и создания новых высокотехнологичных фармакологических препаратов, стоимость которых достигает сотни тысяч. В то время, как комбинирование применение однонаправленных по действию, но разновекторных препаратов способно повысить эффективность лечения без значительного повышения затрат. **Этиология и патогенез.** РС является мультифакториальным заболеванием, развитие которого обусловлено взаимодействием факторов внешней среды (вируса и/или другого патогена и географических факторов) и наследственной предрасположенности, реализуемой полигенной системой, включающей особенности иммунного ответа и определенного типа метаболизма [1].

Среди наиболее убедительных доказательств участия иммунной системы в патогенезе РС можно привести: 1) наличие в мозге, ликворе и крови больных активированных иммунокомпетентных клеток; 2) повышение уровней экспрессии молекул адгезии и антиген-представления в «острых» бляшках РС;

3) выделение из ткани мозга, ликвора и крови больных клонов и линий клеток, сенсibilизированных к антигенам миелина; 4) повышенная локальная продукция IgG, образующего в ликворе олигоклональные группы, а также антител к антигенам миелина и вирусам; 5) эффективность иммуносупрессоров при обострении РС, а также возможность уменьшения клинических проявлений заболевания после индукции толерантности к антигенам миелина или удаления аутореактивных Т-клеток; 6) ассоциация повышенного риска РС с гаплотипом HLA-DR-2 (Dw2) и другими генами иммунной системы (Zweiman B., Lisak R.P., 1986; Dhib-Jalbut S., McFarlin D.E., 1990; Wucherpfennig K.W. et al., 1991) [2].

Патогенез РС складывается из комплекса иммунопатологических и патохимических реакций, развивающихся в нервной системе. Считается, что иммунные процессы индуцируются антигенными структурами ЦНС и прежде всего – основным белком миелина и гликопротеином миелина – макромолекулами олигодендрита. Активация анергичных Т-лимфоцитов на периферии (вне ЦНС) является первым этапом иммунопатогенеза РС. Заметим, что клоны аутореактивных Т-лимфоцитов, реагирующих с собственными антигенами ЦНС, присутствуют и у здоровых людей, но в минимальных количествах и в неактивном состоянии [3].

Иммунологические изменения при РС проявляются отклонениями клеточного и гуморального иммунитета. Со стороны клеточной реактивности определяются: снижение содержания Т-клеток супрессоров, подавление Т-клеточного ответа на митогены, невысокий потенциал НК-клеток и изменение продукции интерферонов, увеличение цитотоксичности мононуклеарных клеток, изменения в системе интерлейкинов.

На следующем этапе патологического процесса аутореактивные Т-лимфоциты проникают

в ЦНС посредством увеличения экспрессии молекул адгезии, присоединения к эндотелиальным клеткам и перехода через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Дальнейшая активация Т-лимфоцитов проходит с участием молекул ко-стимуляции. Антигенами-мишенями являются белки и липиды миелина. Активированные Т-клетки и вторично вовлеченные в процесс макрофаги и клетки микроглии выделяют различные провоспалительные цитокины, которые обладают способностью индуцировать адгезивные рецепторы на эндотелиальных и иммунных клетках, а также усиливать миграцию соответствующих иммунокомпетентных клеток в очаг возникшего воспаления. Активность воспаления коррелирует с уровнем плотности адгезивных молекул. В процесс также включаются В-лимфоциты и синтезируемые ими антитела [4].

Воспалительный процесс в ЦНС сопровождается значительным повышением проницаемости ГЭБ, отеком ткани, депозицией фибрина и других макромолекул из крови в ткань и т.д. Это дополнительно способствует срыву толерантности к мозговым антигенам и активации новых групп сенсibilизированных клеток. При слабости механизмов контроля любые изменения гомеостаза, приводящие к повышению проницаемости ГЭБ (например, стресс) могут стимулировать развитие аутоиммунных реакций. При этом может происходить изменение свойств антигенов миелина, образование новых антигенов, нарушение нейроэндокринной регуляции иммунитета. Цитокины, комплемент, гистамин и серотонин, простагландины и лейкотриены, коагуляционный каскад – все отчетливо влияют на проницаемость ГЭБ. Повышение проницаемости ГЭБ при РС может иметь и другие причины: например, у больных РС выявлены цитотоксические для эндотелия Т-клетки и антитела к эндотелию.

Повышение проницаемости ГЭБ является исключительно важным, но неспецифическим фактором развития иммунопатологического процесса в ЦНС, так как подобные изменения могут наблюдаться при различных воспалительных и невоспалительных заболеваниях ЦНС и не сопровождаться демиелинизацией.

Активность иммунопатологических реакций определяется уровнем антиген-представления в ткани и активностью адгезии клеток к эндотелию сосудов, активацией Т-клеток, которая при ответе на некоторые антигены может иметь поликлональный характер. Решающее значение в развитии иммунопатологического процесса в ЦНС имеет баланс активационных и

супрессорных цитокинов, их растворимых рецепторов и ингибиторов [5].

Формирующиеся при РС в белом веществе головного и спинного мозга патологические очаги называются бляшками. Ведущая черта этих очагов – демиелинизация и аксональная дегенерация. Активация резидентных клеток ЦНС – микроглии и астроглии – стимулирует секрецию ими цитокинов и хемокинов (факторов, привлекающих клетки в очаг воспаления). В очаги мигрируют клетки гематогенного происхождения – моноциты/макрофаги, Т- и В-лимфоциты. Так начинается формирование бляшки. В очаге воспаления клетки секретируют множество активных молекул: цитокины, антитела, кислородные и азотные радикалы, протеазы. Эти молекулы являются основными факторами повреждения олигодендроцитов и миелина. Начавшееся разрушение миелина приводит к появлению в нем протеолитически активных фрагментов, что способствует его дальнейшему повреждению. По волокнам в очаге воспаления и демиелинизированным волокнам нарушено проведение нервного импульса, что и приводит к возникновению клинических симптомов. Одновременно с процессом демиелинизации идет и ремиелинизация, что особенно заметно на краях активной бляшки. Но несмотря на появление процесса ремиелинизации уже на ранних стадиях образования бляшки, восстановление миелиновой оболочки происходит недостаточно эффективно. Чем длительнее течение заболевания, тем менее выражен процесс ремиелинизации, что может быть связано со значительным уменьшением числа олигодендроцитов [7].

При длительной и выраженной демиелинизации наступает гибель аксонов, приводящая к появлению стойких симптомов. В ходе повреждения олигодендроцитов и миелина высвобождается большое количество аутоантигенов, дающих толчок к дальнейшему развитию аутоиммунного процесса. Регуляторные механизмы, обеспечивающие в норме баланс про- и противовоспалительных цитокинов и своевременную супрессию иммунного ответа, оказываются при РС несостоятельными, что и обуславливает прогрессирование патологического процесса.

Эволюции бляшки свойственна цикличность. Повторное обострение проявляется воспалением по периферии зоны глиоза, очаг увеличивается в размерах. Наряду с этим появляются новые очаги, а некоторые могут регрессировать. Размеры очагов колеблются от нескольких миллиметров до

нескольких сантиметров. Формируются они вокруг сосудов (венул). Обычно очаги располагаются перивентрикулярно – у передних и задних рогов боковых желудочков, суправентрикулярно, в мозолистом теле. Часто они локализируются в стволе головного мозга и мозжечке, шейно-грудном отделе спинного мозга, в корешках черепных нервов, могут располагаться также и в зоне входа корешков в спинной мозг. В случае далеко зашедшего процесса очаги могут распространяться и на серое вещество головного мозга, вызывая атрофию коры. При гистологическом исследовании острых очагов выявляют частичную или полную деструкцию и потерю миелина. Аксональные цилиндры, в целом, остаются интактными. Кроме демиелинизации, для бляшек характерна нейроглиальная реакция и инфильтрация мононуклеарными клетками (лимфоцитами и макрофагами). Хронические повреждения представлены преимущественно глиозом.

При иммуногистохимическом исследовании очагов демиелинизации можно выявить все признаки локальной активации иммунной системы. Для активных очагов характерна периваскулярная инфильтрация, или «муфты», состоящие из проникших в паренхиму Т-лимфоцитов, моноцитов и плазматических клеток. Плазматические клетки локально вырабатывают антитела против антигенов миелина и различных вирусов. Также выявляются антитела к ганглиозидам, альфа-В-кристаллину и другим антигенам[6].

Недостаток супрессорных систем проявляется и в снижении способности Т-клеток больных РС контролировать продукцию Ig всех классов В-клетками *in vitro*, особенно при активном РС. Повышение продукции иммуноглобулинов клеточными культурами больных РС расценивали как проявление активации В-клеток *in vivo*. Последствиями такой активации могут быть олигоклональные Ig, повышение титра антител к вирусам часто встречающихся инфекций и свободных легких цепей Ig в ликворе больных [9].

Клиника и диагностика. Рассеянный склероз отличается полиморфностью клинических симптомов. Предложенные различными авторами классификации рассеянного склероза основываются на клинических признаках; наиболее простым и удачным является деление заболевания на церебральную, спинальную, цереброспинальную [1].

Выделение определенной формы рассеянного склероза имеет условный характер; так, у больного со спинальной формой заболевания возможно присоединение через некоторое время признаков

поражения головного мозга. Весьма характерно возникновение заболевания в молодом возрасте, преимущественно в 20-40 лет; известны случаи развития рассеянного склероза в детском и пожилом возрасте. Появлению рассеянного склероза нередко предшествуют перенесенные общие инфекции, охлаждение организма. В большинстве случаев ранними и типичными признаками рассеянного склероза являются двигательные расстройства, нейропатия зрительных нервов, нарушение тазовых функций. Двигательные расстройства могут проявляться нижним спастическим паразезом, гемипарезом, мозжечковыми симптомами: нарушение координации, интенционный тремор, атаксия, скандированная речь. Определенной особенностью спастических парезов является преобладание высокого мышечного тонуса над слабостью мышц. У многих больных обнаруживаются высокие миотатические рефлексы, клонусы стоп и коленных чашечек, пирамидные симптомы без признаков снижения силы. Характерна спастико-атактическая походка больного. Снижение, неравномерность или отсутствие брюшных рефлексов – почти постоянный признак рассеянного склероза. Другими частыми симптомами рассеянного склероза являются: мелкокоразмашистый горизонтальный нистагм, диплопия (обычно поражение отводящего нерва), нейропатия лицевого нерва, особенно у больных детского и молодого возраста. В отдельных случаях ведущими признаками рассеянного склероза являются гиперкинезы: тремор головы, грубый (рубальный) тремор в руках, ногах, что порой лишает больных способности передвигаться, обслуживать себя. Диагностическое значение имеет обнаружение одностороннего или (реже) двустороннего ретроульбарного неврита, клинически: появляющегося снижением зрения или (в поздних случаях) полной слепотой на один глаз. Характерная обратимость офтальмологических симптомов. При исследовании поля зрения устанавливаются центральная скотома, гемианопсия и другие изменения.

На глазном дне часто обнаруживаются побледнение височных половин дисков зрительных нервов. В поздних стадиях заболевания диагностируют частичную или полную атрофию сосочков зрительного нерва. При исследовании чувствительности отмечают расстройства вибрационной чувствительности на нижних, редко – и на верхних конечностях; у некоторых больных нарушается мышечно-суставная чувствительность. Расстройства болевой и температурной чувствительности выражены обычно незначительно. Характерно

преобладание субъективных признаков над объективными изменениями чувствительности: многие больные отмечают преходящие парестезии в дистальных отделах конечностей, умеренные корешковые боли. Лишь в единичных случаях обнаруживаются выраженные нарушения чувствительности: анестезия, диссоциированные расстройства по типу синдрома Броун-Секара, обуславливающие необходимость дифференцировать рассеянный склероз со спинальной опухолью. Нарушение психики более выражено в поздних стадиях болезни: эйфория, ослабление критики, иногда деменция. Общими клиническими признаками рассеянного склероза являются: волнообразность течения, нередко – полная обратимость симптомов на ранних стадиях заболевания, наличие признаков поражения различных отделов нервной системы. При рецидивах рассеянного склероза возможно появление (или усиление) прежних симптомов и присоединение новых [4].

Характерна значительная вариабельность одного и того же симптома, в основе чего лежат изменения проводимости по демиелинизированным волокнам в условиях изменения гомеостаза. В более поздних стадиях признаки болезни становятся стойкими и резко выраженными, инвалидизируя больных. Течение болезни в большинстве случаев занимает многие годы; летальный исход – от интеркуррентных инфекций. Спинальная жидкость обычно прозрачная, имеющая слабоположительные или отрицательные белковые реакции, нередко повышение белка до 0,6-1⁰/оо, иногда плеоцитоз до 10-50 в 1 мл. Коллоидная реакция Ланге у большинства больных имеет паралитический характер. Наиболее значительно меняется содержание IgG-глобулинов. Особенно выражены изменения в спинномозговой жидкости в период обострения заболевания.

Дифференциальный диагноз рассеянного склероза на начальных этапах проводят с невротическими расстройствами, особое значение имеет при этом выявление признаков органического поражения нервной системы. Спинальные формы рассеянного склероза могут напоминать опухоль спинного мозга, отличаясь меньшей выраженностью парезов (преобладает спастика), чувствительных и тазовых расстройств; в сложных случаях диагностике помогает пункция (наличие блока субарахноидального пространства при опухоли спинного мозга). От болезни Штрюмпеля рассеянный склероз отличается наличием признаков поражения других отделов нервной системы. Опухоль мозжечка или невринома слухового нерва исключается на основании отсутствия при рассеянном склерозе

внутричерепной гипертензии; у больных рассеянным склерозом клиническая симптоматика, как правило, имеет связь не с одним очагом. В отдельных случаях – при наличии гемиплегии приходится дифференцировать сосудистое (инфаркт мозга) и демиелинизирующее заболевание; важен учет данных анамнеза, полного клинического обследования: признаки атеросклероза, АД, связь симптомов с определенным сосудистым бассейном – при сосудистом генезе гемиплегии [8].

Гиперкинетическая форма рассеянного склероза может напоминать дрожательную форму гепатоцеребральной дистрофии. В то же время имеется ряд признаков, типичных для рассеянного склероза: ретробульбарный неврит, пирамидные симптомы, тазовые расстройства; для гепатоцеребральной дистрофии патогномонично роговичное кольцо Кайзера-Флейшера, изменение метаболизма меди и аминокислот, снижение церулоплазмينا в крови больных. Весьма сложен и может быть условен дифференциальный диагноз острого рассеянного энцефаломиелита и рассеянного склероза. По-видимому, нет такого симптома, который мог бы быть при одном и отсутствовать при другом заболевании. Определенное значение может иметь выраженность общемозговых и общеинфекционных симптомов при развитии энцефаломиелита, а также острота появления признаков диффузного поражения головного и спинного мозга, в последующем – регресс клинической симптоматики, наличие в ряде случаев стойких остаточных явлений. Окончательное суждение в пользу того или иного заболевания может быть сделано на основании динамического наблюдения за больными [6].

Материалы и методы. Нами был применен препарат «Нуклео – ЦМФ форте», зарегистрированный в Украине, который обеспечивает фосфатные группы, необходимые для объединения моносахаридов с церамидами для образования цереброзидов и фосфатидных кислот, которые составляют основу сфингомиелина и глицерофосфолипидов. Сфингомиелин и глицерофосфолипиды являются основными компонентами миелиновой оболочки. Таким образом, Нуклео ЦМФ Форте проявляет трофические свойства и способствует регенерации аксонов нервной ткани.

Вторым препаратом выбора стал «ПК-мерц», блокирующий глутаматные NMDA-рецепторы являющиеся ведущими в патогенезе аксональной дегенерации. Данный выбор обусловлен непосредственным воздействием на процессы демиелинизации с одной стороны, и опосредованным воздействием препарата «ПК-

мерц», направленным на снижение дегенеративных процессов в глиальной ткани, принимающих участие в синтезе миелина, с другой стороны. Были проведены клинические исследования у 15 больных, страдающих вторично-прогредиентным течением рассеянного склероза, разделенных на две группы. В 1 группу вошли 8 человек, получающих традиционную терапию (гормоны, антиагреганты, витамины группы В), во 2 группу - 7 человек, в схему традиционного лечения были включены препараты «ПК-мерц» в разовой дозе 100мг. (суточная доза 300мг.) - 30 дней и «Нуклео – ЦМФ форте» по 2 капсулы в сутки, в течение 30 дней. Всем тематическим больным проводились общеклинические и параклинические методы исследования, включая анализы крови, иммунограмму, МРТ головного мозга для визуализации очагов демиелинизации: до лечения, через 30 дней и через 3 месяца.

Результаты исследования. При сравнительной оценке результатов, во второй группе была выявлена тенденция к нормализации Т-клеточного и гуморального звеньев иммунитета ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ и отношения $CD4^+/CD8^+$, рост $CD22^+$). Анализ очагов демиелинизации на МРТ-граммах выявил в некоторых случаях отсутствие прогрессирования так называемых «черных дыр». Также были отмечены улучшения общего самочувствия больных, более быстрое восстановление эмоциональных и вегетативных нарушений, а также уменьшение клинических проявлений, в виде пирамидных и мозжечковых нарушений, в сравнение с первой группой.

Выводы. Однонаправленное действие в одной системе разных групп препаратов, влияющих на процессы демиелинизации и аксональной дегенерации при рассеянном склерозе, возможно, имеют больше шансов на повышение эффективности терапии.

Литература

1. Звартау, М. Э. Клинико-радиологические параллели при рассеянном склерозе: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / М. Э. Звартау. СПб, 2003. С. 23.
2. Риизе, Т. Рассеянный склероз: клинические аспекты и спорные вопросы: Пер. с англ. - СПб.: Политехника. 2001. С.12-26.
3. Столяров, И. Д. Рассеянный склероз / И. Д. Столяров, Б. А. Осетров. - СПб.: Гиппократ. 2002. С. 176.
4. Тринитатский, Ю.В. Значение МРТ в ранней диагностике рассеянного склероза/ Ю. В. Тринитатский, Л. В. Арасланова, А. В. Шепелева // Материалы науч.конф. «Невский радиологический форум: из будущего в настоящее. СПб., 2003. С. 71-72.

5. Воробьева, Н. Л. Особенности противовирусного иммунитета у больных с рассеянным склерозом / Н. Л. Воробьева, В. А. Демкина, В. Б. Гервазиева // Нейроиммунология. Т. 3, №1. 2005. С. 28-32.

6. Гусев, Е. И. Демина Т.Л., Бойко А.Н. Рассеянный склероз. М. 1997.

7. Ильвес, А. Г. Прахова Л. Н., Катаева Г. В. и др. Изменения метаболизма глюкозы головного мозга у больных рассеянным склерозом и их роль в формировании клинической картины и в развитии прогрессирования заболевания. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова 2003 Спец. выпуск. Рассеянный склероз, №2. С. 53-60.

8. Balashov, K. E. Defective regulation of IFN γ and IL-12 by endogenous IL-10 in progressive MS/ K. E. Balashov, M. Comabella, T. Ohashi et al. // Neurology. 2000. Vol.55, N2. P. 192-198.

9. Hillert, J. Cytokine network analysis in multiple sclerosis. Journal of neurological sciences / J. Hillert, W. – X. Huang, Y.- P. Jin // Abstr. of the XVII world congress of neurology.- London, 2001. Vol. 187;

10. Suppl. 1.- P. 269.

References

1. Zvartau, M. E. Clinical and Radiological Parallels in Multiple Sclerosis: Avtoref.dis.kand.med.nauk / ME Zvartau. – St. Petersburg, 2003. 23 p.

2. Reese, T. Multiple Sclerosis: Clinical Aspects and Issues / T. Reese / Ed. A. Thompson et al. : Transl. from Engl. St. Petersburg Polytechnic. : 2001 Pp. 12-26.

3. Stolyarov, I.D. Multiple Sclerosis / I. D. Stolyarov, B.A. Osetrov. SPb. : Hippocrates, 2002. P. 176

4. Trinitatsky, Y.V. The Value of MRI in the Early Diagnosis of Multiple Sclerosis / Yu. Trinitatsky, L.V. Araslanova, A.V. Shepelev // Materials of Scientific Conference «Nevsky Radiological Forum: from the Past to the Future. St. Petersburg. 2003. Pp 71-72.

5. Vorobyov, N.L. Features of Antiviral Immunity in Patients with Multiple Sclerosis/ N.L. Vorobyov, V.A. Demkina, V.B. Gervazieva // Neuroimmunology. Volume 3, №1. 2005. Pp. 28-32.

6. Gusev E.I. Multiple Sclerosis. / E.I. Gusev, T.L. Demin, A. Boyko. MA. 1997.

7. Ilves A.G., Prakhova L.N., Kataeva G.V. et al. Changes in Glucose Metabolism of the Brain in Patients with Multiple Sclerosis and their Role in Shaping the Clinical Development and Progression of the Disease. / A.G. Ilves, L.N. Prakhova, G.V. Kataeva // S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2003. Spec. release. Multiple Sclerosis, №2. Pp. 53-60.

8. Balashov, K.E. Defective Regulation of IFN γ and IL-12 by endogenous IL-10 in progressive MS / KE Balashov, M. Comabella, T. Ohashi et al. // Neurology.2000. Vol.55, N2. P. 192-198.

9. Hillert, J. Cytokine network analysis in multiple sclerosis. Journal of neurological sciences / J. Hillert, W. – X. Huang, Y. – P. Jin // Abstr. of the XVII world congress of neurology.- London, 2001. -Vol. 187; Suppl. 1. P. 269.

UDC 616.12: 616.379: 615.1/4

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-19-24

Osipova O. A.¹
Drapkina O.M.²
Kulikovskii V.F.³
Yarosh A.L.⁴
Osipov P.G.⁵
Kletkina A.S.⁶
Plaksina K.G.⁷

**PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF IMMUNE DISORDERS
IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE AND ISCHEMIC
HEART DISEASE**

- 1) Doctor of Medicine, Deputy Director of the Center for Continuing Professional medical and pharmaceutical education, Professor of the Department of Hospital Therapy of Medical Institute Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: osipova@bsu.edu.ru
- 2) Doctor of Medicine, Professor of the Department of Propedeutics of Internal Diseases, Medical Faculty I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russia, 119991, Moscow, Trubetskaya Str., 8/2; E-mail: drapkina@bk.ru
- 3) Director of the Medical Institute, Head of the Department of Hospital Surgery (basic), Doctor of Medicine, Professor Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: kulikovskiy@bsu.edu.ru
- 4) Doctor of Medicine, Deputy Director of Medical Institute/ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: yarosh_a@bsu.edu.ru
- 5) Associate Professor of the Department of Hospital Surgery, Medical Institute Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: osipov@bsu.edu.ru
- 6) Clinical ordinator of the Department of Hospital Therapy, Medical Institute Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: alinakletkina@yandex.ru
- 7) Postgraduate of the Department of Hospital Therapy, Medical Institute Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: kseniyalistig@inbox.ru

Summary. Currently, there are few data on the effect of cardiovascular drugs on the immune status of patients with heart failure (HF). This paper provides information on the impact of β -adrenergic blocking agent (BAB), angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI) on the maintenance of markers of immune inflammation in the blood, as well as on inhibition of synthesis of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and on blocking of interaction between TNF- α and membrane receptors.

Keywords. Immune inflammation, chronic heart failure, coronary heart disease, tumor necrosis factor- α , β -blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors.

**Осипова О.А.¹
Драпкина О.М.²
Куликовский В.Ф.³
Ярош А.Л.⁴
Осипов П.Г.⁵
Клеткина А.С.⁶
Плаксина К.Г.⁷**

**МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ
НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ
НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ
СЕРДЦА**

- 1) доктор медицинских наук, заместитель директора Центра дополнительного профессионального медицинского и фармацевтического образования, профессор кафедры госпитальной терапии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: osipova@bsu.edu.ru
- 2) доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 2119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8/2, Россия; E-mail: drapkina@bk.ru
- 3) доктор медицинских наук, директор Медицинского института, заведующий кафедрой госпитальной хирургии (базовая), профессор НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: kulikovskiy@bsu.edu.ru
- 4) доктор медицинских наук, заместитель директора медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: yarosh_a@bsu.edu.ru
- 5) доцент кафедры госпитальной хирургии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: osipov@bsu.edu.ru
- 6) клинический ординатор кафедры госпитальной терапии Медицинского института НИУ «БелГУ» 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: alinakletkina@yandex.ru
- 7) аспирант кафедры госпитальной терапии Медицинского института НИУ «БелГУ» 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: kseniyalistig@inbox.ru

Аннотация. В настоящее время имеется немного данных о влиянии сердечно-сосудистых препаратов на иммунный статус больных с сердечной недостаточностью (ХСН). В данной статье освещены аспекты влияния β-адреноблокаторов (БАБ), ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ) на содержание в крови маркеров иммунного воспаления, а так же на ингибирование синтеза фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) и блокирующего взаимодействие ФНО-α с мембранными рецепторами.

Ключевые слова. Иммунное воспаление, хроническая сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, фактор некроза опухоли-α, β-адреноблокаторы, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента.

A congestive chronic heart failure is a clinical syndrome characterized by malaise, shortness of breath, swelling and other symptoms, primarily associated with the impairment of tissue perfusion, resulting from many cardiovascular diseases of both inflammatory (myocarditis, dilated cardiomyopathy), and non-inflammatory (coronary artery disease, arterial hypertension, hypertrophic and restrictive cardiomyopathy, etc.) nature [9,21]. Until recently, the pathophysiological processes that lead to the development of heart failure were considered primarily from the perspective of neurohormonal hypothesis based on concepts of overexpression of neurohormones initiating remodeling and progression of dysfunction of the left ventricle (LV) and desensitization of the cardiomyocyte (CMC) b1-receptor-G-protein complex, which results in weakness of myocardial contractility [15].

The role in the congestive chronic heart failure progression is assigned to the neurohormonal activation, and the sense of sympathoadrenal nervous

system (SAS) becomes more and more clear. The literature presents data on changes in the level of catecholamines, renin, angiotensin and aldosterone at various stages of ischemic CHF progression, starting from the occurrence of acute myocardial infarction (AMI) and until the end-stage of heart failure [8, 19, 20]. It is known that patients with CHF have significantly higher SAS values with the increase in TNF-α level in plasma than the patients with CHF who have normal levels of TNF-α [6]. It was found that the levels of adrenaline, noradrenaline, aldosterone, and cortisol was higher in patients with cardiac cachexia as compared with patients without cachexia [17]. However, there are another data, for example, G. Torre-Amione et al., using a SOLVD database, found no intensity correlation between the inflammatory response and neurohormonal activity of plasma in patients with chronic heart failure [14].

A starting moment in the mechanism of neurohormonal activation is the reduction in cardiac output at LV dysfunction, which leads to a decrease

in blood pressure (BP), stimulating in turn the baroreceptors (blood high-pressure receptors and cardiopulmonary low-pressure receptors). As a result, the flow of impulses into the central nervous system increases, causing the rise in both the SAS and renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) activity, which is accompanied by increased cardiac output (positive inotropic effect of catecholamines) and improved blood supply to vital organs and skeletal muscles (the effect of vasoconstriction).

Currently, there are already-formed ideas about the negative role of SAS chronic hyperactivation in patients with CHF due to its main mechanism of action via stimulation of catecholamine beta-receptors (primarily noradrenaline) and activation of adenylate-cyclase mechanism that increases the content of cyclic AMP (cAMP). This mechanism enhances calcium entering into the cell and its mobilization from sarcoplasmic reticulum, which is accompanied by increased contractility. Chronic activation leads to a gradual overflow of myocardial cells with calcium, their contracture, a impairment of electrical stability and membrane integrity, and the CMC necrosis, which is manifested by toxic effects of catecholamines on the myocardium. Hyperactivity of neurohumoral systems stimulates the production of other neurohormones and mediators, including some cytokines that have proinflammatory action, which predetermines the development of pathological changes in the peripheral tissues. Furthermore, noradrenaline together with angiotensin-II (A-II) stimulate the activation of growth factor and increase the synthesis of cytokines, which is accompanied by the development of hypoxic stress, the stimulating development of myocardial hibernation, and eventually increased cell mortality caused by apoptosis. It is known that the main effector RAAS A-II, in turn, increases the production and release of noradrenaline. Thus, the reciprocal activation of the RAAS and SAS generates a vicious circle. Elevated concentrations of catecholamines also gives indirect effect through RAAS, in the renal juxtaglomerular apparatus where the β -adrenergic receptors are located, the stimulation of which enhances the release of renin. Finally, noradrenaline increases the pacemaker activity of cells of the cardiac conduction system by increasing the heart rate (HR), myocardial oxygen demand, and the risk of arrhythmias [5].

It is now apparent that, in addition to the classic neurohormones, the overexpression of another class of biologically active substances – cytokines – can make a significant contribution to the development and progression of chronic heart failure. Indeed, along with circulatory disorders observed in patients

with CHF, there are clinical symptoms observed, typical of chronic inflammatory diseases and malignancies. These primarily include cardiac cachexia syndrome, which is manifested by progressive weight loss, anorexia and a number of biochemical abnormalities typical of malnutrition (anemia, hypoalbuminemia, leukopenia, hypocholesteremia) and inflammation (increase in erythrocyte sedimentation rate, fibrinogen, and acute-phase proteins). Materials relating to the participation of pro-inflammatory cytokines in the development of heart failure, may be of practical importance for the development of new approaches to the treatment of this pathology and decryption of mechanisms of action of already applied pharmacological agents. Currently, there are few data on the effect of cardiovascular drugs on the immune-inflammatory status of patients with chronic heart failure. Features of the pathogenesis of this state, including cytokinin aggression, necessitate the development of new approaches to its pharmacological correction with the use of modulators of the cytokine, and neurohormonal systems, as well as investigation of the influence of drugs used in standard CHF therapy on the level of pro- and anti-inflammatory cytokines [4].

A particular importance is attached to TNF-a, which at its low concentration plays an important physiological role in tissue homeostasis regulation, and at high concentrations has a pathological endocrine-similar effect, causing metabolic exhaustion, microvascular hypercoagulability, and hemodynamic disturbances. As early as in 1985 J. Parillo et al. found in the sera of patients with septic shock a «myocardial depressive substance», which was later identified as TNF-a. In 1990 B. Levine et al. first discovered the increased levels of TNF-a in patients with CHF. TNF-a has the ability to increase the catabolism of proteins, but, however, along with other cytokines, in particular interleukin-1b (IL), increases the protein synthesis and causes myocardial hypertrophy of CMC. TNF-a and IL-1 are synthesized simultaneously, have the ability to induce the production of each other, and demonstrate numerous general effects. TNF-a is synthesized by monocytes, macrophages, and lymphocytes under the influence of endotoxins, viruses, and other cytokines. TNF-a and TNF-b bind to two high-affinity surface cell receptors with molecular weights of 55 kd and 75 kd, respectively, that are expressed on the membranes of many cells (T-lymphocytes, macrophages, neutrophils, etc.), which are released into body fluids during activation of mononuclear cells and involved in the implementation of the biological effects of TNF-a. Recent studies have shown that TNF-a and IL-1b have the ability to disrupt the function of cardiac muscle in patients with

burn and septic shocks, myocarditis, graft rejection, and chronic heart failure [29]. Along with cardiotropic effects, TNF- α is involved in the development of cachexia in cancer patients and in patients with severe heart failure. According to the findings of experimental studies, TNF- α and IL-1 β inhibit myocardial contractility *in vivo* when administered to intact animals, and *in vitro* when to the models of isolated heart, isolated papillary muscles, and in the CMC culture, contributing to LV remodeling by breaking and inducing the CMC apoptosis. Low concentrations of TNF- α cause rapid, reversible, independent of nitric oxide and prostaglandins decrease in intracellular calcium content. High concentrations of TNF- α otherwise induce a rapid and reversible decrease in the contractile ability of CMC, and this effect is canceled by inhibitors of nitric oxide synthetase. In the study, the administration of TNF- α caused a 15-20% reduction in ejection fraction (EF) under the absence of the dynamics of blood pressure and heart rate. Moreover, continuous infusion of TNF- α induced a time-dependent impairment of LV remodeling, manifesting itself in increased LV dilatation along with the decreased LV thickness, and these changes were not fully reversible after discontinuation of TNF- α , or during administration of fc-receptors. These findings suggest that the impaired LV remodeling is associated with TNF-induced degradation of the fibrillar collagen matrix. It is known that the TNF has the ability to activate the expression of matrix metalloproteinases (MMPs), which cause the degradation of extracellular matrix proteins. It was established that CMC of patients with heart failure and sepsis are capable of expression and synthesis of TNF- α , while CMC of people without heart failure do not have this ability. Thus, TNF- α , along with noradrenaline, endothelin, and A-II, is involved in the progression of myocardial dysfunction and remodeling in patients with chronic heart failure [12]. Since TNF- α plays a central role in the mechanism of development and progression of chronic heart failure, search for drugs is aimed mainly at the synthesis of drugs with the ability to inhibit the TNF- α synthesis or block the TNF- α interaction with membrane receptors.

Application of β -blockers in CHF break a vicious circle ending with SAS chronic hyperactivation, by blocking all the above mechanisms of negative impact of the increased catecholamine content. Positive effects of β -blockers in patients with chronic heart failure are as follows: a reduction in heart rate, ischemia (myocardial hypoxia), myocardial hypertrophy, the CMC death (by necrosis and apoptosis), dimensions (dilatation) of left ventricle, the restoration of β -receptors

sensitivity and response to external stimuli, an improvement of diastolic relaxation, and reduction in CMC electrical instability (arrhythmias). But not all β -blockers can have a beneficial effect on the clinical signs and hemodynamic disorders in patients with CHF. Summing up the findings obtained in large randomized trials like CIBIS, CIBIS-II, MERIT-HF and COPERNICUS Q, we can conclude that currently there are at least 3 BABs able to significantly improve the efficiency of traditional therapy. The most promising BABs for long-term use in nowadays are four drugs such as bisoprolol, bucindolol, carvedilol and metoprolol.

For example, a 4-week use of carvedilol in CHF contributed to significant reduction in the levels of proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, a fibrogenic cytokine, and a transforming growth factor- β 1 in the myocardial tissue, and was associated with reduction of MMP activity, fewer myocardial collagen and increased expression of IL-10.

The level of proinflammatory IL-6 decreased by more than 5 times in the course of therapy with carvedilol. Plasma content of γ -interferon has reached the control values. Reduction in IL-6 content in the course of carvedilol therapy may result not only from the hypotensive action of the drug, but also its vasoprotective properties [1]. The use of Carvedilol for 4-6 weeks in the treatment of CHF due to ischemic heart disease combined with type 2 diabetes and the ejection fraction >40%, showed in comparison with metoprolol a significant decrease in aldosterone level by 20%, and brain natriuretic peptide – by 30 % [16]. The influence of 24-week pharmacotherapy with Bisoprolol in patients with chronic heart failure with the activation of cytokines led to the decrease in TNF- α concentration in blood plasma by 87% [7, 10].

A mandatory group of drugs used in the treatment of chronic heart failure that improves survival of patients is ACE inhibitors. The positive effects of enalapril ACE inhibitors on further life of patients with chronic heart was demonstrated for the first time during the CONSENSUS in 1987. It was found that the mortality in the group treated with enalapril is significantly lower than in the control group. These results were later confirmed in subsequent major randomized trials in relation to other ACE inhibitor drugs [12].

All positive pharmacological effects of ACE inhibitors observed in heart failure can be divided into cardiovascular and neuroendocrine ones. For example, cardiovascular effects include a decrease in total peripheral vascular resistance, drop of pulmonary capillary-wedge pressure, reduction in regional vascular resistance in the heart, kidneys, brain, and skeletal muscles; a reduction in systolic and diastolic volumes of the left ventricle; increase in stroke volume and

cardiac output, as well as regression of LV hypertrophy. Neuroendocrine effects of ACE inhibitors are as follows: a reduction in the formation of A-II, aldosterone, noradrenaline, arginine-vasopressin, and endothelin-1, increase in the tissues and blood content of bradykinin and other kinins, potassium retention, and the increased excretion of water, sodium, and uric acid. ACE inhibitors also inhibit the proliferation and migration of smooth muscle vascular cells, contribute to the stabilization of atherosclerotic patch, have antiplatelet action and antioxidant properties, and activate endogenous fibrinolysis.

The pharmacological effects of ACE inhibitors are based on their ability to inhibit the activity of angiotensin-1-converting enzyme (or kininase II) and thus at the same time affect the functional activity of the RAAS and the kallikrein-kinin system. Inhibiting the activity of angiotensin-1-converting enzyme, ACE inhibitors reduce the formation of A-II and eventually weaken the major cardiovascular effects of RAAS including arterial vasoconstriction and aldosterone secretion. Inhibiting the activity of kininase II, ACE inhibitors reduce inactivation of bradykinin and other kinins and contribute to the accumulation of these substances in the tissues and blood. Kinins themselves or through the release of prostaglandins E₂ and I₂ have a vasodilatory and natriuretic effect. The ACE inhibitor therapy helps to recover an impaired endothelial function, i.e., its ability to release nitric oxide (endothelial relaxation factor) and tissue plasminogen activator. ACE inhibitors reduce afterload on the left ventricle of the heart, causing vasodilatation of systemic arteries and reducing the total peripheral vascular resistance, and thus improve its pumping function.

ACE inhibitors can positively affect the immune system. For the first time in 1993, an immunomodulatory effect of captopril ACE inhibitor was shown on monocytes cells. Then, it was confirmed by a series of other clinical studies. For example, Liu found a significant decrease in the level of TNF- α in patients with chronic heart failure during therapy with four different ACE inhibitors – perindopril, benazepril, enalapril, and fosinopril, which indicates the systemic nature of anti-cytokine action of this class of drugs. In addition, it was noted that the use of high doses of enalapril ACE inhibitor in patients with CHF was accompanied by a significant reduction in levels of IL-6, and the thickness of the interventricular septum of the heart. Anticytokine effect of ACE inhibitors in patients with CHF is likely mediated by a reduction of synthesis A-II – neurohormone that increases the production of cytokines, including TNF- α and

adhesive molecules through activation of the nuclear kappa-B factor playing an important role in the regulation of transcription of cytokines and adhesive molecules. In general, the increased levels of TNF- α , IL-6 and antinuclear factor are considered «biochemical markers» of LV insufficiency. According to R. Ferrari et al. an increase in the TNF levels is observed mainly in patients with functional class IV chronic heart failure. The experimental animal studies revealed that ACE inhibition reduces some of the parameters associated with inflammation in the atherosclerotic lesions and controlled by nuclear kappa-B factor, which helps to stabilize the patches. High efficiency of ACE inhibitors, is most likely caused both by modulating neurohumoral and partially by anti-inflammatory effects [3]. It should be also noted that the literature presents the results of some studies on the ability of agents of standard CHF therapy, such as cardiac glycosides, diuretics, calcium antagonists and some antiarrhythmic drugs, in particular, amiodarone, at least partially, to reduce the level of cytokines.

One also distinguishes drugs such as pentoxifylline and vesnarinone that increase intracellular cAMP levels and prevent transcription of TNF- α by blocking the intracellular accumulation of RNA and TNF- α . It should be noted that the positive effect of pentoxifylline is additionally accompanied by increased levels of inflammatory mediators, including IL-10, antagonists to both IL-1 receptors and soluble TNF- α receptors. These drugs undergo approbation in patients with chronic heart failure, although some studies have produced results showing that vesnarinone worsens the survival ability of patients with CHF. It is known that glucocorticoids can also inhibit the synthesis of TNF- α at the transcriptional and translation levels [2]. Studying the efficacy of biological drugs specifically inhibiting the activity of TNF- α is of particular interest. One of them is Enbrel. This drug binds to a biologically active TNF- α and prevents its interaction with membrane TNF- α receptor. The drug efficacy has been demonstrated by the preliminary minor placebo-controlled trials in patients with CHF. However, the large-scale, randomized, placebo-controlled studies of Etanercept, such as RENAISSANCE (Randomized Endrel North American Strategy to Study Antagonism of Cytokines) and RECOVER (Research into Antagonism of Cytokines), has recently been stopped because of the lack of positive results [13].

Despite the advances made in the treatment of patients with chronic heart failure, there is a steady progress of disease and a high level of mortality and disability. This allows suggesting that the most

important pathogenetic mechanisms of disease either retain their activity or slightly change in the course of treatment. These «immutable» mechanisms can also include both immune activation and inflammation. Involvement of inflammatory mediators in the pathogenesis of chronic heart failure opens new prospects for increasing the effectiveness of treatment of decompensated patients [18, 22, 23]. We should note that the immunoinflammatory concept of formation and progression of chronic heart failure remains understudied and valid.

References

1. Voloshina I.N. Dynamics of the cytokine profile in hypertensive patients during carvedilol treatment / Tauride Medical and Biological Bulletin. 2011. Vol. 14. No. 1 (53).
2. Dudarenko O.P. Inhibitor of synthesis of tumor necrosis factor- α , pentoxifylline, in combined therapy of the chronic heart failure / Dudarenko O.P., Shkolnik E.L., Kulikov K.G., Serova M.K., Vasiuk Iu.A. // RFK. 2008. 2. Pp. 6-12
3. Zhelnov V.V. ACE inhibitors in clinical practice / Zhelnov V.V., Petrovskaja N.V., Komarova I.S. // Russian Medical Journal. 2007. 15 (15). Pp. 1135-1141
4. Kokorin V.A. Neurohumoral impairments and methods of their correction in patients suffering the myocardial infarction / Kokorin V.A., Volov N.A., Dudareva A.V., Sytnik N.V., Geng Haischu // Russian Journal of Cardiology. 2009. 1 (75)
5. Makkonen C.F. The content of inflammatory cytokines and C-reactive protein in patients with chronic heart failure with systolic and diastolic dysfunction of the left ventricle of the heart / Makkonen C.F., Suiazova S.B., Osipova O.A., Vlasenko M.A., Godlevskaia O.M., Butikova E.A., Vlasenko O.A. // Journal of Basic Research. Medical sciences. 2012. P. 7.
6. Mareev V.Iu. Diagnosis and treatment of chronic heart failure / Ageev F.T., Arutyunov G.P., Koroteev A.V., Revishvili A.Sh. // Heart failure. 2010. Vol.11. No.1: P. 57
7. Olbinskaia L.I. The use of bisoprolol as anti-cytokine agent / Olbinskaia L.I., Ignatenko S.B. // I.M. Sechenov MMU, 2004.
8. Osipova O.A. Analysis of the importance of pro-inflammatory cytokines in the pathogenic mechanisms of progression of chronic heart failure / Osipova O.A. // System analysis and management in biomedical systems. 2013. Vol. 12. No. 3. Pp. 638-642.
9. Osipova O.A. Analysis of the immunoinflammatory mechanisms in the development and progression of chronic heart failure / Osipova O.A., Nagibina A.I., Vlasenko M.A., Godlevskaia O.M. // System analysis and management in biomedical systems. 2014. Vol. 13. No. 1. Pp. 21-25.
10. Osipova O.A. Humoral mechanisms of chronic heart failure in patients with postinfarction cardiosclerosis / Osipova O.A., Vlasenko O.A. // Scientific journal of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy. 2011. Vol. 14. No.10. Pp. 77-80.
11. Osipova O.A. Role of proinflammatory cytokines in the development of chronic heart failure / Osipova O.A., Suiazova S.B., Vlasenko M.A., Godlevskaia O.M. // Academician I.P. Pavlov Russian medico-biological bulletin. 2013. No. 2. Pp. 130-135.
12. Osipova O.A. Cytokines in the development and progression of chronic heart failure / Osipova O.A., Vlasenko M.A., Godlevskaia O.M., Suiazova S.B. // Bulletin of new medical technologies. 2012. Vol. 19. 13. No. 2. Pp. 322-327.
14. Pribylova N.N. Neurohumoral mechanisms of chronic heart failure in patients with postinfarction cardiosclerosis / Pribylova N.N., Osipova O.A. // «Heart Failure» Journal. 2009. Vol. 10. No. 4. Pp. 196-198.
15. Romanovskaia G.A. Prospects for medical treatment of endothelial dysfunction / Romanovskaia G.A., Akatova E.V., Gorokhovskaia G.N., Avetian N.G., Martyn A.I. // Pharmateka Journal. 2005. 9.
16. Shilov A.M. Carvedilol in the treatment of cardiovascular diseases / Shilov A.M., Miller M.V. // Russian Medical Journal. 2007 9: Pp. 736-742.
17. Shushliapin O.I. Effect of carvedilol on patients with heart failure and type 2 diabetes as polymorbidity pathology in internal medicine / Shushliapin O.I., Kozhin M.I., Dobrovolskaia I.N., Zolotaikina V.I., Titova A.Iu., Rynchak P.I. // Medicines of Ukraine. 2014. No. 3 (20),
18. Anker SD, Chua TP, Swan JW. Circulation 199. 96: 526- 34.
19. Kolls, J. et al. Prolonged and effective blockade of tumor necrosis factor activity through adenovirus-mediated gene transfer/ Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 1994. 91(1):215-. 9.
20. Levine B., Kalman J., Mayer I., et al. Elevated circulating level of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. New Engl.J.Med. 1990. 223: 236-241.
21. Osipova O.A. Dynamics of proinflammatory cytokines on the background of drug therapy in patients with chronic heart failure /Osipova O.A., Belousova O.N., Ephremova O.A., Suyazova S.B., Shabanov E.A., Godlevskaya O.M. // International Journal of Experimental Education. 2013. No. 6. P. 44-46.
22. Osipova O.A. The level of cytokines in the blood of patients with st-elevation acute myocardial infarction Osipova O.A., Suyasova S.B., Shekhovtsova L.V., Nagibina A.I., Vlasenko M.A., Vlasenko O.A. European Journal of Natural History. 2014. № 5. P. 31-32.
23. Peppel K. et al. A tumor necrosis factor (TNF) receptor-IgG heavy chain chimeric protein as a bivalent antagonist of TNF activity/ J.Exp.Med.- 1991. 174(6):1483-9.
24. Peppel K. et al. Expression of a TNF inhibitor in transgenic mice/ J.Immunol. 1993. 151(10):5699-703.

УДК 616.831

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-25-30

Яценко Е. А.¹
Губарев Ю. Д.²
Авдеева И. В.³
Лысых Е. А.⁴
Лапшин Д. Е.⁵

**НАРУШЕНИЕ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ У БОЛЬНЫХ
С ИДИОПАТИЧЕСКОЙ СИММЕТРИЧНОЙ КАЛЬЦИФИКАЦИЕЙ
БАЗАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ**

- 1) ассистент кафедры нервных болезней и восстановительной медицины, НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: yatsenko_ea@bsu.edu.ru
- 2) кандидат медицинских наук, доцент кафедры нервных болезней и восстановительной медицины, НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: gubarev@bsu.edu.ru
- 2) клинический ординатор 2-го года кафедры нервных болезней и восстановительной медицины, НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: Reizer95@rambler.ru
- 4) клинический ординатор 1-го года кафедры нервных болезней и восстановительной медицины, НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: Reizer95@rambler.ru
- 5) студент 4 курса факультета лечебное дело и педиатрия Медицинского института, НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: coolcrag@gmail.com

Аннотация. Когнитивные нарушения – субъективно и/или объективно выявляемое ухудшение познавательных функций (таких как, речь, память, гнозис, праксис, мышление и др.) по сравнению с исходным индивидуальным или средним возрастным и образовательным уровнями вследствие структурных, метаболических, токсических повреждений головного мозга, влияющее на эффективность обучения и профессиональной, бытовой, социальной деятельности. Изучение этиопатогенеза, совершенствование диагностики и лечения нарушения высших мозговых функций является актуальной проблемой неврологии. В статье представлен обзор литературных данных встречаемости когнитивной дисфункции различной степени выраженности у больных с идиопатической симметричной кальцификацией базальных ганглиев, их морфо-функциональной обоснованности при заболевании.

Ключевые слова: когнитивные нарушения; деменция; болезнь Фара; базальные ганглии.

Yatsenko E.A.¹
Gubarev Y.D.²
Avdeeva I.V.³
Lisich E. A.⁴
Lapshin D.E.⁵

**COGNITIVE IMPAIRMENT IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC
SYMMETRICAL CALCIFICATION OF BASAL GANGLIA**

- 1) Assistant Lecturer. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: yatsenko_ea@bsu.edu.ru
- 2) PhD in Medicine, Assistant Professor. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: gubarev@bsu.edu.ru.
- 3) 2nd Year Resident. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: Reizer95@rambler.ru
- 4) 1st Year Resident. Department of Nervous Diseases and Regenerative Medicine. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: Reizer95@rambler.ru
- 5) 4th Year Student. Faculty of Medicine and Pediatrics, Medical Institute. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: coolcrag@gmail.com

Abstract. Cognitive impairment is a subjectively and/or objectively detectable deterioration of cognitive functions (such as speech, memory, gnosis, praxis, thinking, etc.) compared with the initial individual or middle age and educational levels as a result of structural, metabolic, toxic brain injuries, influencing the effectiveness of education and training, home and social activity. The study of etiology and pathogenesis, improving diagnosis and treatment of disorders of higher brain functions is an urgent problem of neurology. The article provides an overview of the

literature data of occurrence of cognitive dysfunction of varying severity in patients with idiopathic symmetrical calcification of basal ganglia, their morpho-functional substantiation with the disease.

Key words: cognitive impairment; dementia; disease Farah; basal ganglia.

В настоящее время нарушение интеллектуально-мнестических функций при заболеваниях головного мозга является актуальной медико-социальной проблемой. Когнитивные нарушения существенно снижают качество жизни, как самого больного, так и его семьи; являются социально-экономическим и эмоциональным бременем современного общества.

С возрастанием средней продолжительности жизни и старением населения всего мира в целом когнитивные нарушения различной степени выраженности постепенно становятся приоритетными нозологическими единицами для врачей различных специальностей [6].

Говоря об интеллектуально-мнестической дисфункции, необходимо четко понимать морфо-функциональную организацию когнитивного процесса. Так, во второй половине XX века выдающийся советский ученый А. Р. Лурия предложил свою теорию системной динамической локализации высших мозговых функций. Основываясь на ней, строгой топографической связи высших мозговых функций человека с определенными структурами головного мозга нет. Когнитивные способности обеспечиваются интегрированной деятельностью всего головного мозга. Согласно этой теории, разные структурные единицы головного мозга не являются равноценными, и каждый отдел головного мозга вносит свой специфический вклад в формирование когнитивной деятельности в целом [5].

В связи с предположительной ролью той или иной церебральной единицы, головной мозг разделен на три так называемых функциональных блока: первый (или нейродинамический функциональный блок), второй и третий. По теории А. Р. Лурия, нейродинамический блок включает восходящую часть ретикулярной формации, лимбическую систему, неспецифические ядра зрительных бугров и другие подкорковые структуры. Данные анатомические структуры ответственны за мотивационно-эмоциональное обеспечение высших мозговых функций, оптимальный уровень бодрствования, концентрацию и устойчивость внимания. Соответственно, поражение структур первого функционального блока приведет к увеличению времени реакции на внешние раздражители, что, в свою очередь, будет наблюдаться в замедленности

всех когнитивных процессов: снижение способности концентрировать внимание в течение определенного времени, необходимого для выполнения работы, рассеянность внимания, повышенная утомляемость [1, 12].

К церебральным единицам, включенным во второй функциональный блок, относятся вторичные и третичные зоны корковых анализаторов соматической чувствительности, слуха и зрения. Его функция заключается в приеме, распознавании и хранении информации, полученной от рецепторного аппарата из внешнего и внутреннего мира. При повреждении структур, относящихся ко второму функциональному блоку, нарушается такая высшая мозговая функция, какгнозис. Так, при поражении коркового центра слуха, располагающегося в височной доле каждого полушария, возможно появление слуховых агнозий, теменной доли с корковыми центрами чувствительности – соматических агнозий, затылочной доли с корковым представительством зрения – зрительных агнозий. Нельзя забывать и о развитии апраксии, так как нарушение схемы тела и пространственных представлений об окружающем мире приводят к трудностям при совершении целенаправленных движений [1, 5, 12].

Третий функциональный блок образован премоторной и префронтальной корой лобных долей головного мозга, основной функцией которых является регуляция произвольной деятельности человека с постановкой четкой цели, выработкой плана для достижения поставленной цели и контролем получаемых результатов. Повреждение структур третьего блока приведет к когнитивным нарушениям дизрегуляторного характера, что будет заключаться в трудностях определения цели, нарушении программирования деятельности и недостаточности функции контроля результата. Клинически это проявляется в снижении мотивации и инициативности, невозможности выполнения работы на том или ином этапе (некими «застреваниями») и повышенной отвлекаемости, и импульсивности [5].

Теория системной динамической локализации высших мозговых функций, разработанная А. Р. Лурия и другими исследователями в 60-70 годах прошлого столетия, не потеряла своей актуальности и

сегодня. Ряд экспериментальных и клинко-инструментальных исследований последних 20 лет с применением самой передовой техники по динамической и функциональной визуализации головного мозга позволили несколько по-новому рассмотреть морфо-функциональную организацию когнитивного процесса. В первую очередь речь идет о так называемых «фронтально-подкорковых нейронных кругах», которые следуют параллельно моторному кругу, но соединяют между собой отдельные участки коры лобной доли, ядра таламуса, субталамические ядра и структуры полосатого тела [1, 5, 12].

В литературных источниках есть описание пяти лобно-подкорковых кругов, три из которых имеют тесную связь с обеспечением когнитивной деятельности человека [5, 14]. В частности, речь идет о дорсолатеральном префронтальном (или дорсальном когнитивном) круге, который берет свое начало и заканчивается в конвекситальном отделе лобной коры, и имеет связи с дорсолатеральной головкой хвостатого ядра [5]. Дорсальный когнитивный круг участвует в реализации сложных когнитивных функций, которые требуют напряженного внимания и последовательного переключения с одного этапа деятельности на другой. При недостаточности данного круга у человека появляются трудности инициации когнитивной деятельности (появляется, так называемая, брадифрения), инертность и персеверации [5, 14].

Латеральный орбитофронтальный (или вентральный когнитивный) круг начинается и заканчивается в базальных отделах коры лобной доли и связан с вентролатеральным хвостатым ядром [5]. Он принимает участие в социально-значимой регуляции поведения человека: обеспечивает торможение неадекватных поведенческих реакций в какой-либо конкретной ситуации [14]. При его поражении возникает излишняя импульсивность, расторможенность, снижение чувства дистанции, некритичность и синдром навязчивых состояний.

Медиальный фронтальный (или лимбический) круг берет свое начало и заканчивается в передней поясной извилине, и имеет связь с вентральной частью стриатума. Он тесно связан с лимбическими структурами и участвует в обеспечении эмоциональной и мотивационной регуляции поведения человека [1, 5, 14]. При его дисфункции возникают аспонтанность, апатико-абулический синдром, эмоциональное безразличие к происходящему и, в крайних случаях, акинетический мутизм [5].

Как видно из выше изложенного, все лобно-корковые круги пересекают общие для них структуры, немаловажное место среди которых занимают базальные ганглии: полосатые тела, бледный шар, черная субстанция и зрительные бугры, – играющие существенную роль в обеспечении когнитивной деятельности. В связи с этим, целый ряд патологических состояний вещества головного мозга, обусловленные различными этиологическими факторами (сосудистые, метаболические, токсические, гериатрические и дегенеративные), способны инициировать высшую мозговую дисфункцию.

На сегодняшний день современной науке известно великое множество нейродегенеративных заболеваний головного мозга, связанных с развитием когнитивных нарушений вплоть до деменции, в основе которых лежит преимущественное поражение подкорковых ганглиев, в частности, идиопатическая симметричная кальцификация базальных ганглиев или болезнь Фара.

Первое упоминание о симметричной кальцификации базальных ганглиев и зубчатых ядер мозжечка относится к трудам немецкого невропатолога К. Т. Fahr, который в 1930 году клинически описал несколько случаев слабоумия у взрослых людей с неатеросклеротическим симметричным отложением солей кальция и железа в подкорковых структурах, выявленных позднее при патологоанатомическом вскрытии [15, 17, 18]. Неатеросклеротический симметричный кальциноз базальных ганглиев и ядер мозжечка впоследствии получил его имя – болезнь Фара.

Болезнь Фара (син. феррокальциноз сосудов головного мозга) – редкое нейродегенеративное заболевание головного мозга, характеризующееся идиопатической двухсторонней симметричной неатеросклеротической кальцификацией коры полушарий, базальных ганглиев и зубчатых ядер мозжечка, связанное с отложением солей кальция и других минералов в стенках мелких артерий и артериол, а также в вещество головного мозга [4, 7, 8, 9, 11, 15]. Гистологически соли кальция и железа определяются так экстрацеллюлярно, так и в периваскулярном пространстве, преимущественно вокруг сосудов малого калибра, таких как артериолы, капилляры, реже вены. По ходу сосудов в мозговой ткани, прилежащей к ним, также обнаруживаются мелкие обособленные конгломераты солей кальция [18]. Скопления кальция имеют свою характерную ультраструктуру. Так, по данным А.

Guseo и соавт. кальцинаты, обнаруженные в церебральной ткани, состоят из тонких нитей размером 140-400 мкм. [11]. В составе минеральных комплексов выявляются также следы мукополисахаридов, алюминия, меди, кобальта, свинца, марганца, фосфора, серебра и цинка. Считается, что кальцификация тканей головного мозга является скорее маркером заболевания, а не первичной причиной клинических проявлений [2].

Причины формирования кальциевых отложений, выявляемых при болезни Фара, и патогенетическое значение отложений остаются до настоящего времени неясными. Изменений обмена кальция и фосфора при идиопатической симметричной кальцификации базальных ганглиев не выявляется, то есть диагностическим критерием при болезни Фара является отсутствие биохимических нарушений и соматических симптомов, характерных для эндокринных, митохондриальных, метаболических и других системных заболеваний [2, 14].

Согласно ряду авторов, идиопатическая двухсторонняя симметричная неатеросклеротическая кальцификация базальных ганглиев имеет аутосомно-доминантный тип наследования с неполной пенетрантностью, относится к числу редких болезней, распространённость которой составляет менее 1 случая на 1 000 000 населения [2, 11, 14, 15, 19]. Заболевание чаще встречается среди мужчин: соотношение мужчин и женщин 2:1 [2]. Есть сообщения о спорадической природе заболевания без явного семейного анамнеза, а также аутосомно-рецессивном и Х-сцепленном типе наследования с клиническими проявлениями болезни [2, 8, 15]. Первый генетический локус наследственных семейных случаев болезни Фара был картирован на хромосоме 14q13, второй на хромосоме 2q37 и третий выявлен в хромосомной области 8q21.1-q11.23 [2, 8, 9, 11, 19]. Судя по количественному показателю хромосом, выявленных при семейных случаях заболевания, можно сказать, что болезни Фара присуща генетическая гетерогенность.

Считается, что прижизненно идиопатическая двухсторонняя симметричная неатеросклеротическая кальцификация базальных ганглиев диагностируется в 1-2 % случаев. Это связано с тем, что некоторые случаи болезни Фара протекают бессимптомно или не выявляются вовсе, скрываясь под маской других нейродегенеративных заболеваний или протекая параллельно с ними (в частности, речь идет о болезни Паркинсона). Так,

Goldscheiser и соавт. проведя компьютерную томографию головного мозга у 8000 больных, обнаружили признаки кальцификации базальных ганглиев у 19 пациентов, и только у 6 из них имелись клинические признаки болезни Фара [9, 11]. Еще одним примером редкой встречаемости симметричной кальцификации базальных ганглиев можно считать работу В. В. Пономарева: из 45 000 КТ-исследований, проведенных на протяжении 15 лет, отложение кальция в подкорковых базальных ганглиях выявлено у 22 пациентов (что составляет 0,04 %), клиническая симптоматика отмечалась только у 2-их [9].

Болезнь поражает людей в любом возрасте, но обычно клиническая манифестация приходится на молодой и средний возраст (от 30 до 60 лет); есть данные о развитии заболевания и в детском возрасте [2, 13, 14, 18]. Необходимо добавить, что идиопатическая форма кальцификации базальных ганглиев может протекать и асимптомно, в связи с тем, что для появления неврологического дефицита общий объём кальцификации должен превышать 3,9 см³ [8, 14].

Заболевание, как правило, проявляется в виде прогрессирующего экстрапирамидного синдрома, включающего паркинсонизм и гиперкинезы (хорея, атетоз, дистония и др.), переходящих или стойких пирамидных знаков, мозжечковой симптоматики, эпилептических приступов и когнитивных нарушений, вплоть до развития деменции подкорково-лобного типа [9, 11, 13, 14]. Первыми симптомами заболевания часто бывают неповоротливость, утомляемость, неустойчивая походка, замедленная или растянутая речь, дисфагия, произвольные движения или мышечные судороги; может иметь место недержание мочи [2, 14].

Нейропсихологическое обследование у больных с идиопатической двухсторонней симметричной неатеросклеротической кальцификацией базальных ганглиев выявляет снижение показателей кратковременной и долговременной памяти, нарушение аналитико-синтетических процессов, что связано с вовлечением в процесс лобно-подкорковых нейронных кругов [5, 13, 14].

Современными исследователями, активно занимавшимися изучением вопроса о региональном кровоснабжении мозга при массивных внутримозговых кальцификациях, подтверждается снижение перфузии мозговых структур в зонах обывествления, что позволяет судить о наличии хронической ишемии мозговой ткани с развитием когнитивных и двигательных

нарушений [16]. Развивающиеся когнитивные нарушения ряд авторов объясняют экстенсивным типом кальциноза (как первопричина) и следующим за ним вторичным нарушением метаболизма нервной ткани [9, 11]. На молекулярном уровне вторичное повреждение тканей мозга вызвано, как отложением кальция и других минералов в сосудистой стенке и периваскулярном пространстве, так и нарушением транспорта железа и индукции свободнорадикальных окислительных процессов. Вокруг кальцификатов накапливаются мукополисахариды и сходные с ними вещества, что вызывает прогрессирование минерализации базальных ганглиев и приводит к механическому сдавлению сосудистого просвета, инициируя цикл последующих патологических процессов – снижение кровенаполнения сосудов, повреждение ткани и дальнейшую минерализацию [2, 10]. При снижении мозгового кровоснабжения в области кальцификации происходит срыв локальной ауторегуляции мозговой ткани, после чего запускаются звенья ишемического каскада с развитием повреждения тканей в стратегически важных зонах (базальных ганглиях) [3]. То есть, в данном случае, замыкается определенный «порочный» круг.

Так же одним из важных компонентов в повреждении церебральной ткани при нейродегенеративных заболеваниях являются эффекты монооксида азота и пероксинитрита, которые синтезируются всеми клетками головного мозга, в том числе нейронами, эндотелиальными и глиальными клетками. Монооксид азота вырабатывается под действием ферментов-синтаз 1 и 3 типов в ответ на повышение внутриклеточного кальция, что бывает при окислительном стрессе. Все эти события ведут к изменениям мозгового кровотока, нарушениям синаптических процессов, изменению когнитивных и поведенческих функций [13].

Таким образом, подкорковые базальные ганглии играют весьма существенную роль в обеспечении когнитивной деятельности человека. Полосатые тела, являются важными информационными реле, которые получают коллатерали от проводящих сенсорных путей и принимают на себя нисходящие влияния со стороны различных корковых представительств головного мозга. Результат суммации и анализа полученной информации полосатые тела через систему бледного шара и таламуса передают на префронтальные отделы лобных долей головного

мозга, участвующие в морфо-функциональном обеспечении подкорково-лобных нейронных кругов [5].

Поражение полосатых тел или других подкорковых структур при идиопатической двухсторонней симметричной неатеросклеротической кальцификации, интегрированных в стриарно-фронтальные связи, неизбежно ведет за собой возникновение когнитивных нарушений вплоть до развития деменции, независимо от возраста пациента.

Литература

1. Бер М., Фротшер М. Топический диагноз в неврологии по Петеру Дуусу: анатомия, физиология, клиника. Перевод с англ. под ред. О. С. Левина. М.: Практическая медицина, 2015. 608 с.
2. Болезнь Паркинсона и идиопатическая стриатопаллидодентатная кальцификация / Загорская Т. Б., Иллариошкин С. П., Брюхов В. В., Тимербаева С. Л. // Первые болезни. 2014. № 1. С. 32-36.
3. Губарев Ю. Д., Яценко Е. А., Чефранова Ж. Ю. Эффективность паравазальной лимфотропной иммуномодулирующей терапии хронической дисциркуляторной атеросклеротической энцефалопатии // Аллергология и иммунология. 2013. Том 14. № 2. С. 137.
4. Жукова М. А. Болезнь Фара: особенности диагностики заболевания // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2014. Том 4. №5. С. 651.
5. Захаров В. В., Яхно Н. Н. Когнитивные расстройства в пожилом и старческом возрасте. Методическое пособие для врачей. Москва, 2005. 71 с.
6. Комплексная оценка изменений церебрального метаболизма у пациентов с когнитивными нарушениями сосудистого и нейродегенеративного генеза / Лупанов И. А., Одинак М. М., Лобзин В. Ю., Бойков И. В., Емелин А. Ю., Воробьев С. В. // Журнал неврологии и психиатрии, материалы конгресса. 2014. Том 114. № 8. С. 144-145.
7. Лапшин Д. Е., Яценко Е. А., Коровяковский А. В. Диагностика болезни Фара методом мультиспиральной компьютерной томографии. Белгород, 2015. 9 с.
8. Макомела Н. М. Идиопатическая симметричная энцефальная кальцификация // Променева диагностика, променева терапия. 2010. № 1. С. 38-41.
9. Пономарев В. В., Науменко Д. В. Болезнь Фара: клиническая картина и подходы к лечению // Журнал неврологии и психиатрии. 2004. Том 104. № 3. С. 62-64.
10. Соколова Л. П. Перфузия и кровоснабжение головного мозга при додементных когнитивных расстройствах различного генеза // Радиология – практика. 2011. № 5. С. 51-57.
11. Тищенко В. Н., Тищенко Г. В. Болезнь Фара при патологоанатомическом исследовании (случай из практики) // Проблемы здоровья и экологии. 2013. Том 36. № 2. С. 149-153.

12. Триумфов А. В. Топическая диагностика заболеваний нервной системы.– 18-е изд. – М.: МЕД пресс-информ. 2014. 264 с.

13. Чухловина М. Л. Деменция. Диагностика и лечение. СПб, Питер, 2010. 272 с.

14. Шток В. Н., Левин О. С., Федорова Н. В. Экстрапирамидные расстройства: Руководство для врачей, 2-е издание, переработанное и дополненное. Москва, Медицинское информационное агентство, 2002. 235 с.

15. A Fahr's disease case presenting with dementia / Aslıhan Akşar, Jülide Yılmaz, Hazel Tanrıku, Aslan Tekataş // Turkish Medical Student Journal. Volume 2:2. 2015. P. 93-96.

16. Evaluation of Regional Cerebral Blood Flow in Massive Intracerebral Calcifications / Uygur G A, Yu Liu, Heilman R S., Tikofsky R., David Collier B. // J Nuc Mod, 1995. Volume 36. P. 610-612.

17. Fahr's syndrome: Three cases presenting with psychiatric signs / Murat Gülsün, Ali Fuat Baykız, Serdar Kabataş, Hasan Belli // Eur J Gen Med, 2006. Volume 3, no. 1. P. 35-40.

18. Idiopathic Basal Ganglia Calcification Presented with Impulse Control Disorder. Case Reports in Endocrinology / Cem Sahin, Mustafa Levent, Gulhan Akbaba, Bilge Kara, Emine Nese Yeniceri, and Betül Battaloglu Inanc // Hindawi Publishing Corporation, 2015. P. 4.

19. Mutation Analysis of SLC20A2 and SPP2 as Candidate Genes for Familial Idiopathic Basal Ganglia Calcification / Fereshteh Ashtari, Kioomars Saliminejad, Ali Ahani, Koorosh Kamali, Zhamak Pahlevanzadeh, and Hamid Reza Khorram Khorshid // Avicenna Journal of Medical Biotechnology, № 4. 2013. P. 251-256.

References

1. Ber M., Frotsher M. Topical Diagnosis in Neurology by Peter Duusu: Anatomy, Physiology, Clinic. Translated from English. ed. O. S. Levin. M.: Practical Medicine, 2015. 608 pp.

2. Parkinson's Disease and Idiopathic Striatopallidodental Calcification / Zagorovskaja T. B., Illarioshkin S. P., Bryukhov V. V., Timerbaeva S. L. // Nerve disease. 2014. № 1. Pp. 32-36.

3. Gubarev Y.D., Yatsenko E.A., Chefranova J.Y. Efficiency of Paravasal Lymphotropic Therapies of Dyscirculatory Chronic Atherosclerotic Encephalopathy // Allergology and Immunology. 2013. Vol 14. № 2. P. 137.

4. Zhukov M.A. Farah Disease: Diagnostic Features of the Disease // Bulletin of Medical Internet conferences. 2014. Volume 4. №5. P. 651.

5. Zakharov V.V., Yahno N.N. Cognitive Disorders in the Elderly and Senile Age. Manual for physicians. Moscow, 2005. 71 p.

6. A Comprehensive Assessment of Changes in Cerebral Metabolism in Patients with Vascular Cognitive Impairment and Neurodegenerative Genesis / Lupanov I.A., Odinak M.M., Lobzin V.Y., Boykov I.V., Emelin A.Y., Vorobiev S.B. // The Journal of Neurology and

Psychiatry, the materials of the Congress. 2014. Vol 114. № 8. Pp. 144-145.

7. Lapshin D.E., Yatsenko E.A., Korovyakovsky A.V. Diagnostics of Farah Disease with the Multislice Computed Tomography. Belgorod, 2015. 9 p.

8. Makomela N.M. Idiopathic Symmetrical Encephalo-calcification // Promeneva diagnostika, promeneva terapiya. 2010. № 1. Pp 38-41.

9. Ponomarev V.V., Naumenko D.V. Farah Disease: Clinical Presentation and Treatment Approaches // The Journal of Neurology and Psychiatry. 2004. Vol. 104. № 3. Pp. 62-64.

10. Sokolova L.P. Perfusion and the Brain Blood Supply in Pre-dementia Cognitive Disorders of different geneses // Radiology – Practice. 2011. № 5. Pp. 51-57.

11. Tishchenko V.N., Tishchenko G. V. Farah disease at postmortem examination (case study) // Problems of health and the environment. 2013. Vol 36. № 2. Pp.149-153.

12. Triumphov A.V. Topical Diagnosis of Diseases of the Nervous System. 18th ed. – M.: MED press-inform. 2014. 264 p.

13. Chukhlovina M.L. Dementia. Diagnosis and Treatment. St. Petersburg, St. Petersburg, 2010. 272 p.

14. Shtok V.N., Levin O.S., Fedorova N.V. Extrapyramidal Disorders: A Guide for Physicians, 2nd edition, revised and updated. Moscow, Medical Information Agency, 2002. 235 pp.

15. A Fahr's disease case presenting with dementia / Aslıhan Akşar, Jülide Yılmaz, Hazel Tanrıku, Aslan Tekataş // Turkish Medical Student Journal. Volume 2: 2. 2015. Pp. 93-96.

16. Evaluation of Regional Cerebral Blood Flow in Massive Intracerebral Calcifications / Uygur GA, Yu Liu, Heilman R S., Tikofsky R, David Collier B. // J Nuc Mod, 1995. Volume 36. Pp. 610-612.

17. Fahr's syndrome: Three cases presenting with psychiatric signs / Murat Gülsün, Ali Fuat Baykız, Serdar Kabataş, Hasan Belli // Eur J Gen Med, 2006. Volume 3, no. 1. Pp. 35-40.

18. Idiopathic Basal Ganglia Calcification Presented with Impulse Control Disorder. Case Reports in Endocrinology / Cem Sahin, Mustafa Levent, Gulhan Akbaba, Bilge Kara, Emine Nese Yeniceri, and Betül Battaloglu Inanc // Hindawi Publishing Corporation, 2015. P. 4.

19. Mutation Analysis of SLC20A2 and SPP2 as Candidate Genes for Familial Idiopathic Basal Ganglia Calcification / Fereshteh Ashtari, Kioomars Saliminejad, Ali Ahani, Koorosh Kamali, Zhamak Pahlevanzadeh, and Hamid Reza Khorram Khorshid // Avicenna Journal of Medical Biotechnology, № 4. 2013. Pp. 251-256.

UDC 616.833:616-006.44-085

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-31-35

Gubarev Y.D.¹
Yatsenko E.A.²
Avdeeva I.V.³

**PECULIARITIES OF POLYNEUROPATHY
IN THE PERIPHERAL T-CELL LYMPHOMA WITH CYTOSTATICS**

- 1) PhD in Medicine, assistant professor of nervous diseases and regenerative medicine, NIU «BSU», 308015, Belgorod, Pobedy Str., 85, Russia, E-mail: gubarev@bsu.edu.ru
- 2) assistant chair of nervous diseases and regenerative medicine, NIU «BSU», 308015, Belgorod, Pobedy Str., 85, Russia, E-mail: yatsenko_ea@bsu.edu.ru
- 3) residents of the 2nd year of the department of nervous diseases and regenerative medicine, NIU «BSU», 308015, Belgorod, Pobedy Str., 85, Russia, E-mail: Reizer95@rambler.ru

Abstract. The number of patients with malignant tumors has increased steadily. Every year more than 12 million new cases are registered, including non-Hodgkin's lymphoma. A modern problem in medicine consists of not only paraneoplastic processes accompanying the tumor, but a complication of anticancer therapy – neurotoxicity. This paper presents data on the occurrence and form of polyneuropathy in the peripheral T-cell lymphoma, and its main pathogenesis elements. Here the toxic effects of cytotoxic drugs and their role in the impairment of the nervous system have been described.

Key words: polyneuropathy; cytostatics; vincristine; peripheral T-cell lymphoma; onconeural antigens; nephrotoxicity.

Губарев Ю.Д.¹
Яценко Е.А.²
Авдеева И.В.³

**ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ПОЛИНЕЙРОПАТИИ
ПРИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ
НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ЦИТОСТАТИКАМИ**

- 1) кандидат медицинских наук, доцент кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: gubarev@bsu.edu.ru
- 2) ассистент кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: yatsenko_ea@bsu.edu.ru
- 3) клинический ординатор 2-го года кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: Reizer95@rambler.ru

Аннотация. Число больных со злокачественными новообразованиями неуклонно возрастает. Ежегодно регистрируется более 12 миллионов новых случаев, среди которых не последнее место занимают неходжкинские лимфомы. Современной проблемой для медицины являются не только паранеопластические процессы, сопровождающие опухоль, но и осложнение противоопухолевой терапии – нейротоксичность. В статье приведены данные о встречаемости и форме полинейропатии при периферической Т-клеточной лимфоме, ее основных звеньях патогенеза. Описано токсическое действие цитостатиков и их роль в поражении нервной системы.

Ключевые слова: полинейропатия; цитостатики; винкрестин; периферическая Т-клеточная лимфома; онконейральные антигены; нейротоксичность.

An impairment of the peripheral nervous system in malignant tumors, regardless of patient age, is still a significant problem with many unresolved issues the neurologists have faced with. In particular, there is the question remaining open of the differential diagnosis of paraneoplastic and post-chemotherapeutic disorders of the peripheral nervous system.

The number of patients with malignant tumors has increased steadily worldwide. According to the experts'

calculations, more than 12 million new cases are detected yearly. Consequently, the overall death rate from cancer is expected to reach 7.6 mil. people annually (about 20,000 deaths from cancer a day) [33]. It is known that lung cancer ranks first in male mortality, both in the Russian Federation and worldwide. Breast cancer ranks first in the female cancer morbidity in Russia [11]. However, one should not forget about less common cancer formations such as T-cell lymphomas, which are 12-15% of all types

of lymphomas, while the share of peripheral T-cell lymphomas accounts for 4-7% [15, 18]. According to statistics, peripheral T-cell lymphoma is detected in 1 case out of 100 thousand people per year [22]. Regardless of the features of the tumor development and progress, with rare exceptions, it is an aggressive type: the median overall survival of patients with the peripheral T-cell lymphoma in the basic CHOP-therapy (Cyclophosphamide, Hydroxyldaunomycine, Oncovin, Prednisolone) is 11-34 months [3, 19, 22]. A T-cell phenotype is an independent factor of unfavorable prognosis [34].

Paraneoplastic polyneuropathy is approximately 1% of all types of polyneuropathy, but currently there is no sufficient data to confirm such a low statistics of this disease [6, 7, 9, 11, 13, 29, 31]. Thus, paraneoplastic polyneuropathy occurs in 5% of patients with cancer [6, 30, 31]. On the other hand, after analyzing the data from the literature, it was found that the impairment of the nervous system against lymphomas occurs quite often and reaches 5-29% of cases, and about 5-10% impairs the peripheral nervous system (although, there are still no exact data on the statistics of peripheral T-cell lymphoma) [15, 30].

It is known that the development of paraneoplastic polyneuropathy is associated not only with one of the following factors, such as compression of the nerves by the tumor itself, the impairment of the nervous system with either metastasis or side effects of radiotherapy, chemotherapy, or metabolic, vascular, hormonal changes, or opportunistic infections [1, 5, 7, 11, 31, 32]. It is more reasonable to stick to the multifactorial nature of the impairment of the peripheral nervous system. It is necessary to consider the fact that patients by the time of having recourse to the neurologist, in most cases, have already received at least one course of chemotherapy, because an immune mechanism of impairment occurs inseparably with both the toxic effects of drugs, and under the developed microcirculatory endothelial dysfunction that resulted in the nervous tissue hypoxia with further demyelination and axonal degeneration [4].

L. Thomas and F. Burnet described the basis of the pathogenesis of the cancer and nervous system interaction back in the mid-1950s in their concept of the immune response under cancer. They suggested that immune mechanisms have an effect on tumor cells, inducing thereby the formation of anti-tumor antibodies, which damage the nerve cells [31].

Based on the current visions of the immune system, it is assumed that paraneoplastic lesion of the peripheral nervous system can be caused by immunological processes that are provoked by the presence of tumor formation in cells and the cross-reactive antigens in the nervous system [1, 7, 9, 10, 11, 21, 29]. In some cases, the cells of malignant tumors start inexplicably to synthesize foreign substances (proteins), which are produced in normal conditions either within or on the surface of nerve cells. As a result, a synthesis of such neuronal proteins (so-called paraneoplastic antigens) in the tumor cells lying outside the nervous system causes the activation of the immune system, which in turn leads to the autoimmune response,

i.e. to both production onconeural autoantibodies against the paraneoplastic antigens and, possibly, appearance of specific T-lymphocytes. Further, antibody-specific T-cells generated under the autoimmune response interact with the structures of the nervous system, which contain normal proteins identical in their structure to paraneoplastic antigens, that ultimately damages the neurons (including motor neurons of the anterior horns, and the spinal ganglia cells), and peripheral nerve fibers [1, 9, 10, 11, 12, 24, 31]. Onconeural autoantibodies are IgG, which, circulating in the patient's blood, penetrate into the cerebrospinal fluid by passive diffusion, where they can attack the normal proteins identical to onconeural antigens, causing thereby the specific degeneration of the nervous system [8].

E. Day was the first to describe in 1965 the appearance of antigens specific to normal, non-homologous to tumor, tissues in the malignant cells [25, 30]. He called this phenomenon of antigenic divergence. Independently from E. Day, the researches of Institute of Cytology RAS also detected this phenomenon (Fel et al., 1965, 1966) [25]. Antigens, which ensure the antigenic divergence, were identified as heteroorganic (in our case – onconeural antigens), namely the antigens typical of the tissues non-homologous to the tumor [30]. Currently, there is an active detection and investigation of onconeural antigens and the «response» antibodies synthesized by the immune cells. This is due to the fact that antibodies to onconeural antigens may appear in the blood well before a patient is diagnosed with cancer, and may thus serve as a very early diagnostic indicator of cancer formation and its possible paraneoplastic manifestations, both in the central nervous and in peripheral system [25].

Some literature describes neurological deficit on the background of lymphomas (particularly, of peripheral T-cell lymphoma) as a subacute, progressive flaccid tetraparesis that is a result of damage to the motor neurons of the spinal cord, followed by typical motor impairment, but with a much slighter manifestation of muscle fasciculations. There may also be the segmental damages to motor neurons with the development of paresis in individual muscle groups. More often phenomenon observed under peripheral T-cell lymphoma is an impairment of somatic nervous system [28, 31]. In this case, the clinical pattern includes motor polyneuropathy, for which the presence of pain and damage to the cranial nerves is unusual, with minimal sensitive dysfunction. Very rarely, the upper motoneuron of motor cortical areas may be involved in the process with the development of hyperreflexia, pathological appearance of symptoms (extensor stopnye symptoms, such as Babinski), and clonuses, even in the absence of metastases [28].

Speaking about the impairment of the peripheral nervous system on the background of malignancy, we should remember the specific systemic complications of chemotherapy such as neurotoxicity [8, 11, 20]. A large group of modern, highly effective anticancer drugs used in the treatment of cancer pathognomonic for paraneoplastic polyneuropathy, leads to clinically significant, dose-limiting neurotoxicity, which requires the adjustment and

timely correction of dose, delay of the next cycles of chemotherapy, or discontinuation of treatment [11, 13, 23, 26, 27]. According to the literature, 15-77.8% of cancer patients undergoing chemotherapy (and up to 100% of cases when treated with Vincristine) have the developing toxic polyneuropathy, which significantly complicates the prognosis for the underlying disease [2, 20].

Unfortunately, the mechanisms of peripheral neurotoxicity have not been fully determined yet. The most reasonable assumption is that the neurotoxicity manifestation is usually the result of an impaired axonal microtubular architectonics along with direct damage to the distal parts of axons (development of destructive axonopathy) [8, 9, 11, 13, 23, 26]. A diffuse or segmental demyelination of neurons – mielinopatiya, or degeneration of neuron bodies – neyronopatiya are observed less commonly [11, 16, 23, 26].

The main pathogenetic element of the peripheral axonopathy is a damage to intracellular protein – tubulin, which plays a leading role in ensuring normal physiology of the nervous system [7, 8, 9, 13, 23, 26]. There is also evidence of involving the proteins such as kinesin and actin in the pathological process, with their subsequent damage [13, 23]. Comprehension of the pathogenesis of axonal degeneration of nerve fibers is based on the fact that the peripheral axons and spinal ganglia have no blood-brain barrier, in contrast to the CNS. The cytostatic metabolites penetrate by direct diffusion into the nerve fibers from the surrounding interstitial fluid with their further accumulation there and damage to tubulin [7, 8, 9, 13, 23, 26]. As a result, both the structure and function of microtubules is impaired and, consequently, axonopathy of sensory fibers occurs.

The above pathological process explains also a preferential manifestation of neurosensory disorders in comparison with lack of motor activity during chemotherapy. The bodies of motor neurons are located in the anterior horns of the spinal cord, defending them from the influence of metabolites of antitubulin cytostatic agents with the use of blood-brain barrier mechanisms [23].

Antineoplastic drugs from the group of vinca alkaloids, one of which is vincristine that causes depolymerization of microtubule tubulin, have serious damaging effect on the peripheral nervous system [14, 20, 23, 26, 35]. Chemotherapy-induced peripheral sensory (sensorimotor less when high doses of the drug) polyneuropathy occurs as a result of vincristine therapy in 43% -100% of patients undergoing a specific treatment of the underlying disease under basic treatment (in particular, peripheral T-cell lymphoma). This is a degenerative axonal neuropathy by the nature of damage. The literature also mentions an extremely rare, empirically proved axonal-demyelinating neuropathy, occurring under vincristine therapy: a cytostatic agent can affect Schwann cells and myelin sheath, as well as cause «pseudoaxonal» neuropathy with the axon-»ingrowing» Schwann cells with their further segregation into individual parts. The involvement of the nodes of Ranvier in the pathological process with their subsequent degeneration was

experimentally recorded. Probably, the myelin sheath of the nerve can be damaged due to the toxic effect of cytostatic agent, secondary to axonopathy due to the autoimmune destruction and imbalance between demyelinating and reparative processes [20].

The stimulation electroneuromyographic examinations of patients with malignant tumors, undergoing chemotherapy, allow clarifying the nature and degree of damage to peripheral nerve fibers. The most commonly revealed signs are ones of axonal damage to sensitive fibers in the form of reduced amplitude of sensory response and/or M-response under motor fibers lesion [20]. We should clarify that the motor disorders and, consequently, damage to the motor fibers detected at the stimulation electroneuromyography in vincristine-receiving patients, were recorded 10 years after the end of the therapy [20, 36]. Increase in drug doses can lead to the demyelinating lesion of the nerve fibers manifesting itself in the reduced speed of nerve impulse and increased duration and latency of M-response [20].

Clinical signs of chemoinduced peripheral polyneuropathy occur a few weeks after the start of the chemotherapeutic treatment of the malignant neoplasm. Unlike most of other chemotherapy complications, the clinical signs of neurotoxicity are subjective and relate to neurosensory disorders in patients [11, 13, 23]. Peripheral neurosensory dysfunction may manifest itself as hypoesthesia, dysesthesia, numbness, paresthesias in the distal extremities, deterioration of proprioceptive, vibration, temperature and tactile sensitivity, sometimes with pain syndrome [11, 13, 20, 23]. The most typical of toxic damage to the peripheral nervous system with metabolites of cytostatic agents is a symmetric sensory neuropathy with lower extremities predominance. There may be development of a substantial limitation of routine activity of the patient, which is due to advanced cases of an underlying disease (inability to walk, write, using cutlery, etc.). Long after, there occur related disorders of motor function in the form of mild to moderate muscle weakness and muscle atrophy [23].

The direct damage to the cerebrospinal ganglia with metabolites of cytostatic agents leads to earlier appearance of neuronopathy symptoms rather than of axonopathy ones [26]. Timeframes differ significantly – a few hours or days after administration of cytostatics. Neurological deficit under neuropathy consists in both the lower and upper extremities impairment, a rapid loss of deep reflexes, muscle weakness, and there may be typical herpes sores in the corresponding dermatomes in this situation. Typically, damage to the spinal ganglia is associated with high doses of cisplatin and taxanes, especially when combined [23].

The action of the metabolites of anticancer drugs, particularly vincristine, along with peripheral neurotoxicity may result also in central neurotoxicity [23]. Several foreign and domestic authors describe its appearance in the clinical signs of cranial nerve impairment [14, 23, 35]. According to Bay A., a bilateral ptosis and an ophthalmoplegia may occur [35]. Dixit G. also describes the involvement of the cranial nerves into pathological

process during vincristine therapy, citing the specific anatomical structures such as optic, return, guttural, oculomotor, trochlear, and abducens nerves, as well as the symptoms upon their impairment in the form of a bilateral outer ophthalmoplegia, hoarseness, and short-term visual acuity reduction [17]. Perhaps, in this situation, an additional cranial pathology is a predictor of the chemoinduced polyneuropathy, which will allow the dedicated experts to adjust further treatment.

Summary. After analyzing the literature data and the clinical case, we can state with assurance that it is quite difficult to determine the leading damaging component in the nervous system in patients undergoing chemotherapy for peripheral T-cell lymphoma.

The emergence and rapid progression of neurosensory disorders in the extremities and occurrence of additional multiple craniopathy may be a predictor of clinical signs, being indicative of a toxic component of cytostatic agents in the development of chemoinduced polyneuropathy.

As a rule, a polyneuropathy under peripheral T-cell lymphoma is of mixed nature, including both paraneoplastic and toxic components.

The prognosis for axon-degenerating, chemoinduced peripheral polyneuropathy is unfavorable.

References

1. Belyakov K.M. Features of morphological pattern of blood plasma under polyneuropathy / K.M. Belyakov // Neurological Bulletin. Vol. 2007. XXXIX. Ed.1. P. 115-118.
2. Belyakov K.M. Dysmetabolic polyneuropathy: clinical electroneuromyographic criteria for diagnosis, the pathogenesis, and new methods of regenerative therapy: Author's Abstract M.D.: 14.00.13 / K.M. Belyakov. Nizhny Novgorod, 2009. P. 47.
3. Gluzman D.F. New WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissue. III. Lymphoid neoplasms / D.F. Gluzman, V.A. Nadgoraia, L.M. Skliarenko, I.V. Abramenko // Oncology. 2001. Vol. 3. No. 2-3. P. 211-215.
4. Gubarev Iu.D. Diagnosing the severity of cognitive impairment in patients with dyscirculatory encephalopathy / Iu.D. Gubarev, Z.Iu. Chefranova, E.A. Chueva, A.O. Sheremet // Scientific Journal. Medicine series. Pharmacy. 2010. No. 22 (93). Ed. 12/1. P. 71-74.
5. Dumanskii Iu.V. Paraneoplastic syndrome under hepatocellular cancer / Iu.V. Dumanskii, V.Kh. Basheev, R.V. Ishchenko, P.S. Lasachko // International medical journal. 2013. No. 4. P. 51-56.
6. Iozhikova V.V. Differential diagnosis of paraneoplastic polyneuropathy / V.V. Iozhikova, T.E. Popova, A.V. Diuzhakova, N.A. Schneider, Iu.A. Dykhno // Collection of abstracts of the Russian scientific-practical conference with international participation in clinical differential diagnosis of neuromuscular diseases. M.: Publishing House ABC press Ltd.. 2014. P. 35-36.
7. Koroleva E.S. Paraneoplastic polyneuropathy in patients with lung cancer and breast cancer: Author's Abstract. Cand. PhD Med: 14.01.12 / E.S. Koroleva. Tomsk, 2013. P. 27.
8. Koroleva E.S. Clinical, neurophysiological and immunological examination of cancer patients with lesions of the peripheral nerves / E.S. Koroleva, V.M. Alifirova, V.E. Goldberg, N.S. Novikova, I.A. Zhukova // Bulletin of Siberian medicine. 2013. Vol. 12. No. 5. P. 39-45.
9. Koroleva E.S. Impairment of paraneoplastic peripheral nerves and toxic genesis in patients with breast cancer and small-cell lung cancer / E.S. Koroleva, V.M. Alifirova, V.E. Goldberg, S.A. Ivanova, I.S. Losenkov // Neurology Journal. 2013. No. 6. P. 27-32.
10. Koroleva E.S. The role of the antibodies to onconeural paraneoplastic polyneuropathy in the early diagnosis of cancer / E.S. Koroleva, V.E. Goldberg, V.M. Alifirova, E.I. Simolina // Siberian Journal of Oncology. 2013. No. 1. P. 28-31.
11. Koroleva E.S. Features of paraneoplastic polyneuropathy in patients with breast cancer after cytostatic chemotherapy / E.S. Koroleva, V.M. Alifirova, E.I. Simolina, N.A. Popova, N.S. Novikova // Siberian Journal of Oncology. 2012. No. 4. P. 25-29.
12. Koroleva E.S. Diagnosing the paraneoplastic polyneuropathy in patients with breast cancer and small-cell lung cancer / E.S. Koroleva, I.S. Losenkov, V.M. Alifirova, S.A. Ivanova, V.E. Goldberg, N.S. Novikova // Journal of Neurology and Psychiatry. 2014. No. 4. P. 93-96.
13. Koroleva E.S. Comparative analysis of clinical and electroneuromyographic indicators in patients with secondary polyneuropathy / E.S. Koroleva, R.B. Tsyrenzhapova, V.M. Alifirova, N.S. Novikova // Bulletin of Siberian medicine. 2012. No. 3. P. 43-47.
14. Kuznetsova E.I. Neurobiological characteristics of neurotoxicity in children with lymphoid tumor under programmed treatment: Author's Abstract ... Doctor of Biol.: 14.03.03. / E.I. Kuznetsova. Moscow, 2014. P. 54.
15. Kushnir G.M. Case of multiple mononeuropathy in a patient with non-Hodgkin's lymphoma / G.M. Kushnir, E.A. Savchuk, N.N. Ioshina, N.Iu. Novikov, O.S. Kuzina, A.V. Berezhnoi // International Neurological Journal. 2014. No. 8. P. 114-117.
16. Levin O.S. Polyneuropathy: Clinical Guidelines. M.: Medical Information Agency. 2005. P. 495.
17. Malevich O B. Vincristine-induced cranial neuropathy in a child with Ewing sarcoma / O.B. Malevich // Russian Journal of Hematology. 2015. No. 2. P. 85-88.
18. Poddubnaia I.V. Non-Hodgkin's lymphoma / Ed. M.A. Volkova // Clinical oncohematology: guide for doctors. M.: Medicine, 2007. P. 724-771.
19. Podoltseva E.I. Features of treatment of aggressive lymphoma / E.I. Podoltseva // Practical Oncology. 2004. Vol. 5. No. 3. P. 194-202.
20. Politova E.A. Neuromuscular disorders in the treatment of acute leukemias and lymphomas (literature review) / E.A. Politova, N.N. Zavadenko, A.G. Rumiantsev // Oncohematology. 2013. No. 4. P. 24-31.
21. Ponomarev V.V. Autoimmune diseases in neurology / V.V. Ponomarev. Minsk: Beraruskaya Navuka, 2010. P. 262.

22. The Russian clinical guidelines for diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases / under guidance of I.V. Poddubnaia, V.G. Savchenko. M.: Media Medica, 2013. P. 104.

23. Semenova A.I. Cardio- and neurotoxicity of anticancer drugs (pathogenesis, clinical pattern, prevention, treatment) / A.I. Semenova // Practical Oncology. 2009. Vol. 10. No. 3. P. 168-176.

24. The method of establishing the genesis of paraneoplastic polyneuropathy: Patent No. 2315304 Rus. Federation: MPK51 G 01 N 33/49 / K.M. Beliakov, Iu.P. Potekhina; applicant and patentee SEI HPE Nizhny Novgorod State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development. – № 2006103269/15; appl. 06.02.2006; publ. 20.01.2008. P. 8.

25. Tiuriaeva I.I. Tumor antigens / I.I. Tiuriaeva // Cytology. 2008. Vol. 50. No. 3. P. 189-209.

26. Kholodova N.B. Features of clinical signs and treatment of polyneuropathy occurring after chemotherapy / N.B. Kholodova, V.M. Sotnikov, N.Iu. Dobrovolskaia, Iu.A. Ponkratova // S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2013. No. 5. P. 20-24.

27. Kholodova N.B. Features of clinical signs and treatment of postchemotherapeutic polyneuropathy / N.B. Kholodova, V.M. Sotnikov, N.Iu. Dobrovolskaia, Iu.A. Ponkratova // Bulletin of Russian Scientific Center of Radiology of the Russian Federation. 2010. № 10.

28. Shakirova I.N. Paraneoplastic syndrome / I.N. Shakirova // S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 1999. No. 10. P. 55-62.

29. Schneider N.A. Clinical heterogeneity of paraneoplastic neurological syndrome / N.A. Schneider, Iu.A. Dykhno, V.V. Iozhikova // Siberian Journal of Oncology. 2011. No. 3. P. 82-90.

30. Schneider N.A. Antionconeural antibodies and paraneoplastic neurological syndrome / N.A. Schneider, Iu.A. Dykhno, V.V. Iozhikova, E.A. Kantimirova // Russian Journal of Oncology. 2012. No. 2. P. 49-53.

31. Schneider N.A. Paraneoplastic polyneuropathy: definition, etiopathogenesis, diagnosis / N.A. Schneider, E.A. Kantimirova // Siberian medical review. 2010. Vol. 1. No. 1. P. 12-16.

32. Schneider N.A. Paraneoplastic polyneuropathy prevalence among cancer patients in Zheleznogorsk / N.A. Schneider, E.A. Kantimirova, L.V. Kantimirova, O.P. Trikman, G.Iu. Melnikov // Siberian medical review. 2010. Vol. 65. No. 5. P. 66-69.

33. ESMO / ASCO guidelines for the preparation of the World Curriculum in Medical Oncology: revised version 2010 / Fabrice Andre, Scott Berry, Sylvia Bonvalot et al., 2010. P. 44.

34. Müller-Hermelink N.K. [Electronic resource]. Pathobiology of peripheral T-cell lymphomas: searching for new therapeutic targets. <http://lymphoma.ru/praktika/tematicheskije-obzory/patobiologija-perifericheskikh-t-kletochnykh-limfom-poisk-novykh-terapevticheskikh-mishenei/> (11.16.2015).

35. Bay A. Vincristine Induced Cranial Polyneuropathy / Ali Bay, Cahide Yilmaz, Nebi Yilmaz, Ahmet Faik Oner // Indian Journal of Pediatrics. 2006. Volume 73. Pp. 531-533.

36. Ness K. K. Signs and symptoms of peripheral neuropathy in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL): Associations with physical performance and chemotherapy doses / K. K. Ness, M. M. Hudson, C. Pui // J. Clin Oncol. 2010; 28. P. 155.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ
BIOMEDICAL SCIENCES

УДК: 612.1/.8- 53.086

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-36-39

Комисов А.А.¹
Осипова О.А.²
Шепель Р.Н.³
Клеткина А.С.⁴

МЕТОДИКА АНАЛИЗА КАРТИРОВАНИЯ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ТКАНИ
МИОКАРДА С ПРИМЕНЕНИЕМ СКАНИРУЮЩЕГО ТРАНСМИССИОННОГО
МИКРОСКОПА

- 1) соискатель кафедры госпитальной терапии Медицинского института
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ БелГУ»), ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: ikariel@mail.ru
- 2) д.м.н., заместитель директора Центра дополнительного профессионального медицинского и фармацевтического образования, профессор кафедры госпитальной терапии Медицинского института
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ БелГУ»), ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: osipova@bsu.edu.ru
- 3) аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Москва, 2119991, Россия; E-mail: r.n.shepel@mail.ru
- 4) клинический ординатор кафедры госпитальной терапии Медицинского института
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ БелГУ»), ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: alinakletkina@yandex.ru

Резюме. В статье представлена методика количественного определения распределения концентраций химических элементов в биологическом образце. Предложен способ картирования макроэлементного состава биологических образцов методом РФА, заключающийся в определении референтных значений концентраций макроэлементов методом атомно-эмиссионной спектроскопии и калибровке детектора РФА при помощи дискриминатора, что позволяет увеличить точность картирования макроэлементного состава биологических образцов в сто раз до 10-30 ppm.

Ключевые слова: картирование макроэлементного состава, рентгенофлуоресцентный анализ, сканирующая электронная микроскопия

Komisov A.A.¹
Osipova O.A.²
Shepel' R.N.³
Kletkina A.S.⁴

METHODOLOGY ANALYSIS MAPPING ELEMENTAL COMPOSITION
OF MYOCARDIAL TISSUE WITH A SCANNING
TRANSMISSION MICROSCOPY

- 1) PhD Student. Department of Hospital Therapy, Medical Institute. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. e-mail: ikariel@mail.ru

- 2) Doctor of Medical Sciences, Professor Deputy Director of the Center for Continuing Professional Medical and Pharmaceutical Education, Department of Hospital Therapy Medical Institute, Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. e-mail: osipova_75@inbox.ru
- 3) Postgraduate Student. Department of Propaedeutics and Internal Diseases, Faculty of General Medicine The First Moscow I.M. Sechenov State Medical University 8/2 Trubetskaya St., 119991, Moscow. e-mail: r.n.shepel@mail.ru
- 4) Resident Physician. Department of Hospital Therapy, Medical Institute. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. e-mail: alinakletkina@yandex.ru

Abstract. The article presents a method for the quantitative determination of the distribution of concentrations of chemical elements in a biological sample. The authors suggest a method of mapping the macronutrient composition of biological samples with the method of powder XRD, which consists in the determination of reference values of concentrations of macroelements by means of atomic emission spectrometry and the calibration of the XRF with the help of a discriminator, which allows to increase the accuracy of mapping the macronutrient composition of biological samples a hundred times to 10-30 ppm.

Keywords: mapping macronutrient composition, x-ray fluorescence analysis, scanning electron microscopy

Введение.

Известны высокоточные методы, определяющие 10–8% – 10–9% (1 ppb) практически по любому элементу, количественного анализа элементного состава биологических образцов, такие как атомно-эмиссионная спектрометрия и масс-спектрометрия существенным недостатком которых является деструкция образца в процессе исследования [2, 3]. В то же время к неdestructивным методам относится рентгенофлуоресцентный анализ [4], однако, ввиду сложности структуры органических образцов и низким пределам разрешения (1000 – 3000 ppm), в каноническом виде не подходит для количественного анализа органических образцов [5, 7]. Наиболее близким по своим признакам, принятым за прототип, является картирование элементного состава образца при помощи сканирующего электронного микроскопа FEI Quanta 200 и программного пакета Edax Genesis (copyright 2015 EDAX inc.), заключающийся в анализе характеристического рентгеновского излучения от исследуемого объекта, возникающего вследствие его облучения электронами с энергией 15-30 КэВ. Основным недостатком прототипа является то, что он дает приемлемые результаты в случаях, когда исследуемые образцы – материалы неорганического происхождения и не деформируются под длительным воздействием электронного излучения.

Цель исследования: для устранения данных недостатков разработать специальный метод пробоподготовки с использованием атомно-эмиссионной спектрометрии в качестве источника референтных значений концентраций интересующих химических элементов, а также разработать методику количественного картирования макроэлементного состава биологических образцов методом рентгенофлуоресцентного анализа.

Материалы исследования.

Работа выполнена на базе кафедры госпитальной терапии и госпитальной хирургии Медицинского института НИУ «БелГУ» располагающиеся на базе кардиохирургического Центра и Центра трансплантации органов Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа, а также Научно-образовательного и инновационного центра «Наноструктурные материалы и нанотехнологии» НИУ «БелГУ». Разработка методики количественного картирования макроэлементного состава проводилась на биологических образцах аутопсии органов человека (сердце). Были использованы ткани 10 практически здоровых лиц, погибших в результате несчастных случаев (травмы, не совместимые с жизнью), не страдавших сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-34-51236 «Компоненты межклеточного матрикса в формировании фиброза почек и

миокарда у пациентов с артериальной гипертензией».

Методы исследования.

Картирование элементного состава ткани проводилось с использованием методов нанотехнологий: сканирующей трансмиссионной (СТЭМ; FEI Nova NanoSEM) микроскопии.

Результаты исследования и их обсуждение. В исследовании произведен новый способ количественного картирования макроэлементного состава биологических образцов, заключающийся в корректировке получаемого сигнала ХРИ от биологического образца при помощи дискриминатора. Корректировка получаемого сигнала ХРИ осуществлялась таким образом, чтобы данные количественного анализа совпадали с результатами атомно-эмиссионной спектроскопии, т.е. осуществлялось увеличение точности результатов картирования до 10-30 ppm.

Исследуемый биологический образец делился на 3 части, из которых две части по 1 г и одна 0.1 г соответственно. Части массой 1 г использовались для установления референтных значений и калибровки детектора, при этом часть в 0.1 г являлась исследуемым образцом. Пробоподготовка для атомно-эмиссионной спектроскопии осуществлялась по стандартной

методике. Результаты определения концентраций интересующих макроэлементов принимались за референтные значения.

Пробоподготовка для электронной микроскопии: калибровочный образец спрессовывался до размеров тонкой пластинки толщиной 1-2 мм с целью минимизации эффекта поглощения рентгеновского излучения в образце, эффекта матрицы, а так же эффекта автофлуоресценции. Далее калибровочный образец дегидрировался при помощи ацетона или методом лиофильной сушки. Для калибровки, проводилось исследование элементного состава со всей поверхности образца. Полученные результаты корректировались при помощи дискриминатора до получения результатов количественного анализа РФА одного порядка или до совпадения с данными атомно-эмиссионной спектроскопии.

Установлено, что проведение картирования должно быть проведено по элементам, для которых определены референтные значения концентраций, полученных при помощи атомно-эмиссионной спектроскопии ($p < 0,05$). В других случаях эксперимента определена достоверная точность исследования, которая не превышала предела разрешения РФА (1000-3000 ppm) ($p < 0,05$) рис.1.

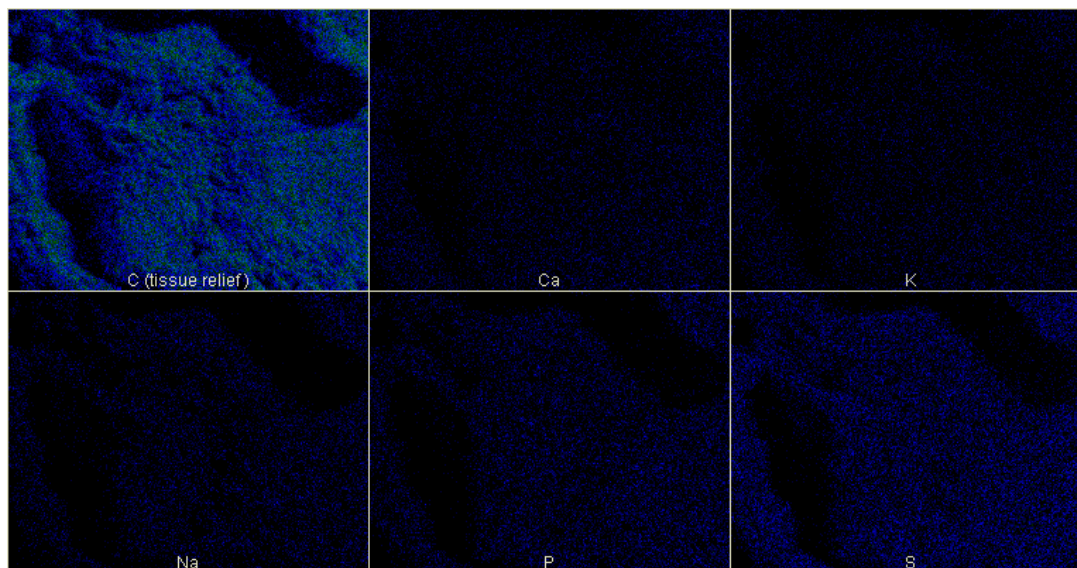


Рис. 1. Картирование ткани миокарда левого желудочка человека
Fig. 1. Mapping of the myocardial tissue of the human left ventricle

Заключение. В нашем проекте, установлен способ количественного картирования макроэлементного состава биологических образцов, включающий

определения референтных значений концентраций методом атомно-эмиссионной спектроскопии, калибровки детектора РФА, количественного картирования макроэлементного состава биологических

образцов с точностью до 10-30 ppm.

В результате выполненного проекта впервые получена методика повышения точности картирования макроэлементного состава биологических образцов, в частности тканей органов человека, методом РФА. Используемый в данной работе способ пробоподготовки образцов биологической ткани (сердца) является простым, доступным и эффективным. Главным достоинством полученного способа картирования является минимальное количество операций и реагентов, применяемых к исследуемому образцу биоткани. При необходимости исследование может проводиться на калибровочном образце, выбор зависит от поставленных перед исследователем задач.

Разработанный способ картирования макроэлементного состава биологических образцов методом РФА, заключается в определении референтных значений концентраций макроэлементов методом атомно-эмиссионной спектроскопии и калибровке детектора РФА при помощи дискриминатора таким образом, что результаты исследования калибровочных образцов совпадали. Предлагаемый метод позволяет увеличить точность картирования макроэлементного состава биологических образцов в сто раз до 10-30 ppm, что позволяет определить количественный макроэлементный состав биологических образцов.

Литература

1. Aro A. Validation of K x-ray fluorescence bone lead measurements by inductively coupled plasma mass spectrometry in cadaver legs./Aro A., Amarasiriwardena C., Lee M.L., Kim R., Hu H. // 2000. Jan; 27(1). P.119-23.
2. Ellis S.R. Prog Lipid Res. Surface analysis of lipids by mass spectrometry: more than just imaging. /Ellis S.R., Brown S.H., In Het Panhuis M., Blanksby S.J., Mitchell T.W. // 2013. 52(4): 329-P.53.
3. Koen H. A. Janssens Microscopic X-Ray Fluorescence Analysis. - Wiley-P.434.
4. Lai S.F. Gold nanoparticles as multimodality imaging agents for brain gliomas. /Lai S.F., Ko B.H., Chien C.C., Chang C.J., Yang S.M., Chen H.H., Petibois C., Hueng D.Y., Ka S.M., Chen A., Margaritondo G., Hwu Y. J.//Nanobiotechnology 2015. Nov 20-13(1). p.85.
5. Sakina Yagi1 Elemental Analysis of Ten Sudanese Medicinal Plants Using X-ray Fluorescence/ Sakina Yagi1, Alia E. Abd Rahman1 // Journal of Applied and Industrial Sciences-April. 2013, 1 (1) P.49-53.

6. Stocklassa B. Evaluation of a new X-ray fluorescent analysis technique for the creation of a Nordic hair database: elemental distributions within the root and the virgin segment of hair fibers./Stocklassa B., Aransay-Vitores M., Nilsson G. // J Cosmet Sci. 2001 Sep-Oct;52(5): 297-311.

7. Wojcik J.B. Primary sclerosing epithelioid fibrosarcoma of bone: analysis of a series./Wojcik J.B., Bellizzi A.M., Dal Cin P., Bredella M.A., Fletcher C.D., Hornicek F.J., Deshpande V., Hornick J.L., Nielsen G.P. Am J Surg/Pathol. 2014. Nov; 38(11) p.1538-P.44.

References

1. Aro A. Validation of K x-ray fluorescence bone lead measurements by inductively coupled plasma mass spectrometry in cadaver legs /Aro A., Amarasiriwardena C., Lee M.L., Kim R., Hu H.// 2000. Jan; 27(1). P.119-23.
2. Ellis S.R. Prog Lipid Res. Surface analysis of lipids by mass spectrometry: more than just imaging /Ellis S.R., Brown S.H., In Het Panhuis M., Blanksby S.J., Mitchell T.W. // 2013. 52(4): 329-P.53.
3. Koen H. A. Janssens Microscopic X-Ray Fluorescence Analysis. - Wiley-P.434.
4. Lai S.F. Gold nanoparticles as multimodality imaging agents for brain gliomas. / Lai S.F., Ko B.H., Chien C.C., Chang C.J., Yang S.M., Chen H.H., Petibois C., Hueng D.Y., Ka S.M., Chen A., Margaritondo G., Hwu Y. J.//Nanobiotechnology 2015. Nov 20-13(1). p.85.
5. Sakina Yagi1 Elemental Analysis of Ten Sudanese Medicinal Plants Using X-ray Fluorescence/ Sakina Yagi1, Alia E. Abd Rahman1 // Journal of Applied and Industrial Sciences-April. 2013, 1 (1) P.49-53.
6. Stocklassa B. Evaluation of a new X-ray fluorescent analysis technique for the creation of a Nordic hair database: elemental distributions within the root and the virgin segment of hair fibers./Stocklassa B., Aransay-Vitores M., Nilsson G.// J Cosmet Sci. 2001 Sep-Oct;52(5): 297-311.
7. Wojcik J.B. Primary sclerosing epithelioid fibrosarcoma of bone: analysis of a series / Wojcik J.B., Bellizzi A.M., Dal Cin P., Bredella M.A., Fletcher C.D., Hornicek F.J., Deshpande V., Hornick J.L., Nielsen G.P. Am J Surg/Pathol. 2014. Nov; 38(11) p.1538-P.44.

УДК 611.31:613.84

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-40-44

Даниленко Л. М.

РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ АТФ-ЗАВИСИМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ В КАРДИОПРОТЕКТОРНОМ ЭФФЕКТЕ НИКОРАНДИЛА НА МОДЕЛИ КОРОНАРООКЛЮЗИОННОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

доцент кафедры фармакологии. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ БелГУ»), ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Резюме. В работе приведены результаты исследования противоишемической эффективности никорандила (1,8 мг/кг) на модели коронароокклюзионного инфаркта миокарда у кроликов. Коронароокклюзию нисходящей ветви левой коронарной артерии у наркотизированных животных осуществляли путем наложения лигатуры на 60 минут с последующей реперфузией в течении 90 минут. Кардиопротекторное действие выражалось в ограничении зоны некроза в 2,5 раза, предотвращении повышении уровня Тропонина I в 3 раза, а также улучшение показателей сократимости при реперфузии. Блокатор АТФ-зависимых калиевых каналов глибенкломид (0,4 мг/кг) практически полностью нивелировал кардиопротекторные эффекты никорандила в дозе 1,8 мг/кг. Ингибитор индуцибельной NO-синтазы аминогуанидин (100 мг/кг) не вызывал полной отмены протективных эффектов никорандила. Обсуждается приоритетный вклад АТФ-зависимых калиевых («первое окно» прекондиционирования) каналов в реализации кардиопротекторных эффектов никорандила (в малых и средних терапевтических дозах), наряду с отсутствием отрицательных гемодинамических эффектов, характерных для донаторов NO. Последнее позволяет обсуждать возможность снижения дозы никорандила для кардиопротекции в клинических исследованиях.

Ключевые слова: никорандил, АТФ-зависимые калиевые каналы, ишемия/реперфузия, прекондиционирование.

Danilenko L. M.

THE ROLE OF MITOCHONDRIAL ATP-DEPENDENT POTASSIUM CHANNELS IN THE CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF NICORANDIL ON THE MODEL OF CORONARY OCCLUSIVE MYOCARDIAL INFARCTION

Associate Prifessor. Department of Pharmacology. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Abstract. The paper presents the results of a study of the antiischemic effectiveness of nicorandil (1,8 mg/kg) on the model of coronary occlusive myocardial infarction in rabbits. The coronary occlusion in the descending branch of the left coronary artery in anesthetized animals was carried out with a 60 minutes ligation followed by a 90 minutes reperfusion. The cardioprotective effect was expressed in 2.5 times restriction of the areas of necrosis, prevention of the increase in the level of Troponin I in 3 times, and the improvement of contractility during the reperfusion. The blocker of ATP-sensitive potassium channels glibenclamide (0.4 mg/kg) almost completely nullified the cardioprotective effects of nicorandil in a dose of 1.8 mg/kg. The inhibitor of inducible NO synthase, aminoguanidine (100 mg/kg), did not cause a complete abolition of the protective effects of nicorandil. The author discusses the priority contribution of ATP-sensitive potassium («first window» of preconditioning) channels in the realization of cardioprotective effects of nicorandil (small and middle dosage), along with no negative hemodynamic effects characteristic of the donor of NO. The latter allows to discuss the possibility of reducing the dose of nicorandil for cardioprotection in clinical studies.

Keywords: nicorandil; ATP-dependent potassium channel; ischemic preconditioning; pharmacological preconditioning.

Изучение ишемического preconditionирования – одно из перспективнейших направлений экспериментальной медицины. Исследование механизма этого феномена дало начало фармакологическому preconditionированию. С клинической точки зрения preconditionирование фармакологическими средствами выглядит предпочтительнее, так как технологически проще и лишено потенциальной опасности ишемических эпизодов для патологически измененных тканей.

Никорандил – производное никотинамида, состоит из остатка амида никотиновой кислоты и нитратной группы, поэтому обладает свойствами активаторов АТФ-зависимых калиевых каналов (K_{ATP} -каналы) и органических нитратов [5, 6, 7, 8, 10]. Доминирующим эффектом высоких концентраций никорандила является укорочение потенциала действия и рефрактерного периода, т.е. влияние на противоритмические факторы [6]. Известно, что применение никорандила в остром периоде ишемии миокарда значительно уменьшает частоту развития желудочковой тахикардии, оказывает эндотелиопротекторное и кардиопротекторное действие на модели L-NAME индуцированного дефицита оксида азота [4, 11].

Целью настоящего исследования являлось изучение вклада K_{ATP} -каналов в реализацию кардиопротекторного эффекта никорандила на модели коронароокклюзионного инфаркта миокарда у кроликов.

Материалы и методы.

Изучение выживаемости ишемизированного миокарда было проведено на 42-х лабораторных кроликах массой 2-2,5 кг. Влияние никорандила на размер зоны некроза проводили на модели коронароокклюзионного инфаркта миокарда. Инфаркт миокарда воспроизводился на наркотизированных животных (хлоралгидрат 300 мг/кг), находящихся на управляемом дыхании, путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне нижнего края ушка левого предсердия (60 мин) с последующей реперфузией (90 мин). Поперечные срезы миокарда производили через каждые 0,8 см, начиная с уровня 0,8 см ниже места наложенной лигатуры. Срезы миокарда помещали в емкость содержащую фосфатный буфер (рН 7,4) и 1 мг/мл трифенилтетразолия хлорид для образования красного формазана [2, 3]. Подсчет площадей интактного и некротизированного миокарда левого

желудочка производили на каждом из четырех срезов с помощью попиксельного анализа в программе Adobe Photoshop 9.0. Уровень Тропонин I (TnI) определяли на иммунофлуоресцентном приборе Triage MeterPro (Biosite, США).

Дистантное ишемическое preconditionирование осуществляли путем наложения жгута на верхнюю треть бедра на 10 минут, с последующей 20 минутной реперфузией и воспроизведением модели инфаркта на 60 минут.

Фармакологическое preconditionирование осуществляли с помощью внутривенного введения в маргинальную вену уха кролика никорандила в дозе 1,8 мг/кг («Коронель», производство ООО «ПИК-ФАРМА», Россия). С целью подтверждения роли K_{ATP} -каналов в реализации кардиопротекторных эффектов никорандила, животным вводили глибенкламид (блокатор K_{ATP} -каналы) в дозе 0,4 мг/кг. Ингибитор индуцибельной NO-синтазы амингуанидин 100 мг/кг вводили внутривенно за 30 минут до введения никорандила [1, 2, 3].

Результаты и обсуждение

Моделирование коронароокклюзии с последующей реперфузией приводило к формированию зоны некроза составляющей $27,3 \pm 1,2\%$. Одновременно на 90 минуте реперфузии обнаружено увеличение уровня Тропонина I, значение которого составили $16,26 \pm 1,9$ нг/мл.

Применение дистантного preconditionирования приводит к снижению величины зоны некроза в 3 раза и предотвращения повышения уровня Тропонина I в 4 раза (таблица).

Использование никорандила в дозе 1,8 мг/кг за 30 минут до коронароокклюзионного инфаркта миокарда оказывало кардиопротективное действие, выражающееся в ограничении зоны некроза и уменьшении значения Тропонина I, соответственно, до $10,7 \pm 0,8\%$ и $5,2 \pm 1,1$ нг/мл (табл.).

Введение никорандила в дозе 1,8 мг/кг на фоне глибенкламида 0,4 мг/кг оказалось не эффективным и значение размеров зоны некроза и уровня Тропонина I не отличались от группы контроля (табл.). Аналогично глибенкламид полностью предотвращал кардиопротективный эффект дистантного preconditionирования (табл.). Последнее указывает на общий механизм реализации кардиопротективного эффекта

реализующийся с участием АТФ-зависимых калиевых каналов.

Предварительное введение амингуанидина 100 мг/кг нивелировало на 50 % защитное действие никорандила в дозе 1,8 мг/кг и в меньшей степени (30%) предотвращало кардиопротективные эффекты

дистантного прекодиционирования (табл.). Это свидетельствует о том, что ингибирование iNOS амингуанидином 100 мг/кг не в полной мере предотвращает реализацию «второго окна» прекодиционирования.

Таблица

Влияние никорандила (1,8 мг/кг) в/в и дистантного ишемического прекодиционирования на размер зоны некроза и уровень Тропонина I при острой коронароокклюзии (60 мин) с последующей реперфузией (90 мин) у наркотизированных кроликов (M± m; в % от массы левого желудочка; n=6)

Table

The influence of nicorandil (1,8 mg/kg, I.V.) and the distant ischemic preconditioning on the size of the necrosis zone and the level of Troponin I in a acute coronary occlusion (60 min.) with subsequent reperfusion (90 min.) in anesthetized rabbits (M± m; in % of the mass of the left ventricle; n=6)

Группа	% некроза	Уровень Тропонина I, нг/мл
Контроль (инфаркта миокарда)	27,3±1,2	16,26±1,9
КО/реперфузия + дистантное ишемическое прекодиционирование	9,4±0,5*	4,6±1,3*
КО/реперфузия + никорандила (1,8 мг/кг)	10,7±0,8*	5,2±1,1*
КО/реперфузия + глибенкламид (0,4 мг/кг) + дистантное прекодиционирование	24,2±1,5	15,3±1,8
КО/реперфузия + глибенкламид (0,4 мг/кг) + никорандила (1,8 мг/кг)	22,1±1,3	13,2±1,8
КО/реперфузия + амингуанидин (100 мг/кг) + дистантное прекодиционирование	21,1±1,1	13,7±1,1
КО/реперфузия + амингуанидин (100 мг/кг) + никорандила (1,8 мг/кг)	15,4±0,8*	8,2±1,1*

Примечание: КО/реперфузия – коронароокклюзия нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне ушка (60 мин) с последующей реперфузией (90 мин); ДИП-дистантное ишемическое прекодиционирование (10 мин) верхней трети бедра;

*p < 0,05 – в сравнении с контролем.

Прекодиционирование феномен повышения устойчивости клеток к повторному воздействию ишемии, возникающей после одного или нескольких кратковременных эпизодов ишемии-реперфузии. Прекодиционирование имеет раннюю фазу «первое окно», начинающуюся через 5 мин после первого короткого эпизода ишемии и продолжающуюся до 1-3 ч. и позднюю фазу «второе окно», которая эффективно «работает» с 24 до 72 и даже 96 ч. от первого эпизода ишемии. Чтобы запустить защитный эффект прекодиционирования, требуется достичь минимального порогового времени ишемии (5 мин) до начала реперфузии. Однако, с увеличением продолжительности ишемии миокарда прогрессивно уменьшается кардиопротективная эффективности, (представленного тремя пятиминутными эпизодами ишемии-реперфузии), предшествующие тестовой ишемии.

Механизмы поздней фазы прекодиционирования. Основное отличие механизмов поздней фазы ИПК или «второго окна защиты» от ранней фазы или классического прекодиционирования заключаются в реализации защитного эффекта через активацию белкового синтеза и/или модификацию функциональной активности белков на посттрансляционном уровне. Помимо инфарктлимитирующего, антиаритмического эффектов, снижения степени апоптоза поздняя

фаза ИПК способна предупреждать развитие обратимой постишемической дисфункции миокарда (станнинг) и снижать интенсивность воспалительной реакции через модуляцию синтеза противовоспалительных факторов. Механизмы «второго окна защиты» могут быть также разделены на триггерный, сигнальный и эффекторный компоненты. Триггерами поздней фазы ИПК признаны аденозин, опиоиды, катехоламины, АФК и NO. Согласно «гипотезе оксида азота» в отношении поздней фазы ИПК против станнига, NO играет ключевую роль в инициации и в опосредовании феномена «второго защитного окна», осуществляя своё действие через активацию тех же внутриклеточных посредников (ε-ПКС, тирозинкиназа, МАПК транскрипционный фактор NF-kB-nucleus factor-kappa b), что и при ранней фазе ИПК. Однако, точный механизм реализации кардиопротективного действия NO неизвестен. Можно лишь с долей вероятности предположить участие К (АТФ)-каналов, уменьшения кальциевой перегрузки, угнетение сократимости и другие механизмы. Таким образом, после первичного ишемического эпизода начинается фенотипический репрограмминг, вследствие которого включается синтез NO и клетки экспрессируют индуцибельные ферменты, признанные медиаторами отсроченной

кардиопротекции: iNOS, MnСОD (марганецсодержащий супероксиддисмутаза), ЦОГ-2 (циклооксигеназа), альдозоредуктаза, а также происходит синтез белков теплового шока (HSP-heat shock protein). Эффект прекодиционирования сопровождается активацией каскадных механизмов внутриклеточной сигнальной трансдукции, ответственных за экспрессию генов и формирование адаптивных признаков. Такая активация протекает на фоне митохондриальной дисфункции, выражающаяся в последовательных фазовых изменениях активности митохондриальных ферментных комплексов (МФК). Так в условиях острой гипоксии в результате срочной адаптации происходит подавление активности МФК I, осуществляющего НАДН-окисление, но при этом усиливается сукцинатоксидазный путь окисления МФК II. Данная биоэнергетическая перестройка вызывает переориентацию метаболических потоков для поддержания энергозависимых процессов клетки, а также способствует индукции фактора, вызванного гипоксией-1 α (HIF-1 α -hypoxia inducible factor).

При продолжающемся дефиците кислорода возникает долгосрочная адаптация, которая связана с восстановлением активности МФК I и утратой значимости МФК II.

Таким образом, небольшие концентрации никорандила оказывают прямой кардиопротективный эффект на сердечную мышцу, который обусловлен селективной активацией митохондриальных K_{ATP}-каналов [12]. Представленные результаты исследований указывают на наличие у никорандила эффекта фармакологического прекодиционирования посредством активации митохондриальных K_{ATP}-каналов.

Заключение

Дистантное ишемическое прекодиционирование и фармакологическое прекодиционирование никорандилом (в дозе 1,8 мг/кг) выражалось в ограничении зоны некроза / 2,5 раза, предотвращении повышении уровня Тропонина I в 3 раза, а также улучшение показателей сократимости при реперфузии. Блокатор АТФ-зависимых калиевых каналов глибенкломид (0,4 мг/кг) практически полностью нивелировал кардиопротекторные эффекты никорандила. Ингибитор индуцибельной NO-синтазы аминогуанидин (100 мг/кг) не вызывал полной отмены протективных эффектов никорандила.

Литература

1. Даниленко Л.М., Покровский М.В., Новиков О.О. Противовосполительные эффекты дистантного ишемического прекодиционирования в сочетании с рекомбинантным эритропоэтином // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. 2011. № 4. вып. 13/2. С. 49-53.
2. Даниленко Л.М., Покровский М.В., Новиков О.О. Триггерный механизм противоишемического действия эритропоэтина и резвератрола // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. 2012. № 10. Вып. 18/2. С. 138-142.
3. Колесник И.М., Покровский М.В., Гудырев О.С. Дистантное и фармакологическое прекодиционирование – новые возможности стимуляции неоваскулогенеза // Кубанский научный медицинский вестник. 2010. № 6. С. 56-58.
4. Покровский М.В., Старосельцева О.А., Алехин С.А. Эндотелиопротективное действие дистантного ишемического прекодиционирования // Научные ведомости БелГУ. 2012. Вып. 17/2, №22(117). С. 238-242.
5. Полтораки В.В. Горбенко Н.И., Горбушинская М.Ю. Блокада K_{ATP} каналов препаратами сульфонилмочевины и кардиоваскулярная безопасность у больных сахарным диабетом 2 типа // Украинський медичинський журнал. 2002. Т. 32, № 6. С. 65-68.
6. Abdallah Y., Preconditioning with diazoxide prevents reoxygenation-induced rigor-type hypercontracture / Y Abdallah, C.Wolf, K. Meuter et al. // J. Mol. Cell Cardiol. 2010. Vol. 48 (I). P. 270-6.
7. Hirose M., Mechanisms of preventive effect of nicorandil on ischaemia-induced ventricular tachyarrhythmia in isolated arterially perfused canine left ventricular wedges /M.Hirose, M. Hirose ,N. Tsujino N., T. Nakada . et al // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 2008. Vol. 102, №6. P.504-14.
8. Holzmann S. Cyclic GM Pas possible mediator of coronary arterial relaxation by nicorandil (SG-75)/ S. Holzmann //J. Cardiovasc. Pharmacol. 983.Vol. 5, № 3. P. 364-70.
9. Holzmann S., Pharmacological interaction experiments differentiate between glibenclamide-sensitive K⁺ channels and cyclic GMP as components of vasodilation by nicorandil/S. Holzmann, W.R. Kukovetz, C. Braida et al. // Eur.J. Pharmacol. 2002. Vol.215,№1.P.1-7.
10. Kukovetz W.R. Dual mechanism of the relaxing effect of nicorandil by stimulation of cyclic GMP formation and by hyperpolarization./ W.R.Kukovetz, S. C. Holzmann., Braida. et al // J. Cardiovasc. Pharmacol. 2001. Vol.17, №4. P.627-33.
11. Kukovetz W.R., Molecular mechanism of action of nicorandil/ W.R. Kukovetz, S.Holzmann., G.Poch // J. Cardiovasc. Pharmacol. 2004. Vol. 20, Suppl. 3. P. 1-7.
12. Ozcan C., Effective pharmacotherapy against oxidative injury: alternative utility of an ATP-sensitive potassium channel opener/C. Ozcan , A. Terzic , M. Bienengraeber// J. Cardiovasc. Pharmacol. 2007. Vol.50, №4. P.411-8.

13. Taira N. Nicorandil as a hybrid between nitrates and potassium channel activators / N.Taira // *Cardiol.* 1989. Vol.63, №21. P.18-24.

References

1. Danilenko L.M., Pokrovsky M.V., Novikov O.O. Anti-inflammatory effects of distant ischemic preconditioning combined with recombinant erythropoietin // *Belgorod State University Scientific bulletin. Medicine. Pharmacy.* 2011. № 4. №. 13/2. P. 49-53.

2. Danilenko L.M., Pokrovsky M.V., Novikov O.O. A toggle mechanism of the anti action of erythropoietin and resveratrol // *Belgorod State University Scientific bulletin. Medicine. Pharmacy.* 2012. № 10, №. 18/2. P. 138-142.

3. Kolesnik I.M., Pokrovsky M.V., Gudyrev O.S. Distant and pharmacological preconditioning – new opportunities for stimulating neovaskulogeneza // *Research Medical Gazette.* 2010. № 6. C. 56-58.

4. Pokrovsky M.V., Staroseltseva O.A., Alehin S.A. Endotelioprotektivnoe distant action of ischemic preconditioning // *Belgorod State University Scientific bulletin. Medicine. Pharmacy.* 2012. Vol. 17/2, №22 (117). P. 238-242.

5. Poltorak V.V., Gorbenko N.I., Gorbushinskaya M.Y. Blockade KATF channels sulfonylureas and cardiovascular safety in patients with type 2 diabetes mellitus /V.V. Poltorak, // *Ukrainsky medical journal.* 2002. T. 32, № 6. P. 65-68.

6. Abdallah Y., Preconditioning with diazoxide prevents reoxygenation-induced rigor-type hypercontracture / Y Abdallah ,C.Wolf , K. Meuter et al. // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2010. Vol. 48 (I). P. 270-6.

7. Hirose M., Mechanisms of preventive effect of nicorandil on ischaemia-induced ventricular tachyarrhythmia in isolated arterially perfused canine left ventricular wedges /M.Hirose, M. Hirose ,N. Tsujino N., T. Nakada . et al // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2008. Vol. 102, №6.P.504-14.

8. Holzmann S. Cyclic GM Pas possible mediator of coronary arterial relaxation by nicorandil (SG-75)/ S. Holzmann // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 983.Vol. 5, № 3. P. 364-70.

9. Holzmann S., Pharmacological interaction experiments differentiate between glibenclamide-sensitive K⁺ channels and cyclic GMP as components of vasodilation by nicorandil/S. Holzmann, W.R. Kukovetz, C. Braida et al. // *Eur.J. Pharmacol.* 2002. Vol.215, №1. P.1-7.

10. Kukovetz W.R. Dual mechanism of the relaxing effect of nicorandil by stimulation of cyclic GMP formation and by hyperpolarization / W.R.Kukovetz, S. C. Holzmann,. Braida. et al // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2001. Vol.17, №4. P.627-33.

11. Kukovetz W.R., Molecular mechanism of action of nicorandil/ W.R. Kukovetz, S.Holzmann., G.Poch // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2004. Vol. 20, Suppl. 3. P. 1-7.

12. Ozcan C., Effective pharmacotherapy against oxidative injury: alternative utility of an ATP-sensitive potassium channel opener/C. Ozcan , A. Terzic, M. Bienengraeber // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2007. Vol.50, №4. P.411-8.

13. Taira N. Nicorandil as a hybrid between nitrates and potassium channel activators / N.Taira // *Cardiol.* 1989. Vol.63, №21. P.18-24.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 611.31:613.84-053.81(470.325)

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-45-49

Прядко А. О.¹
Морозова Е. Н.²
Заболотная С. В.³
Михайлик Т. А.⁴
Морозов В. Н.⁵

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ СТУДЕНТОВ-ИНДУСОВ В НИУ «БЕЛГУ»

- 1) студентка факультета лечебного дела и педиатрии Медицинского института НИУ «БелГУ», ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия
- 2) к.мед.н., старший преподаватель кафедры гистологии факультета лечебного дела и педиатрии Медицинского института НИУ «БелГУ», ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия.
E-mail: morozova_en@bsu.edu.ru
- 3) к.мед.н., доцент кафедры гистологии факультета лечебного дела и педиатрии Медицинского института НИУ «БелГУ», ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия
- 4) к.мед.н., доцент кафедры гистологии факультета лечебного дела и педиатрии Медицинского института НИУ «БелГУ», ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия
- 5) к.мед.н., старший преподаватель кафедры анатомии человека факультета лечебного дела и педиатрии Медицинского института НИУ «БелГУ», ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия

Резюме. Изучали микроскопические особенности буккального эпителия студентов-индусов в НИУ «БелГУ». Появление в эпителии слизистой оболочки щеки единичных лейкоцитов, двуядерных эпителиоцитов, клеток с насечками и протрузиями разных форм в ядре, а также клеток, плотно прилежащих друг к другу, может свидетельствовать о том, что данные изменения в буккальном эпителии у студентов-индусов по сравнению с контрольной группой связаны с адаптацией организма в изменившихся условиях внешней среды.

Ключевые слова: буккальный эпителий; морфология; адаптация; студент.

Pryadko A. O.¹
Morozova E.N.²
Zabolotnaya S.V.³
Mikhailik T.A.⁴
Morozov V. N.⁵

MICROSCOPIC FEATURES OF BUCCAL EPITHELIUM OF THE INDIAN STUDENTS STUDYING AT BELGOROD STATE NATIONAL RESEARCH UNIVERSITY

- 1) Student. Faculty of General Medicine and Pediatrics, Medical Institute. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 2) PhD in Medicine, Senior Lecturer. Department of Histology, Faculty of General Medicine and Pediatrics, Medical Institute Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
E-mail: morozova_en@bsu.edu.ru
- 3) PhD in Medicine, Associate Professor Department of Histology, Faculty of General Medicine and Pediatrics, Medical Institute. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 4) PhD in Medicine, Associate Professor. Department of Histology, Faculty of General Medicine and Pediatrics, Medical Institute. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 5) PhD in Medicine, Senior Lecturer. Department of Human Anatomy, Faculty of General Medicine and Pediatrics, Medical Institute. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

Abstract. The authors studied the microscopic features of buccal epithelium of the Indian students studying at Belgorod State National Research University. The appearance in the buccal

mucosa epithelium of single leukocytes, double nuclei in the epithelial cells, cells with notches and protrusions of different forms in the nucleus, as well as cells tightly adjacent to each other may indicate that these changes in the buccal epithelium of Indian students, compared with the control group, linked to the body's adaptation to changing environmental conditions.

Keywords: buccal epithelium; morphology; adaptation; student.

Введение. Изучение процесса адаптации организма в изменяющихся условиях среды имеет большое значение, вследствие активной миграции населения нашей планеты [1]. Приспособление индивидуума обеспечивает устойчивость организма к воздействию факторов абиотического и биотического характера. О степени адаптации человека можно судить по состоянию органов и систем его организма, с различной степенью достоверности [10]. В последние годы внимание исследователей в качестве материала для неинвазивной экспресс диагностики привлекает буккальный эпителий. Последний, может служить источником важной диагностической и прогностической информации о состоянии здоровья, стрессовых воздействиях, влиянии факторов внешней среды, соматической патологии и биологического возраста человека [5,7]. Клетки эпителия слизистой оболочки щеки принимают участие в иммунном ответе и межклеточных взаимодействиях, секретирова ряд сигнальных молекул [11,13,16]. Исследование последних лет установило, что клетки буккального эпителия обеспечивают поддержание гуморального гомеостаза [3,12,15,17]. Исходя из этого, **целью исследования** являлось изучение микроскопических особенностей буккального эпителия студентов-индусов Белгородского государственного национального исследовательского университета (НИУ «БелГУ»).

Материал и методы. В исследовании участвовало 20 студентов, зрелого возраста (18-21 год) [9], мужского пола без сопутствующей соматической и психической патологии. Студенты были разделены на 2 группы по 10 человек в каждой. В первую вошли студенты-индусы НИУ «БелГУ» (экспериментальная группа), а во вторую – студенты-россияне (контрольная группа), проживающие в Белгородской области с момента рождения. Забор материала проводили в одно и то же время суток. При помощи шпателя, со

слизистой поверхности щеки брали мазок буккального эпителия. Изготавливали нативные препараты и окрашивали их гематоксилин-эозином. Объекты изучали с помощью микроскопа OLYMPUS CX21, с последующим фотографированием и получением изображения (Motic Images Plus 2.0). Изучали состав эпителия и морфологические особенности его структурных компонентов.

Результаты исследований установили, что у отечественных студентов в поле зрения мазка, эпителиоциты лежат обособленно друг от друга, в виде групп встречаются довольно редко. Клетки шиповатого слоя эпителия имеют четкие границы, многоугольную форму, а ядра овальной реже круглой формы лежат в центре цитоплазмы. Последняя содержит зернистые включения и окрашивается в светло-розовый цвет. Среди эпителиоцитов выявляются единичные клетки с микроядрами, а в некоторых из них ядра имеют насечку. Роговые чешуйки и клетки базального слоя встречаются очень редко.

У студентов-индусов, по сравнению с контролем, в поле зрения довольно часто встречаются группы клеток плотно прилежащие друг к другу, между эпителиальными клетками выявляются единичные лейкоциты. При этом у данных студентов появляются единичные клетки, у которых ядра имеют протрузию типа «язык» и «разбитое яйцо». Чаще визуализируются клетки с микроядрами и насечками в ядре по сравнению с контролем. В поле зрения появляются единичные двуядерные клетки. Нередко, встречается клеточный диморфизм (рис. 1 а-г).

Обсуждение результатов исследования. По мнению А.Н. Осипова и др. (2002), микроядра представляют собой ацентрические хромосомные фрагменты и отдельные целые хромосомы, которые были потеряны во время митоза[6]. Показателем генетических нарушений в интерфазных ядрах может быть сумма наблюдаемых протрузий типа «разбитое

яйцо» или типа «язык» [14]. Согласно В.В. Юрченко и др. (2007), а также Т.В. Колупаева и др. (2014) протрузия типа «разбитое яйцо» выглядит как микроядро, связанное с ядром мостиком нуклеоплазмы, а протрузия типа «язык» представляют собой яйцо на двух мостиках нуклеоплазмы [3,5]. При этом М.А. Пальцев и др. (2012) считают, что микроядра в клетках буккального эпителия могут служить адекватными показателями при определении уровня ксеногенной интоксикации и адаптационного статуса организма [8]. В другой работе В.Г. Маймулов и др. (2011) описывает увеличение частоты встречаемости микроядер в эпителиоцитах слизистой

оболочки щеки, как результат действия экзогенных факторов, то есть, в районах с высоким содержанием токсических веществ в воздухе и почве [4]. А.В. Мейер и др. (2010) утверждают, что вышеуказанные изменения в эпителии ротовой полости, являются цитогенетическими нарушениями, а так же свидетельствуют о воспалительном процессе в организме [2]. При этом данные В.В. Юрченко и др. (2007) показывают, что у здоровых лиц, все наблюдаемые изменения можно отнести к биологическому старению и естественной гибели эпителиальных клеток ротовой полости [5].

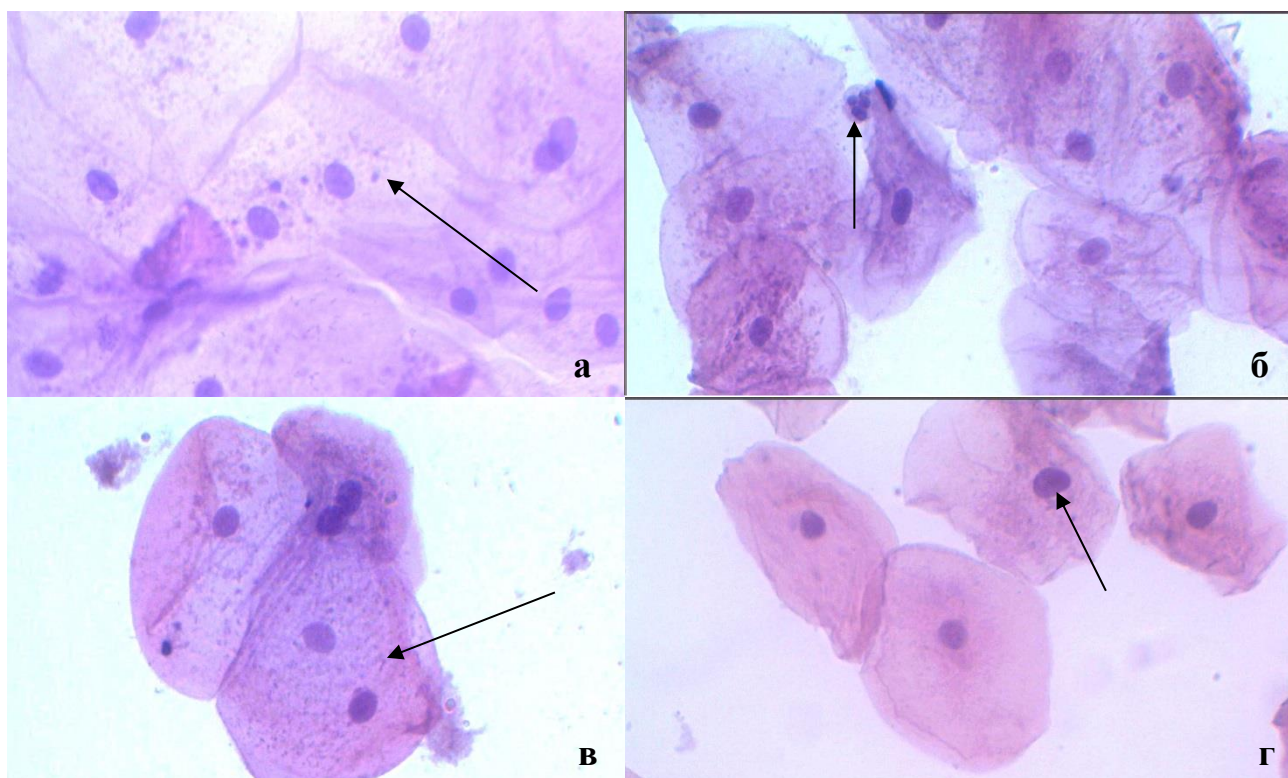


Рис. 1. Клетки буккального эпителия у студентов-индусов. Стрелки указывают на: а) микроядро в эпителиоците; б) нейтрофил между эпителиоцитами слизистой оболочки щеки; в) клетку с двумя ядрами; г) протрузию типа «язык». Окр.: гематоксилин-эозин. Ув. *400.

Fig. 1. The cells of the buccal epithelium of the Indian students. The arrows point at: a) a micronucleus in the epithelial cell; b) neutrophils between epithelial cells of the buccal mucosa; c) a cell with two nuclei; d) protrusion of the «tongue» type. Hematoxylin-eosin. Magn. * 400.

Вывод: Учитывая полученные в процессе исследования данные, а именно наличие единичных лейкоцитов в поле зрения, появление двуядерных клеток, клеток с насечками, ядер с протрузиями разных форм, а так же клеток плотно прилежащих друг к другу можно предположить, что появление изменений в буккальном эпителии у студентов-индусов, по

сравнению с контролем, может свидетельствовать о адаптации организма к изменяющимся условиям окружающей среды.

Литература:

1. Берестнева О.Г., Марухина О.В., Щербаков Д.О. Проблема адаптации иностранных студентов как проблема адаптации субъекта деятельности к измененным условиям // Современные проблемы

науки и образования. 2013. № 4. С. 23-29.

2. Генотоксические и цитотоксические эффекты в буккальных эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различающихся районах Кузбасса / Мейер А.В., Дружинин В.Г., Ларионов А.В., Толочко Т.А. // Цитология. 2010. № 52 (4). С. 305–310.

3. Колупаева Т.В., Посохов Н.Ф., Ищенко О.С. Цитобиофизические характеристики клеточных ядер буккального эпителия у больных с фармакорезистентными формами прозопалгий // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. 2014. Вып. 21. № 1112. С. 123–126.

4. Маймулов В.Г., Ромашов П.Г., Чернякина Т.С. Выявление цитогенетических нарушений в эпителиоцитах слизистой оболочки полости рта у детей и подростков, проживающих в районах с различной степенью химического загрязнения окружающей среды // Гигиена и санитария. 2011. № 5. С. 36–39.

5. Микроядерный тест на буккальных эпителиоцитах человека / Юрченко В.В., Подольная М.А., Ингель Ф.И., Кривцова Е.К., Беляева Н.Н. // Полиоганный микроядерный тест в эколого-гигиенческих исследованиях. 2007. № 44. С. 312.

6. Оценка молекулярных и цитогенетических эффектов хронического воздействия низкоинтенсивного гамма-излучения у мышей / Осипов А.Н., Елаков А.Л., Пучков А.Л., Померанцева П.В. // Общая генетика. 2002. № 38 (10). С. 1345-1350.

7. Панченко О.А., Корниенко Н.Л., Онищенко В.О. Электрокинетическая характеристика клеток буккального эпителия для оценки функционального состояния организма больных сахарным диабетом // Совр. проблемы и пути их решения в науке. 2010. № 22 (4). С. 17–21.

8. Пальцев М.А., Кветной И.М., Полякова В.О. Сигнальные молекулы в буккальном эпителии: оптимизация диагностики социально значимых заболеваний // Молекулярная медицина. 2012. № 4. С. 12-18.

9. Периодизация, принятая Международным симпозиумом по возрастной периодизации в Москве (1965 г.).

10. Тулебаев Р. К. Клинико-цитологическая оценка слизистой оболочки носа и буккального эпителия горнорабочих угольных шахт // Вестник оториноларингологии. 2008. № 5. С. 26-28.

11. Физиологическая адаптация студентов младших курсов к учебным нагрузкам в вузе / Алтынова Н.В., Панихина А.В., Анисимов Н.И., Шуканов А.А. // Вестник ЧГПУ им. И.Я. Яковлева. 2010. № 1 (65). С. 8-12.

12. Komali Yerlagudda, Venkatesh Vishwahath Kamath, Krishnanand Satelur Morphological assessment of oral cytological smears before and after application of toluidine blue in smokers and nonsmokers // International Journal of Oral & Maxillofacial Pathology. 2012. Vol. 3 (1). P. 8–14.

13. Semlali A., Chakir J., Goulet J. Whole cigarette smoke promotes human gingival epithelial cell apoptosis and inhibits cell repair processes // J. Periodontal. Res. 2011. № 46 (5). P. 533–541.

14. Tripathi S., Matta A., Kaur J. Nuclear S100A7 is associated with poor prognosis in head and neck cancer // PLoS One. 2010. № 3. P. 123–129.

15. Usha Verma Sex, Chowdhary D.S., Sugna Chhabra Chromatin positive cells in the buccal smears of normal newborn females // International journal of biological & medical research. 2013. Vol. 4 (3). P. 3317–3319.

16. Walsh K., Bracken M., Murk W. Association between reduced copy-number at T-cell receptor gamma (TCRgamma) and childhood allergic asthma: A possible role for somatic mosaicism // Mutat. Res. 2010. № 690 (1–2). P. 89–94.

17. Yogesh T., Narayan T., Shreedhar B. The expression of E-cadherin and cathepsin-D in normal oral mucosa, oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: A comparative analysis between immunohistochemistry and routine histopathology // J. Oral. Maxillofac Pathol. 2011. № 15 (3). С. 288–294.

References

1. Berestneva O.G., Maruhina O.V., Shherbakov D.O. problema adaptacii inostrannyh studentov kak problema adaptacii subekta dejatel'nosti k izmenennym uslovijam // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2013. № 4. С. 23-29.

2. Genotoksicheskie i citotoksicheskie jeffekty v bukkal'nyh jepiteliocitah detej, prozhivajushhih v jekologicheski razlichajushhihsja rajonah Kuzbassa / A.V. Mejer, V.G. Druzhinin, A.V. Larionov, T.A. Tolochko // Citologija. 2010. № 52 (4). S. 305–310.

3. Kolupaeva T.V., Posohov N.F., Ishhenko O.S. Citobiofizicheskie harakteristiki kletocnyh jader bukkal'nogo jepitelija u bol'nyh s farmakorezistentnymi formami prozopalgij // Visnik Harkivs'kogo nacional'nogo universitetu imeni V.N. Karazina. 2014. Vyp. 21. № 1112. S. 123–126.

4. Majmulov V.G., Romashov P.G., Chernjakina T.S. Vyjavlenie citogeneticheskijh narushenij v jepiteliocitah slizistoj obolochki polosti rta u detej i podrostkov, prozhivajushhih v rajonah s razlichnoj stepen'ju himicheskogo zagraznenija okružhajushhej sredy // Gigena i sanitarija. 2011. № 5. S. 36–39.

5. Mikrojadernyj test na bukkal'nyh jepiteliocitah cheloveka. / Jurchenko V.V., Podol'naja M.A., Ingel' F.I., Krivcova E.K., Beljaeva N.N. // Polioannyj mikrojadernyj test v jekologo-gigencheskijh issledovanijah. 2007. № 44. S. 312.

6. Ocenka molekularnyh i citogeneticheskijh jeffektov hronicheskogo vozdejstvija nizkointensivnogo gamma-izluchenija u myshej / Osipov A.N., Elakov A.L., Puchkov A.L., Pomeranceva P.V. // Obshhaja genetika. 2002. № 38 (10). S. 1345-1350.

7. Panchenko O.A., Kornienko N.L., Onishhenko V.O. Jelektrokineticheskaja harakteristika kletok bukkal'nogo jepitelija dlja ocenki funkcional'nogo sostojanija organizma bol'nyh saharным diabetom // Sovr. problemy i puti ih reshenija v nauke. 2010. № 22 (4). S. 17–21.

8. Pal'cev M.A., Kvetnoj I.M., Poljakova V.O. Signal'nye molekuly v bukkal'nom jepiteli: optimizacija diagnostiki social'no znachimyh zabojevanij // Molekuljarnaja medicina. 2012. № 4. S. 12-18.

9. Periodizacija, prinjataja Mezhdunarodnym simpoziumom po vozrastnoj periodizaciji v Moskve (1965 g).

10. Tulebaev R. K. Kliniko-citologičeskaja ocenka slizistoj obolochki nosa i bukkal'nogo jepitelija gornorabochih ugol'nyh shaht // Vestnik otorinolaringologii. 2008. № 5. S. 26-28.

11. Fiziologičeskaja adaptacija studentok mladših kursov k učebnym nagruzkam v vuze / Altynova N.V., Panihina A.V., Anisimov N.I., Shukanov A.A. // Vestnik ChGPU im. I.Ja. Jakovleva. 2010. № 1 (65). S. 8-12.

12. Komali Yerlagudda, Venkatesh Vishwahath Kamath, Krishnanand Satelur Morphological assessment of oral cytological smears before and after application of toluidine blue in smokers and nonsmokers // International Journal of Oral & Maxillofacial Pathology. 2012. Vol. 3 (1). S. 8–14.

13. Semlali A., Chakir J., Goulet J. Whole cigarette smoke promotes human gingival epithelial cell apoptosis and inhibits cell repair processes // J. Periodontal. Res. 2011. № 46 (5). S. 533–541.

14. Tripathi S., Matta A., Kaur J. Nuclear S100A7 is associated with poor prognosis in head and neck cancer // PLoS One. 2010. № 3. S. 123–129.

15. Usha Verma, Chowdhary D.S., Sugna Chhabra Sex chromatin positive cells in the buccal smears of normal newborn females // International journal of biological & medical research. 2013. Vol. 4 (3). P. 3317–3319.

16. Walsh K., Bracken M., Murk W. Association between reduced copy-number at T-cell receptor gamma (TCRgamma) and childhood allergic asthma: A possible role for somatic mosaicism // Mutat. Res. 2010. № 690 (1–2). S. 89–94.

17. Yogesh T., Narayan T., Shreedhar B. The expression of E-cadherin and cathepsin-D in normal oral mucosa, oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: A comparative analysis between immunohistochemistry and routine histopathology // J. Oral. Maxillofac Pathol. 2011. № 15 (3). S. 288–294.

UDC 611.31:613.84-053.81(470.325)

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-50-53

Asadov R.I. Ogly¹
Morozova E.N.²
Zabolotnaya S.V.³
Mikhailik T. A.⁴
Morozov V.N.⁵

**MICROSCOPIC FEATURES OF BUCCAL EPITHELIUM
IN SMOKING STUDENTS OF INDO-DRAVIDIAN RACE
(BY E. HOOTON)**

1) student of Faculty of dentistry of Medical Institute; Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia.

2) Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer, Department of Histology of the Faculty of general medicine and pediatrics of Medical Institute; Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia.

E-mail: morozova_en@bsu.edu.ru

3) Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Histology of the Faculty of general medicine and pediatrics of Medical Institute; Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

4) Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Histology of the Faculty of general medicine and pediatrics of Medical Institute; Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

5) Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer, Department of Human Anatomy of the Faculty of general medicine and pediatrics of Medical Institute; Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

ABSTRACT. We have studied the microscopic features of buccal epithelium in smoking students of Indo-Dravidian race. In the epithelial cells of the mucous cheek surface of smoking students we revealed the scored nuclei with tongue- and broken egg-type protrusions, micronuclei, cellular dimorphism, binuclear cells, as well as a significant decrease in nuclear-cytoplasmic ratio, as compared to the control, which may indicate the presence of local inflammation resulting from the toxic effects of smoking products on the oral mucosa.

Keywords: buccal epithelium; morphology; tobacco; a student.

Асадов Р.И.¹
Морозова Е.Н.²
Заболотная С.В.³
Михайлик Т.А.⁴
Морозов В.Н.⁵

**МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БУККАЛЬНОГО
ЭПИТЕЛИЯ У КУРЯЩИХ СТУДЕНТОВ ИНДО-ДРАВИДИЙСКОЙ
РАСЫ (ПО Э. ХУТОНУ)**

1) студент стоматологического факультета Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия,

2) к.мед.н., старший преподаватель кафедры гистологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: morozova_en@bsu.edu.ru

3) к.мед.н., доцент кафедры гистологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия,

4) к.мед.н., доцент кафедры гистологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия,

5) к.мед.н., старший преподаватель кафедры анатомии Медицинского института НИУ «БелГУ» 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия,

Аннотация. Изучали микроскопические особенности буккального эпителия у курящих студентов индо-дравидийской. Выявили в эпителиоцитах слизистой оболочки щеки курящих студентов ядра с насечкой, протрузиями типа «язык» и «разбитое яйцо», микроядра, клеточный диморфизм, двуйдерные клетки, а также достоверное уменьшение ядерно-цитоплазматического отношения, по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о наличии местного воспалительного процесса, возникшего в результате токсического воздействия продуктов курения на слизистую оболочку полости рта.

Ключевые слова: буккальный эпителий; морфология; табак; студент.

Introduction. Currently, tobacco smoking is common among young people, which is a major cause of morbidity and premature mortality, mainly by heart

diseases, stroke and brain tumors [6, 13, 14].For biological indication and quantitative assessment of the toxic effects of tobacco smoke on the human body it is

preferably to use the method of analysis of chromosomal aberrations of human oral epithelial cells; at the same time, their morphological features remain poorly studied [1, 3, 4]. Buccal smears have several advantages for cytodagnosis of groups of people: firstly, they safely provide a sufficient number of cells and make it possible to perform re-analyses, and secondly, ensure evaluation of both the general and local action of pathogens [7, 8]. That is, the buccal epithelium is highly informative in the diagnosis of many diseases (bronchial asthma, ulcerative colitis, Crohn's disease, etc.), as well as metabolic disorders in general [12]. Accordingly, the objective of this paper is to study the microscopic features of buccal epithelium in smoking students of Indo-Dravidian race.

Materials and methods. The experiment involved 20 2nd year students of the Faculty of general medicine and pediatrics of Medical Institute, NRU «BSU» in Belgorod (Russian Federation), coming from the Republic of India, the middle-aged (18-21 years) [10], male, without concomitant somatic or mental disorders. All students were divided into 2 groups each of 10 people. The first group included students smoking 6-8 cigarettes per day with 2-3 years of smoking experience, and the second consisted of non-smokers. The material sampling was carried out at one and the same time of day. Using a spatula, the swab of buccal

epithelium was taken from the mucous surface of a cheek. The native preparation was prepared, and then stained with hematoxylin-eosin. The objects were studied on a microscope OLYMPUS CX21, with further photographing and imaging (Motic Images Plus 2.0). After that, a licensed program «LpSquare v5.0 for Windows» was used to measure the areas of both nucleus and cytoplasm of buccal epithelial cells with further determination of the nuclear-cytoplasmic ratio (NCR). Data with a significance level of $p \leq 0.05$ were considered reliable as compared to control.

The research results revealed that the epithelial cells of non-smoking students are mainly located separately from each other. The spinous cells are of polygonal shape with rounded nuclei and a pale pink cytoplasm contains a moderate amount of granular inclusions. Horny scales are visible extremely rare.

The smear of the experimental group as compared with the control had tightly arranged groups of epithelial cells found, with multiple white blood cells therebetween. Also, the epithelial cells of smoking students have scored nuclei appearing, as well as with «tongue»- and «broken egg»-type protrusions, and some of them contain micronuclei. The cell dimorphism and dual-core cells are rarely revealed (Fig. 1 a-d).

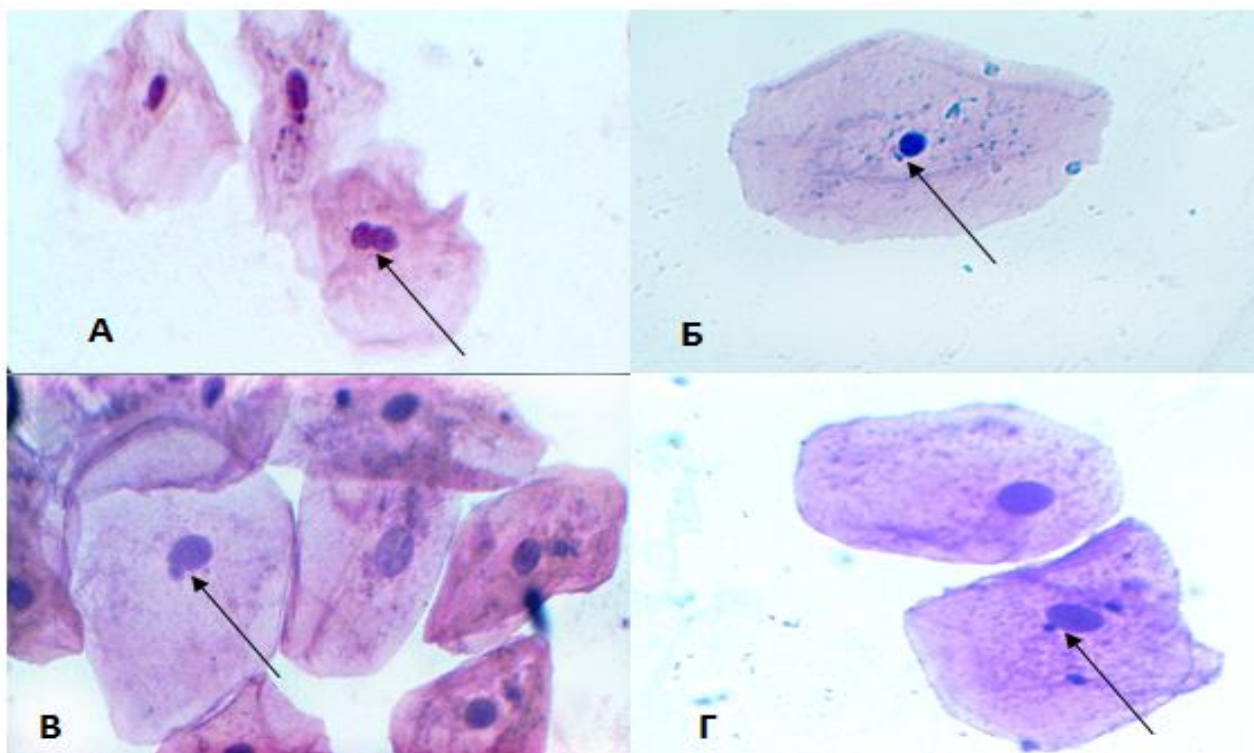


Fig. 1. Buccal epithelial cells of smoking students. Arrows indicate: a) binuclear cells; b) tongue-type protrusion; c) broken egg-type protrusion; and d) micronucleus. Haematoxylin and eosin stain. Magn. *400

We also found that the area of the cytoplasm of buccal epithelial cells of the control students as

compared with the experimental ones was 35.00% more ($p \leq 0.05$), and the nucleus area was 1756% less

($p \leq 0.05$), respectively. At the same time, the smokers had nucleocytoplasmic ratio significantly increasing

by 47.98% ($p \leq 0.05$) as compared to control (Table 1).

Table 1

Morphological parameters of the buccal epithelium cells in smoking Indo-Dravidian students of NRU «BSU» as compared to the control (by E. Hooton)

Morphometric parameters	Experimental group	Control group
Nucleus area, μm^2	77.315*	63.737
Cytoplasm area, μm^2	2392.110*	3681.820
Nucleus-to-cytoplasm ratio	0.038*	0.019

Note: * – significant differences from the control parameters with a level of statistical significance $p \leq 0.05$.

Results and discussion. According to O.T. Efremov (2006), nuclear-cytoplasmic ratio is the most important morphometric parameter that allows assessing the metabolic level of a cell and identifying the manifestation of compensatory reactions, while changes in its value may serve as an indicator of inflammatory processes and certain forms of cancer [5]. M.A. Abadzhidi, T.V. Makhrova, I.V. Maianskaia et al. (2003) consider that the increase in the size of the nucleus and the NCR value can indicate the influence of harmful environmental factors on the body, the stress factors and the presence of inflammation, in particular, in various forms of periodontal disease [2]. S.A. Semchenkova, T.F. Kruglikovskaia, and R.I. Iui (2009) attribute the appearance of the scored nuclei and with different protrusions with chromosomal rearrangements to the presence of somatic diseases (e.g., gastric or duodenum ulcer) [11]. At the same time, according to M.V. Lewinsky, V.N. Kalaev, and A.K. Butorina (2008), the frequency of these mutations depends on the state of the immune system, that is, the ability of immune cells to recognize and eliminate genetically damaged epithelial cells [9].

Conclusion. Based on the foregoing we may conclude that the appearance of nuclei with a notch, «tongue»- and «broken egg»-type protrusions, micronuclei, cellular dimorphism, binuclear cell in the epithelial cells of the mucous cheek surface of smoking students, as well as a significant decrease in nuclear-cytoplasmic ratio and the area of the cytoplasm of the epithelial cells, as compared to the control, may indicate the presence of local inflammation resulting from the toxic effects of smoking products on the oral mucosa.

References

1. Analysis of cytogenetic changes in somatic cells in patients of reproductive age living in Karaganda / Kultanov B.Zh., Esilbaeva B.T., Dzhangildinova S.A., Tatina E.S., Kalieva G.T. // International Journal of Experimental Education. 2013. No. 4. P. 81-83.
2. Buccal epithelial cells as a tool for clinical and laboratory studies / Abadzhidi M.A., Makhrova T.V., Maianskaia I.V., Zaslavskaja M.I., Strogova Iu.Iu., Maianskii A.N. // Nizhny Novgorod Medical Journal 2003. No. 3/4. P. 105-110.
3. Genotoxic and cytotoxic effects in buccal epithelial cells of children living in ecologically different regions of Kuzbass / Meier A.V., Druzhinin V.G., Larionov V.G., Tolochka T.A. // Cytology. 2010. Vol. 52. No. 4. P. 305-310.
4. Genotoxic effects in buccal epithelium of miners working under exposure to natural ionizing radiation / Petrashova D.A., Belisheva N.K., Pelevina I.I., Melnik N.A., Zolzer F. // Proceedings of Samara Scientific Center. 2011. Vol. 13. P. 1791.
5. Efremov O.T. Pathomorphological characteristics and prognosis of serous ovarian cancer in women of different ages: PhD Thesis in Medical Sciences. StP., 2006. P. 111.
6. Zavelskaia A.Ia., Levshin V.F., Ladan B.V. Tobacco smoking as a controllable risk factor for cervical cancer // Doctor. 2015. No. 5. P. 40-44.
7. Using the micronucleus test on the human buccal mucosa epithelium / Iurchenko V.V., Krivtsova E.K., Podolnaia M.A., Revazova Iu.A. // Hygiene and sanitation. 2010. No. 6. P. 53-66.
8. Kalaev V.N., Artiukhov V.G., Nechaeva M.S. The incidence of cells with morphologically abnormal nuclei in human buccal epithelium at different staining methods // Cytology. 2012. Vol. 54, No. 1. P. 78-84.
9. Lewinsky M.V., Kalaev V.N., Butorina A.K. Analyzing the incidence of cells with micronuclei in buccal epithelium and the level of serum antibodies in children and adults living in different areas of the city of Chisinau // Kursk scientific-practical bulletin «Man and Health». 2008. No. 2. P. 12-17.
10. Periodization adopted by the International Symposium on age periodization in Moscow (1965).

11. Semchenkova S.A., Kruglikovkaia T.F., Iui R.I. Features of buccal mucosa cytogram in patients with gastric and duodenum ulcer // Morphology and clinical matters. 2009. No. 12. P. 324-329.

12. The signal molecules in the buccal epithelium: optimization of diagnosis of socially significant diseases / Paltsev M.A., Kvetnoi I.M., Poliakova V.O., Konovalov S.S., Litviakova O.M., Linkova N.S. , Sevostianova N.N., Durnova A.O., Tolibov G.Kh. // Molecular Medicine. 2012. No. 4. P. 18-23.

13. Komali Yerlagudda, Venkatesh Vishwahath Kamath, Krishnanand Satelur Morphological assessment of oral cytological smears before and after application of toluidine blue in smokers and nonsmokers // International Journal of Oral & Maxillofacial Pathology. 2012. Vol. 3(1). P. 8–14.

14. Usha Verma, Chowdhary D.S., Sugna Chhabra Sex chromatin positive cells in the buccal smears of normal newborn females // International journal of biological & medical research. 2013. Vol. 4(3). P. 3317–3319.

UDC 612.017.1:612.8

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-54-55

Morozov V. N.¹
Morozova E.N.²

**THE RELATIONSHIP BETWEEN PARAMETERS OF THE PEYER'S
PATCHES OF THE SMALL INTESTINE IN INTACT RATS**

1) Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer, Department of Human Anatomy of the Faculty of general medicine and pediatrics of Medical Institute; Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

2) Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer, Department of Histology of the Faculty of general medicine and pediatrics of Medical Institute; Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: morozova_en@bsu.edu.ru

ABSTRACT. This paper deals with the study of the relationship between parameters of the Peyer's patches of the small intestine in intact rats of different age groups. The correlation analysis revealed the direct relationship between the parameters.

Keywords: rats; Peyer's patches; correlation analysis.

Морозов В.Н.¹
Морозова Е.Н.²

**ВЗАИМОЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПЕЙЕРОВЫХ
БЛЯШЕК ТОНКОЙ КИШКИ ИНТАКТНЫХ КРЫС**

- 1) к.мед.н., старший преподаватель кафедры анатомии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия; E-mail: morozov_v@bsu.edu.ru
- 2) к.мед.н., старший преподаватель кафедры гистологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия; E-mail: morozova_en@bsu.edu.ru

Аннотация. Изучена взаимозависимость между показателями пейеровых бляшек тонкой кишки интактных крыс разных возрастных групп. В результате корреляционного анализа установлено, что взаимосвязь между параметрами была прямой.

Ключевые слова: крысы, пейеровы бляшки, корреляционный анализ.

Introduction. The small intestine is a part of digestive system, where the long-term conversion of nutrients takes place, followed by their absorption and distribution between cells in the body [5]. In turn, there is an integration of many body systems (nervous, immune, endocrine, circulatory, lymphatic) in the small intestine that ensures these functions [1]. The immune system responds primarily for their safe operation, as the substances that people receive daily are alien to the body [4, 6]. Therefore, in the course of evolution the Peyer's patches have been formed in the small intestine, which are one of the first barrier to the penetration of substances of different nature from the lumen into the blood or lymph [3, 7, 8].

On that basis, the objective of this study was to determine whether there is a relationship between parameters of the Peyer's patches of the small intestine in intact rats of different age groups.

Materials and methods. The study was conducted on 24 3-4 month-old (I group), 5-6 month-old (II), 7-9 month-old (III) and 10-11 month-old (IV) white mongrel male rats. After removal from the experiment, a small intestine was isolated from the rats of different age groups, and the number of Peyer's patches was counted. Their lengths and widths were measured with the calipers. Then, it was fixed in 10% formalin solution and subjected to standard histological dehydration. Sections of 5-6 μm thick were stained with hematoxylin-eosin. Using an automated morphometric complex (a light microscope Olympus CX41, a digital camera and a personal computer with a set of applications), the linear dimensions were measured and the number of nuclei per unit area of the preparation ($1000 \mu\text{m}^2$) in the lymph nodules, germinal center and internodular zone of Peyer's patches was counted. The data were processed by using the correlation analysis with the

calculation of the Bravo-Pearson's correlation coefficient [2], which allowed determining the relationship between: the number of patches and their linear dimensions (length of a patch and width of a lymph nodule, germinal center, and internodular zone); the number of cell nuclei in the germinal center and the length of the patch, as well as between the height and width of germinal center; and the number of cell nuclei in internodular zone and the length of a Peyer's patch, as well as between the height and width of internodular zone.

Results. We revealed in 3-4 month-old animals the presence of a strong direct correlation relationship between: the number of Peyer's patches and their length (0.96), the width of germinal center (0.98), internodular zone (0.86); the length of Peyer's patches and width of a lymph nodule (0.90), germinal center (0.94), and internodular zone (0.79). There was a close relationship between the number of the cell nuclei in the germinal center and the patch length (0.87), the height (0.90) and width (0.79) of germinal center, as well as the number of cell nuclei in the internodular zone and the length of a Peyer's patch (0.95), the height (0.94) and width of (0.82) internodular zone.

By 5-6 months of postnatal development, there was a high degree of positive correlation between the number of Peyer's patches and their length (0.88), the width of germinal center (0.91), the length of a patch and the width of a lymph nodule (0.98), germinal center (0.93), and internodular zone (0.85). Similar relationship was revealed between the number of the cell nuclei in the germinal center and the Peyer's patch length (0.87), the height (0.90) and width (0.79) of germinal center, as well as the number of cell nuclei in the internodular zone and the length of a patch (0.99), the height (0.97) and width of (0.89) internodular zone. The average degree of correlation relationship was revealed between the number of patches and the width of internodular zone (0.65).

We revealed a strong correlation relationship in 7-9 month-old animals between the number of Peyer's patches and their length (0.89), the width of germinal center (0.89), internodular zone (0.86), as well as the length of a Peyer's patch and the width of a lymph nodule (0.99), germinal center (0.97), and internodular zone (0.97). A high degree of positive

interrelationship was revealed between the number of the cell nuclei in the germinal center and the Peyer's patch length (0.98), the height (0.87) and width (0.87) of germinal center, as well as the number of cell nuclei in the internodular zone and the length of a patch (0.94), the height (0.85) and width of (0.99) internodular zone.

The rats in the later stages of postnatal development (10-11 months) had a close linear relationship between the number of Peyer's patches and their length (0.93), the width of germinal center (0.95), internodular zone (0.93), as well as the length of a Peyer's patch and the width of a lymph nodule (0.84), germinal center (0.80), and internodular zone (0.82). Similar relationship was between the number of the cell nuclei in the germinal center and the Peyer's patch length (0.96), the height (0.93) and width (0.97) of germinal center, as well as the number of cell nuclei in the internodular zone and the length of a patch (0.94), the height (0.91) and width of (0.91) internodular zone.

Conclusion. The correlation analysis revealed that the intact animals of different age groups had a direct interrelationship between the parameters in the range of $0.65 < r < 0.99$.

References

1. Vasilenko A.M. Theory and practice of reflex neuroendocrine immunomodulation // Allergology and Immunology. Vol. 2004. 5, No. 2. P. 271-278.
2. Gmurman V.E. Theory of Probability and Mathematical Statistics: A study guide for students. 10th Edition, reprint. Moscow: Higher School, 2004, P. 479.
3. Konorev M.R. Modern views on the immune system associated with the intestinal mucosa // Immunology, Allergology, Infectology. 2010. No. 2. P. 40-46.
4. Lazebnyk L.B. The immune system and digestive diseases // Therapeutic archive. 2004. No. 12. P. 5-8.
5. Terekhov O.P. The immune system as endogenous supply system of multicellular organisms // Immunology. 2005. No. 1. P. 59-61.
6. Camille J. Peyer's patches: The immune sensors of the intestine // International Journal of inflammatory. 2010. V. 45. P. 1-12.
7. Cesta M.F. Normal structure, function and histology of mucosa-associated lymphoid tissue // Toxicologic Pathology. 2006. V. 34, № 5. P. 599-608.
8. Frieke-Kuper C. Histopathology of mucosa-associated lymphoid tissue // Toxicologic Pathology. 2006. № 34. P. 609-615.

UDC 612.06

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-56-61

Денисюк Т.А.

ЭНДОТЕЛИО-И КАРДИОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ ГМГ-Ко-А-РЕДУКТАЗЫ ПРИ ЭНДОТОКСИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

доцент кафедры фармакологии, ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3
E-mail: denitayana@yandex.ru

Резюме: Использование ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина на фоне моделирования эндотоксин-индуцированной патологии введением штамма 603 *Staphylococcus aureus* приводит к развитию дозозависимого эндотелиопротективного действия, выражающегося в нормализации КЭД, предотвращению повышения адренореактивности и истощения миокардиального резерва, а также нормализации биохимических маркеров воспаления (С-реактивный белок) и уровня провоспалительных цитокинов. При этом обнаружена положительная динамика конечных продуктов NO и экспрессии eNOS.

Ключевые слова: дисфункция эндотелия, ингибиторы ГМГ-Ко-А-редуктазы, эндотоксин.

Denisyuk T.A.

ENDOTHELIO-AND CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF HMG-Co-A REDUCTASE IN ENDOTOKSIN-INDUCING ENDOTELIAL DYSFUNCTION

Associate Professor. Department of Pharmacology, SEI HPE KSMU of the Russian Ministry of Health
3 Karl Marks St., Kursk, 305041, Russia. E-mail: denitayana@yandex.ru

Abstract: The use of inhibitors of HMG-Co-A reductase inhibitor Simvastatin, Atorvastatin, Rosuvastatin and nanoparticulated Rosuvastatin on the background modeling of endotoxin-induced pathology through introduction of strain 603 *Staphylococcus aureus* leads to the development of dose-response endothelioprotective action which is expressed in the normalization of QED, prevention of increase of adrenoactivity and exhaustion of myocardial reserve and normalization of biochemical markers of inflammation (C-reactive protein) and the level of proinflammatory cytokines. Besides, the positive dynamics of end-products of NO and expression of eNOS is detected.

Keywords: endothelial dysfunction; HMG-Co-A-reductase inhibitor; endotoxin

Несмотря на многочисленные исследования сердечно-сосудистые заболевания остаются среди главных причин смертности и инвалидизации. При этом, акцент в исследованиях направленных на изучение патогенеза и разработки мер профилактики, очевидно, смещается в сторону эндотелиальной дисфункции [15, 4, 6] и роли цитокинов [14, 3, 7] в формировании атеросклеротических повреждений сосудов.

Примечательно, что значительное внимание стало уделяться эндотоксиновым повреждениям при различных абдоминальных катастрофах (перитонит, непроходимость, острый панкреатит и т.д.) [8, 9], сепсисе [12], разнообразной инфекционной патологии [13]. При этом, выстраивается четкая последовательность событий: эндотоксиновый шок с полиорганной патологией, -> выброс провоспалительных цитокинов ->, эндотелиальная дисфункция ->, системный

васкулит ->, повышение проницаемости сосудистой стенки и эндотелия для лимфоцитов ->, гиперлиппротеинемия ->, начало атеросклеротического процесса [8,9,12,13].

Логично предположить, что аналогичный алгоритм может быть принят для любой эндотоксин-индуцированной патологии, независимо от причинные ее возникновения.

В то же время, при всей стройности патогенетических схем и включения множества факторов (VEGF, sFlt-1, аутоантитело рецептора ангиотензина II (тип 1) (AT1-AA), цитокины (фактор некроза опухоли (TNF)-α), эндотелин, активные формы кислорода (ROS), тромбоксан, 20-гидроксиэйкозатетраеновая кислота (20-НЕТЕ), повышенная чувствительность к ангиотензину II и т.д.), очевидной, является неотработанность фармакотерапевтических стратегий направленных на коррекцию

эндотелиальной дисфункции при остром системном воспалении. В этом отношении, несомненный интерес, имеет фармакологическая мишень «ADMA-eNOS [15, 10, 1, 15, 11, 2].

Можно предположить, что одной из фармакотерапевтических стратегий коррекции эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункции являются ингибиторы ГМГ-Ко-А-редуктазы.

Материалы и методы. Эксперименты проводились на белых крысах самцах линии Вистар массой 200-250 г. Моделирование эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункции (ЭИЭД) проводили путем подкожного введения 0,1 мл свежей взвеси *Staphylococcus aureus* (штамм 603) в концентрации 10 миллиардов микробных тел в 1 мл.

Ингибиторы ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатин 2,2, 4,3 и 8,5 мг/кг, аторвастатин 1,1, 2,2 и 4,3 мг/кг, розувастатин 2,2, 4,3 и 8,5 мг/кг и нанопартикулированный розувастатин 3,0, 6,3 и 11,6 мг/кг вводились внутривенно однократно в течении 7 суток.

Животные были разделены на группы (n=10): 1 – контроль; 2 – эндотоксин-индуцированная эндотелиальная дисфункция (ЭИЭД). 3 – ЭИЭД + симвастатин 2,2, 4,3 и 8,5 мг/кг; 4 – ЭИЭД + аторвастатин 1,1, 2,2 и 4,3 мг/кг; 4 – ЭИЭД + розувастатин 2,2, 4,3 и 8,5 мг/кг; 5 – ЭИЭД + нанопартикулированный розувастатин 3,0, 6,3 и 11,6 мг/кг.

На 8-й день от начала экспериментов под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) проводили катетер в левую сонную артерию для записи показателей артериального давления (АД). Введение фармакологических агентов осуществляли в бедренную вену. Гемодинамические показатели: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и ЧСС измеряли непрерывно с помощью аппаратно-программного комплекса «Віорас». Кроме того, проводили серию функциональных проб в следующей последовательности: 1. эндотелий-зависимая вазодилатация (внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг в / кг); 2. эндотелий независимая вазодилатация (внутривенное введ раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг) [15, 10, 1, 15, 11, 2]. Для оценки кардиопротективной активности проводили функциональные пробы на адренореактивность [10,1] и истощение миокардиального резерва [12, 13].

Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами оценивали

по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД) [15, 10, 1, 15, 11, 2]. Динамику значений биохимических маркеров (Тотал NO, Экспрессия eNOS, С-реактивный белок, ИЛ-6, ФНО) у животных эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункцией оценивали с помощью стандартных наборов реактивов [15].

Достоверность изменений абсолютных параметров определяли разностным методом вариационной статистики с нахождением средних значений сдвигов (M), средней арифметической ($\pm m$) и вероятности возможной ошибки (p) по таблицам Стьюдента. Различия оценивали как достоверные при $p < 0,05$. Статистические расчёты проводились с использованием программы Microsoft Excel 7.0.

Результаты исследования и обсуждение: Использование ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина при моделировании ЭИЭД обнаружило выраженное дозозависимое эндотелиопротективное действие, выражающееся в существенном снижении КЭД, на фоне нормализации значений систолического и диастолического артериального давления (табл.1). Так, при моделировании ЭИЭД КЭД составил $3,7 \pm 0,5$, тогда как в больших дозах исследуемых препаратов симвастатина (8,5 мг/кг), аторвастатина (4,3 мг/кг), розувастатина (8,5 мг/кг) и нанопартикулированного розувастатина (11,6 мг/кг), соответственно, $2,3 \pm 0,5$, $2,1 \pm 0,3$, $1,7 \pm 0,5$ и $1,5 \pm 0,2$ у.е., что приближалось к значениям у интактных животных ($1,1 \pm 0,1$). При этом, наиболее эффективными оказались розувастатин и его нанопартикулированная форма.

Параллельно обнаружена положительная динамика показателей сократимости при проведении нагрузочных проб у животных с ЭИЭД (табл. 2). Так, выявлено предотвращение повышения адренореактивности и снижения миокардиального резерва. При этом, также как и в отношении КЭД наиболее эффективными оказались розувастатин (8,5 мг/кг) и его нанопартикулированная форма (11,6 мг/кг) (табл. 2).

Наиболее выражено эндотелио- и кардиопротективное действие ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина проявилось в отношении значений биохимических маркеров у животных с ЭИЭД (табл. 3).

Уровень конечных метаболитов NOx и экспрессии eNOS, подверженные резкому увеличению (NOx) и снижению (Экспрессия

eNOS) при моделировании эндотоксин-индуцированной патологии, на 8 сутки после под влиянием статинов нормализовались и достигали значений не отличающихся от интактных животных в максимальных дозах ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы (табл. 3). Обращает на себя внимание, что наибольший эффект оказывала нанопартикулированная форма розувастатина, что свидетельствует в пользу гипотезы об изменении объема распределения розувастатина в сторону ограничения кровеносным руслом (табл. 3).

Маркер системной воспалительной реакции С-реактивный белок, показав увеличение при ЭИЭД в 7,5 раз, под влиянием средних и больших доз ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина, снижался до значений статистически не отличающихся от интактных животных (табл. 3).

Провоспалительные цитокины ИЛ-6 и ФНО, при моделировании ЭИЭД увеличивались в 15 и 2,1 раза. Использование средних и больших доз ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина оказывало выраженное нормализующее воздействие и значения приближались к показателям у интактных животных. Наиболее сильное протективное действие оказывала нанопартикулированная форма розувастатина 11,6 мг/кг (табл. 3).

Выводы. Таким образом, использование ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина на фоне моделирования ЭИЭД, введением штамма 603 *Staphylococcus aureus*, приводит к развитию дозозависимого эндотелиопротективного действия, выражающегося в нормализации КЭД, предотвращению повышения адренореактивности и истощения миокардиального резерва, а также нормализации биохимических маркеров воспаления (С-реактивный белок) и уровня провоспалительных цитокинов. При этом, обнаружена положительная динамика конечных продуктов NO и экспрессии eNOS.

По мнению многих исследователей, плейотропные эффекты статинов не связаны с их гиполипидемическим действием. Мевалонат является основным метаболитом не только для синтеза ХС, но и для синтеза изопреноидных промежуточных соединений. Эти молекулы участвуют в активации и внутриклеточном транспорте белков Rho и Ras, которые, в свою очередь, являются ключевыми для пролиферации, дифференциации клеток, в т.ч. гладкомышечных клеток и клеток иммунной системы.

Литература

1. Артюшкова Е.В., Покровский М.В., Артюшкова Е.Б., Корокин М.В., Гудырев О.С., Белоус А.С. Эндотелио- и кардиопротективные эффекты мельдония и триметазидина при l-name-индуцированной эндотелиальной дисфункции в эксперименте // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2010. № 3. С. 5-10.
2. Гуманова Н.Г., Артюшкова Е.Б., Мешельская В.А., Кочкаров В.И., Покровская Т.Г., Даниленко Л.М., Корнеев М.М., Покровский М.В., Пашин Е.Н. Влияние антиоксидантов q510 и резвератрола на регуляторную функцию эндотелия у крыс с моделированной артериальной гипертензией // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2007. Т. 143. № 6. С. 619-622.
3. Князева С.Г., Лазарев А.И., Рыбников В.Н., Конопля А.А., Грачева Г.В., Ломакина О.П., Гаврилюк В.П., Келехсаева Л.Е. Клинико-иммунологическая эффективность имунофана, глутоксиа и мексидола у больных хроническим салпингоофоритом в условиях применения лапароскопических методов лечения // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2007. № 3. С. 74-81.
4. Корокин М.В., Покровский М.В., Новиков О.О., Гуреев В.В., Денисюк Т.А., Корокина Л.В., Полянская О.С., Рагулина В.А., Покровская Т.Г., Даниленко Л.М., Белоус А.С. Влияние l-аргинина, витамина b₆ и фолиевой кислоты на показатели эндотелиальной дисфункции и микроциркуляции в плаценте при моделировании l-name-индуцированного дефицита оксида азота // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. Т. 152. № 7. С. 77-79.
5. Корокин М.В., Носов А.М., Покровский М.В., Артюшкова Е.Б., Покровская Т.Г., Метельская В.А., Кочкаров В.И., Корокина Л.В., Файтельсон А.В., Гудырев О.С., Пашин Е.Н., Дудка В.Т., Туманова Н.Г. Сравнительное исследование эндотелио- и кардиопротективных свойств фураностаноловых гликозидов из культуры клеток растения *dioscorea deltoidea* и 17 β -эстрадиола // Кубанский научный медицинский вестник. 2006. № 9. С. 137-140.
6. Кочкаров В.И., Покровский М.В., Корнеев М.М., Покровская Т.Г., Гладченко М.П., Артюшкова Е.Б., Метельская В.А., Туманова Н.Г., Файтельсон А.В., Дудка В.Т., Клявс Ю.П., Зеленкова Т.И., Гудырев О.С. Эндотелиопротективные эффекты резвератрола и его комбинаций с эналаприлом и лозартаном при экспериментальном моделировании дефицита оксида азота // Кубанский научный медицинский вестник. 2006. № 9. С. 150-152.
7. Лазарева Г.А., Бровкина И.Л., Прокопенко Л.Г. Эссенциале и рибоксин как индукторы иммуномодулирующей активности стромы эритроцитов в норме и при токсических формах анемии // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. Т. 67. № 5. С. 23-27.
8. Савельев В.С., Яблоков Е.Г., Петухов В.А. Липидный дистресс-синдром в хирургии // Бюл. экспер. биол. 1999. Т. 127, № 6. С. 604-611.
9. Савельев В.С., Петухов В.А., Ан Е.С. Дисфункция эндотелия при липидном дистресс-

синдроме и дисметаболических последствиях перитонита. //Русский медицинский журнал. 2009. Т. 17, №14. С 1-11.

10. Покровский М.В., Артюшкова Е.Б., Покровская Т.Г. Способы экспериментального моделирования эндотелиальной дисфункции // Аллергология и иммунология. 2008. Т. 9. № 3. С. 327

11. Цепелева С.А., Покровский М.В., Покровская Т.Г., Корокин М.В., Денисюк Т.А., Котельникова Л.В., Лопатин Д.В., Титарева Л.В., Черноморцева Е.С., Дудина Э.Н., Коновалова Е.А., Лосенок П.И., Локтионова И.Л., Терехова Е.Г., Бабко С.А. Кардио- и эндотелиопротективные эффекты ингибитора аргиназы L-норвалина при моделировании L-name индуцированного дефицита оксида азота // Кубанский научный медицинский вестник. 2011. № 4. С. 185-188.

12. Broekhuizen Lysette N., Mooij Hans L., Kasteleina John J.P... Endothelial glycocalyx as potential diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease // Current Opinion in Lipidology 2009. 20: 57–62

13. Becker. I. Bernhard F., Daniel Chappell, Dirk Bruegger. Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential //Cardiovasc Res (2010) 87 (2): 300-310.

14. Diamant M., Tushuizen M., Abid-Hussein Mohammed. Simvastatin induces endothelial cell anoikis and release of caspase 3-containing microparticles // Int. Soc. Hypertens // . 2006. Vol. 43. P. 345 – 367.

15. Pokrovskiy M.V., Kochkarov V.I., Pokrovskaya T.G., etc., «Comparative study of potential endothelioprotectors and impaza in modeled nitric oxide deficiency» The Bulletin of experimental biology and medicine, 148 (3): 514-7 (2009).

References

1. Artyushkova E.V., Pokrovskiy M.V., Artyushkova E.B., Korokin M.V. Gudyrev O.S., Belous A.S. Endothelio-and cardioprotective effects meldonium trimetazidine and at L-name-induced endothelial dysfunction in experiment // Kursk scientific-practical herald «Man and his health». 2010. № 3. P. 5-10.

2. Gumanova N.G., Arshjushkova E.B., Meshel'skaya V.A., Kochkarov V.I., Pokrovskaya T.G., Danilenko L.M., Korneev M.M., Pokrovskiy M.V., Pashin E.N. Effect of resveratrol on antioksidantovq510 and regulatory endothelial function in rats with simulated arterial hypertension // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2007. T. 143. № 6. P. 619-622.

3. Knyazeva S.G., Lazarev A.I., Rybnikov V.N., Konoplya A.A., Gracheva G.V., Lomakina O.P., Gavrilyuk V.P., Kelekhsaeva L.E. Clinical and immunological efficacy imunofana, glutoksima mexidol and in patients with chronic salpingo in the conditions of use of laparoscopic treatment // Kursk scientific-practical herald «Man and his health». 2007. № 3. P. 74-81.

4. Korokin M.V., Pokrovskiy M.V., Novikov O.O., Gureev V.V., Denisyuk T.A., Korokina L.V., Polyanskaya O.S., Ragulina V.A., Pokrovskaya T.G., Danilenko L.M., Belous A.S. Effect of L-arginine, vitamin b6 and folic acid indicators of endothelial dysfunction and microcirculation in the placenta in the simulation L-name-induced nitric

oxide deficiency // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2011. T. 152. № 7. P. 77-79.

5. Korokin M.V., Nosov A.M., Pokrovskiy M.V., Artyushkova E.B., Pokrovskaya T.G., Metel'skaya V.A., Kochkarov V.I., Korokina L.V., Faytel'son A.V., Gudyrev O.S., Pashin E.N., Dudka V.T., Tumanova N.G. Comparative study endothelio- and cardioprotective properties furostanol glycosides from plant cell cultures Dioscorea deltoidea and 17p-estradiol Kuban // Research Medical Gazette. 2006. № 9. P. 137-140.

6. Kochkarov V.I., Pokrovskiy M.V., Korneev M.M., Pokrovskaya T.G., Gladchenko M.P., Artyushkova E.B., Metel'skaya V.A., Tumanova N.G., Faytel'son A.V., Dudka V.T., Klyavs Yu.P., Zelenkova T.I., Gudyrev O.S. endothelioprotektivnye effects of resveratrol and its combination with enalapril and losartan in experimental modeling of nitric oxide deficiency Kuban // Research Medical Gazette. 2006. № 9. P. 150-152.

7. Lazareva G.A., Brovkina I.L., Prokopenko L.G. Essentiale and Riboxinum as inducers of immunomodulatory activity of the stroma of red blood cells in normal and toxic forms of anemia // Experimental and Clinical Pharmacology. 2004. T. 67. № 5. P. 23-27.

8. Saveliev V.S., Yablokov E.G., Petukhov V.A. Lipid distress syndrome in Gia hirur // Bul. Exper. biol. T. 1999. 127, number 6. P. 604-611.

9. Savelyev V.S., Petukhov V.A., An E.S. Endothelial dysfunction in lipid distress syndrome and dismetabolic consequences of peritonitis. // Russian Medical Journal. 2009. T. 17, №14. P 1-11.

10. Pokrovskiy M.V., Artyushkova E.B., Pokrovskaya T.G. Methods of experimental modeling of endothelial dysfunction // Allergology and Immunology. 2008. V. 9. № 3. P. 327

11. Tsepeleva S.A., Pokrovskiy M.V., Pokrovskaya T.G., Korokin M.V., Denisyuk T.A., Kotel'nikova L.V., Lopatin D.V., Titareva L.V., Chernomortseva E.S., Dudina E.N., Konovalova E.A., Losenok P.I., Loktionova I.L., Terekhova E.G., Babko S.A. Cardio and endothelioprotektivnye effects of arginase inhibitor L-norvaline in modeling L-name induced nitric oxide deficiency Kuban // Research Medical Gazette. 2011. № 4. P. 185-188.

12. Broekhuizen Lysette N., Mooij Hans L., Kasteleina John J.P... Endothelial glycocalyx as potential diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease // Current Opinion in Lipidology 2009. 20: 57–62

13. Becker. I. Bernhard F., Daniel Chappell, Dirk Bruegger. Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential //Cardiovasc Res (2010) 87 (2): 300-310.

14. Diamant M., Tushuizen M., Abid-Hussein Mohammed. Simvastatin induces endothelial cell anoikis and release of caspase 3-containing microparticles // Int. Soc. Hypertens // . 2006. Vol. 43. P. 345 367.

15. Pokrovskiy M.V., Kochkarov V.I., Pokrovskaya T.G., etc., «Comparative study of potential endothelioprotectors and impaza in modeled nitric oxide deficiency» The Bulletin of experimental biology and medicine, 148 (3): 514-7 (2009).

Таблица 1

Влияние ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина на динамику гемодинамических показателей у животных с эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункцией (M±m, n=10).

Table 1

Effects of HMG-Co-A reductase inhibitor Simvastatin, Atorvastatin, Rosuvastatin and nanoparticulated Rosuvastatin on dynamics of hemodynamic parameters in animals with endotoxin-induced endothelial dysfunction (M ± m, n = 10)

Группы животных	САД	ДАД	КЭД
Интактные	129,4±2,2	89,2± 1,1	1,1 ± 0,1
Эндотоксининдуцированная эндотелиальная дисфункция (EIED) (n=10)	117,6±2,3*	85,0±2,1	3,7±0,5*
ЭИЭД + Симвастатин 2,2 мг/кг(n=10)	117,1±3,3	82,1±2,3	3,6±0,4*
4,3 мг/кг (n=10)	121,6±2,0	83,0±2,2	2,9±0,3*#
8,5 мг/кг (n=10)	127,3±2,8	87,1±1,9	2,3±0,5*#
ЭИЭД + Аторвастатин 1,1 мг/кг(n=10)	115,1±3,0*	86,7±2,0	3,5±0,4*
2,2 мг/кг(n=10)	121,6±2,9	82,9±2,3	2,7±0,4*#
4,3 мг/кг(n=10)	130,0±3,3	85,8±2,2	2,1±0,3*#
ЭИЭД + Розувастатин 2,2 мг/кг (n=10)	118,9±3,3*	87,3±2,8	3,3±0,3*
4,3 мг/кг (n=10)	127,0±3,9	86,0±2,0	2,4±0,4*#
8,5 мг/кг (n=1)	135,0±3,8	83,1±2,1	1,7±0,5*#
ЭИЭД + Нанопартикулированный розувастатин 3 мг/кг (n=10)	120,1±4,0	87,0±2,0	3,2±0,3*
Нанопартикулированный розувастатин 6,3 мг/кг (n=10)	127,9±3,3	84,1±2,1	2,5±0,3*#
Нанопартикулированный розувастатин 11,6 мг/кг (n=10)	129,6±4,3	84,9±2,0	1,5±0,2*#

Примечание: САД – систолическое артериальное давление (мм.рт.ст.), ДАД – диастолическое артериальное давление (мм.рт.ст.), КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции (усл. ед.), * – достоверное различие с группой интактных животных (p<0,05); #- достоверное различие с группой эндотоксин-индуцированная модель ЭД (ЭИЭД) (p<0,05).

Таблица 2

Влияние ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина на динамику показателей сократимости при проведении нагрузочных проб у животных с эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункцией (M±m, n=10).

Table 2

Effects of HMG-Co-A reductase inhibitor Simvastatin, Atorvastatin, Rosuvastatin and nanoparticulated Rosuvastatin on dynamics of contractility during exercise testing in animals with endotoxin-induced endothelial dysfunction (M ± m, n = 10)

Группа животных	Адренореактивность (мм. рт. ст.)	Исчерпание миокардиального резерва (%)
1	2	3
Интактные	201,5±9,4	112,7±10,9
Эндотоксининдуцированная эндотелиальная дисфункция (ЭИЭД) (n=10)	240,3±8,7*	79,4±3,9*
ЭИЭД + Симвастатин 2,2 мг/кг(n=10)	245,1±10,5*	79,9±4,2*
4,3 мг/кг (n=10)	240,1±9,7*	82,1±3,9*
8,5 мг/кг (n=10)	232,0±8,9*	87,4±3,7*
ЭИЭД + Аторвастатин 1,1 мг/кг(n=10)	239,9±9,0*	81,7±4,0*
2,2 мг/кг(n=10)	230,3±9,7*	85,0±3,6*
4,3 мг/кг(n=10)	222,1±8,5*#	97,0±4,9*

1	2	3
ЭИЭД +Розувастатин 2,2 мг/кг (n=10)	238,9±9,8*	89,0±4,9*
4,3 мг/кг (n=10)	232,4±9,7*	95,7±5,8*
8,5 мг/кг (n=1)	221,0±8,4*#	109,4±5,7*#
ЭИЭД + Нанопартикулированный розувастатин 3 мг/кг (n=10)	232,9±9,3*	90,3±5,0*
Нанопартикулированный розувастатин 6,3 мг/кг (n=10)	225,3±7,6*	95,3±5,7*
Нанопартикулированный розувастатин 11,6 мг/кг (n=10)	219,1±8,7*#	99,9±6,3*#

Примечание: * – достоверное различие с группой интактных животных (p<0,05); # - достоверное различие с группой эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункцией (ЭИЭД) (p<0,05).

Таблица 3

Влияние ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина на динамику значений биохимических маркеров (Тотал NO, Экспрессия eNOS, С-реактивный белок, ИЛ-6, ФНО) у животных с эндотоксининдуцированной эндотелиальной дисфункцией (M±m, n=10)

Table 3

Effects of HMG-Co A reductaseinhibitor Simvastatin, Atorvastatin, Rosuvastatin and nanoparticulated Rosuvastatin on dynamics of values of biochemical markers (Total NO, expression of eNOS, C-reactive protein, IL-6, TNF) in animals with endotoksininduced endothelialdysfunction (M ± m , n = 10)

Группа животных	NOx	Экспрессия eNOS	Уровень СРБ	ИЛ-6	ФНО
Интактные	116,8±10,3	5,4±0,21	0,05±0,01	0,43±0,17	8,42±2,51
Эндотоксининдуцированная эндотелиальная дисфункция (ЭИЭД) (n=10)	182,3±12,4*	0,04±0,01*	0,38±0,01*	6,87±1,93*	17,83±3,79*
ЭИЭД + Симвастатин 2,2 мг/кг(n=10)	180,1±9,9*	0,09±0,01*	0,33±0,01*	5,13±1,07*	15,45±3,09*
4,3 мг/кг (n=10)	141,1±10,0*#	0,13±0,02*#	0,19±0,02*#	3,17±0,95*#	12,81±2,12*#
8,5 мг/кг (n=10)	122,9±8,4*#	1,93±0,12*#	0,08±0,01*#	1,03±0,62*#	10,76±1,70*#
ЭИЭД + Аторвастатин 1,1 мг/кг(n=10)	189,3±13,7*	0,12±0,01*	0,32±0,02*	4,12±0,91*	16,12±2,95*
2,2 мг/кг(n=10)	152,9±11,2*	1,23±0,15*#	0,18±0,01*#	2,34±0,43*#	12,14±2,71*#
4,3 мг/кг(n=10)	130,0±10,9*#	2,07±0,21*#	0,09±0,01*#	1,27±0,33*#	9,89±1,79*#
ЭИЭД +Розувастатин 2,2 (n=10)	171,1±14,2*	0,39±0,02*	0,30±0,03*	5,95±1,29*	17,01±2,99*
4,3 (n=10)	142,0±10,1*#	2,24±0,15*#	0,17±0,02*#	3,82±0,90*#	12,76±1,95*#
8,5 (n=10)	122,1±9,9*#	3,04±0,35*#	0,11±0,01*#	1,17±0,33*#	10,80±1,99*#
ЭИЭД + Нанопартикулированный розувастатин 3 мг/кг (n=10)	179,2±12,0*	0,64±0,03*	0,31±0,02*	6,1±1,43*	19,13±3,69*
Нанопартикулированный розувастатин 6,3 мг/кг (n=10)	161,7±11,7*	3,09±0,23*#	0,21±0,01*#	2,43±0,95*#	12,36±2,46*#
Нанопартикулированный розувастатин 11,6 мг/кг (n=10)	132,1±10,3*#	4,01±0,56*#	0,18±0,01*#	1,48±0,24*#	9,56±1,87*#

Примечание: NOx – конечные метаболиты NO (мкмоль/л); экспрессия eNOS (%); уровень СРБ – С-реактивного белка (мг/л); ИЛ-6 – интерлейкин 6 (пг/мл) ФНО – фактор некроза опухоли (пг/мл), * – достоверное различие с группой интактных животных (p<0,05); # - достоверное различие с группой эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункцией (ЭИЭД) (p<0,05).

UDC 616-01; 612-01

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-62-65

Dolzhirov A.A.¹
Tverskoi A. V.²
Bobyntsev I. I.³
Kriukov A. A.⁴
Belykh A.E.⁵

**MORPHOMETRIC STUDY OF HIPPOCAMPAL NEURONS
IN CHRONIC IMMOBILIZATION STRESS**

- 1) Doctor of Medicine, Professor, Department of Histology of the Medical Institute Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia. *E-mail: dolzhirov@bsu.edu.ru*
- 2) PhD in Medicine, Associate Professor of the Department of Human Anatomy of the Medical Institute Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia. *E-mail: tverskoy@bsu.edu.ru*
- 3) Associate Professor of the Department of Pathological Physiology, Doctor of Medicine, Professor. State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Kursk State Medical University», Karla Marksa Str. 3, Kursk, 305041, Russia. *E-mail: bobig@mail.ru.*
- 4) PhD in Medicine, Assistant Professor of the Department of Pathological Physiology. State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Kursk State Medical University», Karla Marksa Str. 3, Kursk, 305041, Russia. *E-mail: KrukovAA@kursksmu.net*
- 5) Assistant of the Department of Pathological Physiology, State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Kursk State Medical University», Karla Marksa Str. 3, Kursk, 305041, Russia. *E-mail: and-white@yandex.ru*

Abstract:

Hippocampus ensures the implementation of the memory mechanisms, behavioral reactions, including avoidance of stress, aversive effects etc. The study was performed on the material of 20 male Wistar rats weighing 220-250 g, 10 of which were intact control group and 10 were experimental group, in which chronic immobilization stress was simulated. We determined the relative number of neurons in multiple fields of view on the total area of the pyramidal and polymorphic layers of CA1 and CA3 regions (further recalculated per 10,000 μm), larger and smaller diameters of neuron's bodies, their perimeters and areas with diameters of nuclei and nucleoli, nuclear-cytoplasmic ratio. It is found that under chronic immobilization stress in areas CA1 and CA3 of the hippocampus the morphologically similar neuronal lesions, decrease in their number, and change in nucleocytoplasmic ratio are observed.

Keywords: hippocampus, neurons, immobilization stress.

Должиков А.А.¹
Тверской А. В.²
Бобынцев И.И.³
Крюков А.А.⁴
Белых А.Е.⁵

**МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА
ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ
ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ**

- 1) доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии, профессор НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: dolzhirov@bsu.edu.ru
- 2) кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой анатомии человека, доцент НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: tverskoy@bsu.edu.ru
- 3) доктор медицинских наук, заведующий кафедрой патологической физиологии, профессор ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3, Россия, E-mail: bobig@mail.ru
- 4) кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии, ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3, Россия, E-mail: KrukovAA@kursksmu.net
- 5) ассистент кафедры патологической физиологии, ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, ул. 305041, Курск, К. Маркса, 3, Россия, E-mail: and-white@yandex.ru

Аннотация. Гиппокамп обеспечивает реализацию механизмов памяти, поведенческих реакций, в том числе избегания стрессовых, авersiveных воздействий. Исследование выполнено на материале 20 крыс-самцов Вистар массой 220-250 г, 10 из которых составили интактную контрольную группу, 10 – экспериментальную, в которой моделировали хронический иммобилизационный стресс. Определяли относительное количество нейронов в нескольких полях зрения на полной площади пирамидного и полиморфного слоев областей CA1 и CA3 (с последующим пересчетом на 10000 мкм), больший и меньший диаметры перикарионов нейронов, их периметры, и площади, диаметры ядер и ядрышек, ядерно-цитоплазматическое соотношение. Установлено, что при хроническом иммобилизационном стрессе в областях CA1 и CA3 гиппокампа наблюдаются морфологически сходные повреждения нейронов, уменьшение их количества, изменение ядерно-цитоплазматического соотношения.

Ключевые слова: гиппокамп, нейроны, иммобилизационный стресс.

Hippocampus is one of the integrative brain structures that ensures the implementation of the memory mechanisms, behavioral reactions, including avoidance of stress, and aversive effects. It regulates the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by both glucocorticoid-sensitive and glucocorticoid-insensitive ways. The hippocampus performs function of selecting and fixing the emotionally significant events [1, 2, 4, 15].

The studies carried out in the 80s of the last century shown the role of changes in hippocampal structures under stress. Five evidences of relation between stress and hippocampus were formulated: 1) the presence of mineral and glucocorticoid receptors in the hippocampus of animals and humans; 2) an inverted U-shaped curve of relationship between the levels of acute stress and memory; 3) stress-modulated inner excitability of the hippocampus and the activity-dependent synaptic plasticity associated with learning and memory; 4) relation of structural changes in CA3 region of the hippocampus to the time and intensity of chronic stress and increase in the level of stress hormones; and 5) reduction in the formation of nerve cells in ontogeny induced by stress and hormones. Initial studies were conducted on rats. The subsequent experiments on these and other animals, as well as human studies have given conflicting results. Some studies have shown that chronic stress or exposure to glucocorticoids induce the death of hippocampal neurons in rats [7, 12], shrews [9], and in primates [13], the other studies of this phenomenon have found this phenomenon neither in rats [3, 5, 14] nor in primates [10] or humans [11]. Therefore, the theory of the glucocorticoid cascade as the main mechanism of damage to hippocampal structure under stress, has not found any unconditional confirmation. Now it has been shown that glucocorticoids in stress play a role not so

much the direct damaging factor as one that increases the sensitivity of hippocampal structures to other impacts [6].

One of the areas of current research is to find ways to correct impairments of integrative brain structures by using neurotropic, biologically active agents. In this context, we have investigated the effect of immobilization stress on the structural changes in the stress-sensitive CA1 and CA3 fields as a test model for further study of neurotropic drugs.

Materials and methods

The study was performed on the material of 20 male Wistar rats weighing 220-250 g, 10 of which were intact control group and 10 were experimental group, in which chronic immobilization stress was simulated. The animals were kept in cages per 10 animals under standard vivarium conditions with free access to food and water at 12-hour light regime and controlled temperature ($22\pm 2^\circ\text{C}$). The animals were stressed in the period from 9.00 a.m. to 2 p.m. The stress model was created by fixing the rats in the supine position in individual boxes for 2 hours every day for 5 days. At the end of the stress simulation the animals were removed from the experiment by exsanguination under ether anesthesia by drawing blood from the right ventricle. The study was conducted in compliance with the principles of the Helsinki Declaration on the humane treatment of animals, and in accordance with the decision of the regional ethics committee. Brains were removed completely from skull cavity and cut into four sections in the frontal plane. The material was fixed in 10% formalin solution by immersion method. To prepare the hippocampal preparation the corresponding frontal fragment was embedded in paraffin by standard procedure and stepped and serial sections of $4.0\ \mu\text{m}$ thick were cut. Samples for histological examination and micropreparations were prepared by using a set of certified Leica equipment

(Germany). Sections for standard histological examination were stained with hematoxylin and eosin in the machine for histological sections and smears staining (Autostainer XL ST5010; Leica, Germany), and with gallocyanin-chrome alum by Einarson's method, and thionine by Nissl's method. The main part of the morphological study was performed after the creation of an electronic image galley with the use of a semi-automatic scanner for micropreparations Mirax Desk (Carl Zeiss Microimaging GmbH, Germany). The morphometry was conducted with the use of Leica microscope software and the scanned image viewing program PanoramicViewer 1.15. We determined the relative number of neurons in multiple fields of view on the total area of the pyramidal and polymorphic layers of CA1 and CA3 regions (further recalculated per 10,000 μm), larger and smaller diameters of neuron's bodies, their perimeters and areas with diameters of nuclei and nucleoli, nuclear-cytoplasmic ratio. Each animal's linear and planimetric indices were measured at least 30 times. Quantitative data were recorded in MS Excel spreadsheets, which, as well as Statistica 6.0 were used for statistical processing. The reliability of the results was determined by Student's t test (t) and χ^2 with a confidence level of $p < 0.05$.

Results and discussions. CA1 and CA3 regions in intact animals are clearly defined both topographically and by the typical structure of neuronal layers, especially pyramidal one. The obtained morphological patterns corresponded with the descriptions of cytoarchitectonic features of rat hippocampus described in the literature [8]. CA1 region is formed from middle densely spaced neurons with the average minimum size of $10.57 \pm 0.17 \mu\text{m}$, maximum $16.03 \pm 0.28 \mu\text{m}$, and with the average perikaryonic area of $139.24 \pm 4.47 \mu\text{m}^2$. CA3 region consists of large, widely spaced neurons, which corresponding parameters are on average $12.10 \pm 0.20 \mu\text{m}$, $20.43 \pm 0.29 \mu\text{m}$, and $190.65 \pm 4.41 \mu\text{m}^2$. The differences in the spatial density and number of neurons in these regions are distinguished both visually and upon morphometry. Their amount in the CA1 region varies from 33.3 to 67.0 per 10,000 μm^2 (average 51.2 ± 4.5), in the CA3 region from 13.3 to 20.0 μm^2 (average 17.2 ± 3.2), with significant differences ($p < 0.05$). The diameters of the CA1 neuron cores were on average $36 \pm 0.13 \mu\text{m}$, while the same of CA3 region were proportionally larger ($8.85 \pm 0.17 \mu\text{m}$), and did not differ significantly. Nuclear-cytoplasmic ratio (NCR) was also similar: 0.32 ± 0.04 and 0.33 ± 0.06 . As the functional activity of neurons, we assessed the number of cells

containing two nucleolus in the nucleus, which was 30.0% in the CA1 region and 22.0% in CA3 region.

During immobilization stress, we revealed some qualitative and quantitative changes in the neurons of the studied regions of rat hippocampus. Qualitative signs of damage are a typical picture of disorganization of neuronal layers, chromatolysis phenomena, polymorphic changes in nuclei such as swelling and pyknomorphic changes. Apical dendrites of CA3 large pyramidal neurons, clearly defined directly in the perikaryons are normal, but deformed and have «amputated» appearance in the stressed animals. The presence of the stress-caused damages in the hippocampus structures is confirmed by shifts in the morphometric parameters of the neurons. The maximum size of perikaryons decreased, in the CA3 region to a greater extent (up to $17.68 \pm 0.19 \mu\text{m}$). Perikaryonic area of CA3 neurons decreased significantly ($p < 0.05$) to $164.6 \pm 2.38 \mu\text{m}^2$. The cell bodies lose their contour sharpness, and deformed. Given the fact that the largest size of the pyramidal neurons coincides with the orientation axis of the apical dendrite. Its reduction together with a reduced area of perikaryons may correspond to the described in the literature phenomenon of the stress-induced dendrite retraction [6]. The diameters of the CA1 neuronal nuclei insignificantly increased up to $7.83 \pm 0.09 \mu\text{m}$, while the same of CA3 region decreased up to $8.16 \pm 0.10 \mu\text{m}$, NCR at the same time did not changed in comparison with the indices in the intact animals. The most significant changes, reflecting the destruction and loss of the cellular composition of the hippocampus CA1 and CA3 regions, were determined when calculating the specific number of cells. Under chronic immobilization stress, it significantly decreased in the CA1 region up to 33.3 ± 4.1 ($p < 0.05$), in the CA3 region up to 14.7 ± 2.7 per 10,000 μm^2 , not differing from intact control. In the presence of synchronous changes in nuclei and perikaryons, reflected in unidirectional changes in their morphometric parameters, the indicator of the impaired functional activity of neurons is a revealed decrease in the number of binucleolar cells: a decrease in CA1 was up to 5.4% ($p < 0.05$ by χ^2), in CA3 – 3.8% ($p < 0.05$ by χ^2). This type of change from a functional point of view is consistent with the changes in neuronal processes that affect perikaryonic planimetric indices, the shifts in the density of synaptic contacts, and the decreased activity of synaptic transmission with the impaired interneuronal integration [15].

Thus, the chronic immobilization stress, simulated by the above method, leads to the development of signs of neuronal damage in the critical CA1 and CA3

regions of the hippocampus, manifesting themselves both qualitatively and quantitatively. The nature and extent of changes in the used model was similar in CA1 and CA3 hippocampal regions. We revealed the signs of the loss of neuronal composition in the studied regions, the differences from intact indicators in planimetric indices of perikaryons, as well as manifestations of reduced functional activity of neurons at the level of the nuclear transcription apparatus. The obtained results justify the methodological approach applied to the morphological study of the correction of damaged hippocampal structures under stress.

References

1. Umrikhin A.E. Hippocampal neurotransmitter mechanisms of stress behavior and avoidance reactions // Bulletin of new medical technologies (electronic edition). 2013. No. 1. P. 55.
2. Bartsch T., Döhring J., Rohr A., Jansen O., Deuschl G. CA1 neurons in the human hippocampus are critical for autobiographical memory, mental time travel, and autoegetic consciousness // PNAS. 2011. Vol. 108, N 42. P. 17562-17566.
3. Bodnoff S.R., Humphreys A.G., Lehman J.C., Diamond D.M., Rose G.M., Meaney M.J. Enduring effects of chronic corticosterone treatment on spatial learning, synaptic plasticity, and hippocampal neuropathology in young and mid-aged rats // J Neurosci. 1995. Vol. 15. P. 61-69.
4. Clark R.E., Broadbent N.J., Larry R. Squire Hippocampus and Remote Spatial Memory in Rats // Hippocampus. 2005. 15(2). P. 260 – 272.
5. Coburn-Litvak P.S., Tata D.A., Gorby H.E., McCloskey D.P., Richardson G., Anderson B.J. Chronic corticosterone affects brain weight, and mitochondrial, but not glial volume fraction in hippocampal area CA3 // Neuroscience. 2004. Vol. 124, N 2. P. 429-438.
6. Conrad C.D. Chronic Stress-Induced Hippocampal Vulnerability: The Glucocorticoid Vulnerability Hypothesis// Rev Neurosci. 2008. Vol. 19, N 6. P. 395-411.
7. Dachir S., Kadar T., Robinzon B., Levy A. Nimodipine's protection against corticosterone induced morphological changes in the hippocampus of young rats // Brain Res. 1997. Vol. 748, No. 1-2. P. 175-183.
8. El Falougy H., Kubikova E., Benuska J. The microscopical structure of the hippocampus in the rat // Bratisl. Lek Listy. 2008. Vol. 109, No. 3. P. 106-110.
9. Fuchs E., Flügge G., Ohl F., Lucassen P., VollmannHonsdorf G.K., Michaelis T. Psychosocial stress, glucocorticoids, and structural alterations in the tree shrew hippocampus // Physiol Behav. 2001. Vol. 73. P. 285-291.
10. Leverenz J.B., Wilkinson C.W., Wamble M., Corbin S., Grabber J.E., Raskind M.A., Peskind E.R. Effect of chronic high-dose exogenous cortisol on hippocampal neuronal number in aged nonhuman primates // J Neurosci. 1999. Vol. 19. P. 2356-2361.
11. Müller M.B., Lucassen P.J., Yassouridis A., Hoogendijk W.J.G., Holsboer F., Swaab D.F. Neither major depression nor glucocorticoid treatment affects the cellular integrity of the human hippocampus // Eur J Neurosci. 2001. Vol. 14. – P. 1603-1612.
12. Sapolsky R.M., Krey L.C., McEwen B.S. Prolonged glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number: Implications for aging // J Neurosci. 1985. Vol. 5. P. 1222-1227.
13. Sapolsky R.M., Uno H., Rebert C.S., Finch C.E. Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates // J Neurosci. 1990. Vol. 10. P. 2897-2902.
14. Sousa N., Madeira M.D., Paula-Barbosa M.M. Effects of corticosterone treatment and rehabilitation on the hippocampal formation of neonatal and adult rats. An unbiased stereological study // Brain Res. 1998. Vol. 794, N 2. P. 199-210.
15. The hippocampal book / Edited by: P. Andersen, Morris R., Amaral D., Bliss T., O Keefe J. Oxford University Press. 2007. 832 p.

UDC: 618.3-06-08:577.112.385.2

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-66-68

**Gureev V.V.¹
Martynova O.V.²
Anciferova O.E.³
Martynov M.A.⁴
Pokrovskaja T.G.⁵
Malorodova T.N.⁶
Lokteva T. I.⁷**

**CORRECTION OF ADMA-INDUCED PREECLAMPSIA
WITH THE USE OF PHOSPHODIESTERASE 5 AND SELECTIVE
INHIBITOR OF ARGINASE II ZB49-0010**

- 1) PhD in Medicine, Associate Professor. Department of Pharmacology. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: gureev@bsu.edu.ru
- 2) Graduate Student. Department of Pharmacology. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: m.olga91@mail.ru
- 3) Graduate Student. Department of Pharmacology. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 4) Attending Physician in the Department of Hospital Surgery. Department of Pharmacology. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 5) MD, Professor of Pharmacology. Department of Pharmacology. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 6) PhD in Medicine, Associate Professor. Department of Pharmacology. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 7) Graduate Student. Department of Pharmacology. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

ABSTRACT. Simulation experimental ADMA-like preeclampsia was carried out by administering the rats with L-NAME during 14-20 days of pregnancy. In animals, there was an increase in blood pressure, proteinuria, impaired microcirculation in the placenta, the violation of the regulation of vascular tone and destructive changes in the ischemic placenta. The use of phosphodiesterase 5 and selective inhibitor of arginase II ZB49-0010 leads to the expression of morphological and functional correction of violations occurring in modeling of experimental preeclampsia.

Keywords: rats; N-nitro-L-arginine methyl ester; endothelial dysfunction; preeclampsia; phosphodiesterase 5; a selective inhibitor of arginase II.

**Гуреев В.В.¹
Мартынова О.В.²
Анциферова О.Е.³
Мартынов М.А.⁴
Покровская Т.Г.⁵
Малородова Т.Н.⁶
Локтева Т.И.⁷**

**КОРРЕКЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АДМА-ПОДОБНОГО
ГЕСТОЗА ФОСФОДИЭСТЕРАЗОЙ 5 И СЕЛЕКТИВНЫМ
ИНГИБИТОРОМ АРГИНАЗЫ II ZB49-0010**

- 1) к.м.н., доцент кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия E-mail: gureev@bsu.edu.ru
- 2) аспирант кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия; E-mail: m.olga91@mail.ru
- 3) аспирант кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия
- 4) ординатор кафедры госпитальной хирургии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия
- 5) д.м.н., профессор кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия
- 6) к.м.н., доцент кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия

7) аспирант кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ»,
308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия

Аннотация: Моделирование экспериментального АДМА-подобного гестоза осуществляли путем введения крысам L-NAME с 14 по 20 сутки беременности. У животных наблюдалось повышение артериального давления, протеинурия, нарушение микроциркуляции в плаценте, нарушение регуляции сосудистого тонуса и деструктивные изменения в плаценте ишемического генеза. Использование тетрагидробиоптерина и селективного ингибитора аргиназы II ZB49-0010 приводило к выраженной коррекции морфофункциональных нарушений возникающих при моделировании экспериментального гестоза. Таким образом, результаты проведенного эксперимента дают основания для продолжения поиска препаратов с эндотелеопротестивными свойствами с целью коррекции гестоза.

Ключевые слова: крысы, N-нитро-L-аргинин-метилловый эфир, дисфункция эндотелия, экспериментальный гестоз, тетрагидробиоптерин, селективный ингибитор аргиназы II.

INTRODUCTION. Preeclampsia is the most common disease of pregnant women and ranks first in causes of maternal and perinatal mortality. Recently, many authors have played a significant role in the pathogenesis of the disease is removed endothelial dysfunction [1, 2]. The increased levels of free radicals, hormones, growth factors, pro-inflammatory cytokines, antigens of the fetus and other humoral factors causing increase of cell adhesion molecules, and the accumulation of endogenous inhibitors of eNOS-methylated analogs of L-arginine asymmetric dimethylarginine (ADMA) and monomethylarginine (L-NMMA), which are predictors of preeclampsia [3, 4, 5].

MAIN PART. In this regard, the current research seems to influence phosphodiesterase 5 and selective inhibitor of arginase II ZB49-0010, on for ADMA-like experimental preeclampsia.

PROCEDURE. The experiment was performed on 40 female white rats of Wistar strain weighing 250-300 g with a ADMA-similar agent – a non-selective NO-synthase blocker of N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) was administered intraperitoneally in a dose of 25 mg / kg / daily for seven days (day 14-20 of pregnancy). The endothelial dysfunction was assessed by the ratio of endothelium and vascular endothelium reactions to the calculation of the coefficient of endothelial dysfunction (CED) [6, 7, 8, 9]. Pregnant females were divided into groups (n = 10): I – intact; II – with L-NAME administration daily from the 14th to the 21st day of pregnancy; III – the introduction

of L-NAME + phosphodiesterase 5 (0,9 mg / kg); IV – with the introduction of L-NAME + selective inhibitor of arginase II ZB49-0010. Microcirculation Research carried on the outer surface of the uterine horn at a distance of 1 mm from the visible edge of the placental disc.

FINDINGS OF THE STUDY. The blockade of NO-synthase caused by the seven-day administration of L-NAME led to a breach of the relationship of the vasoconstrictor and vasodilating mechanisms of regulation of vascular tone, as evidenced by the increase in QED with $1,1 \pm 0,11$ intact pregnant animals to $3,12 \pm 0,17$ ($p < 0.05$). In addition, there was a significant rise in systolic and diastolic blood pressure $134,5 \pm 2,3$ and $92,0 \pm 2,1$ to $186,3 \pm 6,9$ and $143,1 \pm 4,2$ mm Hg. Art. respectively. The introduction of the blocker NO-synthase resulted in a significant reduction in the microcirculation of the placenta index with 446.3 ± 27.5 to $218.3 \pm 13,67$ ($p < 0.05$), as well as in the reduction of the NOx content of the stable metabolite in serum $2,28 \pm 0,11$ mmol / dL to $1,28 \pm 0,08$ / dl ($p < 0.05$).

Application of phosphodiesterase 5 and selective inhibitor of arginase II ZB49 = 0010 led to the normalization of relations between the vasodilating and vasoconstrictor response in experimental pre-eclampsia, as evidenced by the decline and statistically significant ($p < 0.05$) decrease in blood pressure (Table. 1). In addition, there was an improvement of microcirculation in the placenta.

Table 1

Results of correction of ADMA-like preeclampsia in rats (M ± m)

Index Group of animals	SBP, mmHg. DBP, mmHg.		CED, conv.	Microcirculation PU	Concentration of nitrite ions (NOx), μmol/l
Intact animals	134,5±2,3y	92,0±2,1y	1,10±0,11y	446,3±27,46y	2,28±0,11y
L-NAME	186,3±6,9*	143,1±4,2*	3,12±0,17*	218,3±13,67*	1,28±0,08y
L-NAME + FDE 5	149,7±2,2*	97,6±3,2*	1,85±0,08 y	398,7±24,84 y	1,36±0,1y
L-NAME + ZB49-0010	162,5±8,7*	130,2±6,7*	1,49±0,14y	435,4±27,35y	1,95±0,06y

Note: SBP, DBP – systolic and diastolic blood pressure (mmHg.); CED – the coefficient of endothelial dysfunction (conv.); microcirculation in the placenta (PU); the concentration of nitrite ion (NOx); * – P <0.05 compared to the group of intact animals; y- P <0.05 compared with the group of L-NAME.

When blood serum biochemical study found a statistically significant reduction of the prevention of stable metabolites of NO, the level of which amounted to 1,86 ± 0,07 mmol / dl and 1,95 ± 0,06 mmol / dL, respectively.

The efficiency of use of FDE 5 can be explained by the inhibition of phosphodiesterase 5 in the endothelia and an increase by the maintenance of cyclic adenosine monophosphate.

The mechanism of action of the selective inhibitor of arginase II ZB49-0010 its inhibitory effects on arginase 2. Given that eNOS and arginase compete for common substrate, increases the possibility of using L-arginine for NO synthesis [10, 11, 12, 13].

Ultimately, the mechanism of action of both drugs is reduced to restore the NO-synthesis function and to reduce the endothelial dysfunction. The differences in their endothelioprotective effects explain the different points of application in the pathway L-Arginine – NO.

CONCLUSION. Thus, the results of this experiment provide a basis for further research in order to find drugs with activity endoteoprotectivnoy correction of preeclampsia.

ACKNOWLEDGEMENTS. Research was partially supported by fund of assistance to development of small forms of the enterprises in the scientific and technical sphere (No. 5233GU1/2014 of 24.03.2015)

REFERENCES

1. Adu-Bonsaffoh. Nitric oxide dysregulation in the pathogenesis of preeclampsia among Ghanaian women. / Adu-Bonsaffoh [et al.] Integr Blood Press Control. . – 2015. Vol. 19;8. P. 1-6.
2. Brandão A.H. Prediction of early and late preeclampsia by flow-mediated dilation of the brachial artery / A.H. Brandão [et al.] Radiol Bras. – 2014. – Vol. 47(4). P. 206-9.
3. Fei X. Maternal plasma levels of endothelial dysfunction mediators including AM, CGRP, sICAM-1 and tHcy in pre-eclampsia. / X. Fei [et al.] Adv Clin Exp Med. 2012. Vol. 21(5). P. 573-579.
4. Groesch K.A. Nitric oxide generation affects pro-

and anti-angiogenic growth factor expression in primary human trophoblast. Placenta. / K.A. Groesch [et al.] – 2011. Vol. 32(12). P. 926-931.

5. Wang A. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. / A. Wang [et al.] Physiology (Bethesda). 2014. 24: 147–158.

6. Gureev V.V. Remote Ischemic Preconditioning Correction in Adma-Like Gestosis Model./ V.V. Gureev [et al.] Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2014. №5. Vol. 1095-1098.

7. Korokin M.V. Effect of L-arginine, vitamin B6 and folic acid on parameters of endothelial dysfunction and microcirculation in the placenta in modeling of L-NAME-induced NO deficiency./ M.V. Korokin [et al.] Bulletin of Experimental Biology and Medicine. -2011.- 152(1): 70–72. doi: 10.1007/s10517-011-1456-z.

8. Pokrovsky M.V. Pharmacological correction of ADMA-eNOS-associated target in preeclampsia. / M.V. Pokrovsky[et al.] Obstetrics and Gynecology.2011. 2: 16-20.

9. Pokrovsky M.V. USE OF L-ARGININE IN CORRECTION OF ENDOTELIALNY DYSFUNCTION AT EXPERIMENTAL PREEKLAMPSIYA./ M.V. Pokrovsky [et al.] Experimental and clinical pharmacology. 2012. T. 75. No. 2. P. 14-16.

10. Gureev V. V. CORRECTION ADMA-LIKE GESTOZ IN EXPERIMENT./ V. V. Gureev [et al.] Bridge Ampere-second.Kursk scientific and practical bulletin «Chelovek I Ego Zdorovye». 2012. No. 1. P. 14-19.

11. Pokrovsky M.V. REALITIES AND PROSPECTS OF PHARMACOLOGICAL ORRECTION «ADMA-ENOS» – THE ASSOCIATED WAYS AT PREEKLAMPSIYA/ M.V. Pokrovsky [et al.] Rational pharmacotherapy in cardiology. 2010. T. 6. No. 6. P. 882-887.

12. Gureev V. V. INOS ROLE IN CORRECTION OF ENDOTELIALNY DYSFUNCTION AT ADMA-LIKE GESTOZ SHORT EPISODES OF ISHEMII-REPERFUZII IN EXPERIMENT/ V. V. Gureev [et al.] Basic researches. 2012. No. 8-2. P. 298-301

13. Gureev V.V. Correction of ADMA-like preeclampsia in an experiment using arginase inhibitor L-norvaline and preparations included in the standard treatment regimen./V. V. Gureev [et al.] Kursk scientific-practical herald «Man and his health».2012. № 2. P. 14-20.

UDC 612.084

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-69-74

Martynova O.V.¹
Gureev V.V.²
Pokrovskiy M.V.³
Martynov M.A.⁴
Solgalova A.S.⁵
Antsiferov O.V.⁶

SIMULATION OF TOTAL BRAIN ISCHEMIA IN RATS

- 1) graduate student of the Department of pharmacology of Medical University of NRU BelSU, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: m.olga91@mail.ru
- 2) associate professor of pharmacology, candidate of medical sciences of the Department of pharmacology of Medical University of NRU BelSU, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 3) professor of the Department of pharmacology, doctor of medical sciences, of Medical University of NRU BelSU, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 4) ordinator of department of hospital surgery of the Department of pharmacology of Medical University of NRU BelSU, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 5) graduate student of the Department of pharmacology of Medical University of NRU BelSU, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
- 6) graduate student of the Department of pharmacology of Medical University of NRU BelSU, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

SUMMARY. This paper deals with the study of the dependence of psycho neurological deficit in rats on the severity of brain damage, conducted on the four-vascular models of total cerebral ischemia. The obtained results demonstrate a tendency to deterioration of neuropsychiatric status of the animals with increasing severity of ischemic brain damage that allows suggesting the severity of ischemic brain damage and its correction by the degree of behavioral disorders.

Keywords: total brain ischemia, neurologic deficiency, rats.

Мартынова О.В.¹
Гуреев В.В.²
Покровский М.В.³
Мартынов М.А.⁴
Солгалова А.С.⁵
Анциферов О.В.⁶

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА
У КРЫС**

- 1) аспирант кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия; E-mail: m.olga91@mail.ru
- 2) к.м.н., доцент кафедры фармакологии, Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия
- 3) д.м.н., профессор кафедры фармакологии, Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия
- 4) ординатор кафедры госпитальной хирургии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия
- 5) аспирант кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия
- 6) аспирант кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ», 308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия

Аннотация. Проведено исследование зависимости психоневрологического дефицита у крыс от степени тяжести повреждения головного мозга, на четырехсосудистой модели тотальной ишемии головного мозга. Результаты исследования доказывают тенденцию ухудшения психоневрологического статуса животных при увеличении тяжести ишемического повреждения головного мозга, что позволяет по степени нарушения поведенческих реакций судить о тяжести ишемического поражения головного мозга и его коррекции.

Ключевые слова: тотальная ишемия головного мозга, неврологический дефицит, крысы.

Introduction

The structure of the brain vascular diseases has changed in the last ten years due to the rise of ischemic forms. Total cerebral ischemia by prevalence takes one of the leading positions among cerebrovascular diseases. As a result of this type of ischemia a cognitive impairment occurs that leads to social maladjustment of patients.

Total ischemia is a complete loss of the three functions of the local blood supply such as the delivery of oxygen to the tissue, the delivery of plastic materials, and removal of metabolic products. Total ischemia can be due to either the complete stagnation of or partial reduction in blood flow. In this case, the oxygen-involving processes stop, and the cells suffer a shortage of high-energy phosphates that leads to disruption of ion transport. Energy production decreases, ATP production is no longer sufficient to ensure the energy needs of the neuron, which is followed by the impairment of cellular homeostasis [1, 2].

Natural endogenous mechanisms of cytoprotection in ischemic damage is a series of biological processes, combined in the term «phenomenon of ischemic preconditioning». Ischemic preconditioning is an increase in the tissue resistance to the ischemic and reperfusion injury, which occurs after a short transient ischemic episode [3, 4].

In recent years, during the process of development of new drugs much attention has been paid to biological processes occurring in ischemic preconditioning. On the one hand, there are already drugs that cause activation of the biological processes of ischemic preconditioning, while on the other – their triggers are a series of humoral factors occurring in response to ischemia and, therefore, there is a prospect to develop their pharmacological equivalents [4]. Therefore, searching for drugs to correct ischemic brain damage, which mechanisms of action are based on biological processes occurring in ischemic preconditioning, remains relevant.

Neurological deficit is a consequence of cerebral ischemia. Neurological deficits means changes in the standard neurological status (paresis, plegia, sensitivity disturbance, dizziness, etc.). Increase in neurological symptoms leads to the appearance of specific or dominant syndrome [1].

A series of tests are used to assess the neurological deficit in rats. The most informative are a «Elevated plus maze», «Morris water maze», «Open field», «Swauk-test», a swimming despair test, and the behavioral study on the «Infrared activity monitor». We used in our study the tests such as «Elevated plus maze» and «Infrared activity monitor».

«Elevated plus maze» is a behavioral test for the study of activity, emotional state, and the level of anxiety in laboratory animals.

«Infrared activity monitor» includes a two-dimensional square frame and a system of infrared rays detecting the animal movements. IR Actimeter ensures testing of any motor activity, the number and duration of episodes of hindlimb rising, stereotypical movements, as well as exploratory behavior in a model of «perforated field» under day and night lighting.

Objective of the research: to study the behavioral reactions of rats under simulation of total brain ischemia.

Problem of the research: to choose the appropriate behavioral tests and methods during the evaluation of neurological abnormalities on the model of total cerebral ischemia in rats.

Materials and methods

The experiment was conducted on 40 adult male Wistar rats, weighing 230-250 g. The animals were kept under standard vivarium conditions of NRU «BSU» with free access to food and water. Animal welfare and the experimental set up were in compliance with the requirements of the order No. 1179 MH USSR of 10.11.1983 and No. 267 of the Russian Federation of 19.06.2003, as well as international rules of the «Guide for the Care and USE of Laboratory Animals».

All rats were randomized by the degree of resistance to hypoxia.

Rats were divided into 4 groups (n=10). The first group of animals underwent sham operation. In the second group of rats, we simulated four-vascular total cerebral ischemia for 3 minutes, the third group – for 4 minutes, and the fourth group – 4.5 minutes. We used a modified approach by Mitsuo Yamaguchi et al. [6]. The main advantage of this model – low injury rate. The rats were anesthetized («Zoletil 100» 60 mg/ml, and chloral hydrate 150 mg/ml) and the carotid arteries were isolated. Tracheal tube and thyroid were moved aside to allow access to the spine. Occlusion of the vertebral arteries was performed at the level of C2-C3, and then the adequacy of methodology implementation completeness was assessed [2]. When clamping the two carotid arteries there was a sharp reduction in the EEG amplitude. Clamping time was 3, 4, and 4.5 minutes, after which the clips were removed and reperfusion was observed.

The assessment of neurological status of the animal was carried out in 3 stages: assessment of the dynamics of neurological disorders on a McGrow scale on day 1, 3, 7 and 14 [1, 5]; on the first day –

«Elevated plus maze»; on the second day – «Infrared activity monitor» [3].

At the initial stage of the experiment, all animals underwent behavioral tests «Elevated plus maze» and «Infrared activity monitor».

The assessment of the disease impact on motor and orienting-exploratory activity of animals with the tests «Infrared activity monitor» and «Elevated plus maze» was conducted in relation to the time, and for the first time an assessment of neurological deficits in animals was made.

Infrared activity monitor. A rat was placed in the center of the field of infrared activity monitor with infrared rays for 5 minutes. Further, the tracks (the scheme of movement and activity of the rats) and statistics of animal behavior were obtained.

Elevated plus maze. A rat was placed on the launch site of the maze, and then localized in either

the «dark» or the «light» compartment. The recorded parameters: total time spent in the dark and light compartments of the maze, the number of upright postures, overhangs, defecation, and urination.

Neurological deficit in animals with pathology was determined on a Stroke-index McGraw scale [5] presented in Table 1. The severity of the condition was estimated by the sum of the corresponding points. The number of rats was recorded:

- with mild symptoms (up to 2.5 points on a Stroke-index scale) – sluggishness in movements, limb weakness, unilateral hemiptosis, tremor, circus movements;
- with severe signs of neurological disorders (from 3 to 10 points) – paresis and paralysis of limbs, as well as lateral position.

Table 1

Stroke-index McGraw neurological deficit assessment scale [5]:

Symptoms	Points
Sluggishness	0.5
Tremor	1
Unilateral hemiptosis	1
Bilateral hemiptosis	1.5
Limb weakness	1.5
Unilateral ptosis	1.5
Bilateral ptosis	1.5
Circus movements	2.0
1-4 limb paresis	2-5
1-4 limb paralysis	3-6
Coma	7.0
Death	10.0

Parametric data were processed by methods of variation statistics: variation series were tested for normal distribution; in case of its compliance, the quantitative values were characterized by the arithmetic mean (M) and the arithmetic mean error (m); the statistical significance of the quantitative values was evaluated by the Student's t-test; the statistical significance of differences in nonparametric data was evaluated after their ranking by using Mann-Whitney nonparametric data test. All calculations were performed with the use of MicrosoftExcel 7.0 statistical software package.

Results and discussion

Data received from the sham-operated animals, which have no statistical differences with the intact animals, were taken for control (Figure 1, Table 2).

The 3-minute cerebral ischemia in rats was followed by minimum neurological symptoms observed, which have no statistical differences with the sham operated group ($p > 0.05$). On day 3, 7 and 14 there were no neurological symptoms observed (Table 2).

Table 2

The severity dynamics of neurological impairments in the studied groups (by average score in each group)

Period	Groups				
	intact	sham-operated	3-minute brain ischemia	4-minute brain ischemia	4.5-minute brain ischemia
day 1	0	0	0.15	1.85*	6.05*
day 3	0	0	0	1*	8.4*
day 7	0	0	0	1*	10*
day 14	0	0	0	0	10*

Note: * when ($p < 0.05$) in relation to sham-operated animals.

Table 3

Evaluation of the behavioral activity of animals in the experiment

Criteria	Groups				
	intact	sham-operated	3-minute brain ischemia	4-minute brain ischemia	4.5-minute brain ischemia
Total activity	10067 ±51	849±50	619±40	505±34	304±24
Stereotyped movements	79.40±5.88	60.40±2.74	40.10±2.37	29.0±2.05	21.40±1.33
Maximum speed	25.50±2.03	24.68±2.10	24.59±1.47	23.88±1.98	18.43±1.39
Overall distance	1728±81	1257±51	952±66	818±44	432±38
Upright postures	10.50±0.86	10.10±0.80	6.70±0.54	4.30±0.42	0±0.68
Hangings	4.80±0.66	4.40±0.70	3.30±0.36	1.60±0.26	0

Note: * when ($p < 0.05$) in relation to sham-operated animals.

Neurological deficit in rats with 4-minute ischemic period had more severe symptoms as compared to animals with 3-minute ischemic episode ($p < 0.05$): 20% of the rats had paralysis of the left hind limb and the right eye hemiptosis. The total percentage of rats with hemiptosis is 30%. There was also sluggishness in movements, limb weakness, and tremor, which disappeared by the 3rd day after pathology simulation. On day 3, 7 and 14 both the paralysis of the left hind limb and the right eye hemiptosis remain.

On the first day of assessment, the most pronounced neurologic deficit was observed in rats with ischemic episodes lasting 4.5 minutes. It had more severe symptoms ($p < 0.05$) such as tremor, circus movement, paralysis of limbs, hemiptosis, some animals had ptosis of both eyes, and coma. On day 3, fatal cases were observed in 60% of rats. On day 7, the mortality was 100%, which is characterized as a very severe neurological deficit.

Under simulation of three-minute cerebral ischemia, the behavioral disorders are manifested themselves in the reduced number of upright postures, defecation, and urination. There is a tendency to the reduced number of hangings in the elevated plus maze test ($p < 0.05$) (Table 3). The

motor activity of animals with four-minute cerebral ischemia was even lower ($p < 0.05$). The investigation of animals with 4.5-minute ischemia is impossible due to coma. During the assessment of locomotor activity of the animals by the Infrared activity meter test we found that the activity of sham-operated rats decreases as compared to intact animals, but not significantly ($p > 0.05$).

With the increase in time of cerebral ischemia in the experiment, the rat's activity decreases: there is a decrease in the total activity, number of stereotyped movements, maximum speed, and total distance. The rest period increases along with the time of cerebral ischemia ($p < 0.05$).

Thus, the experiments clearly demonstrate a tendency to deterioration of neuropsychiatric status of the animals with increasing severity of ischemic brain damage, that allows suggesting the severity of ischemic brain damage and its correction by the degree of behavioral disorders. Therefore, the impairment of psychoneurological status may serve as a criterion in the selection of the severity of ischemic damage in the experiment.

Note: the group of authors would like to thank the Department of Internal and Personnel Policy for

the financial support of the research under the agreement No. 36-GVN of November 25, 2014.

References:

1. Gannushkina I.V. Cerebral blood flow in different types of circulatory brain hypoxia // Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences. 2000. No. 9. Pp. 22-27.

2. Miasishcheva O.V., Pokrovskii M.V., Gureev V.V., Antsiferov O.V., Martynov M.A. The experimental model of ischemic brain damage // Scientific papers of Belgorod State University. Medicine. Pharmacy. 2012. No. 11 (182) Edition 26/1. Pp. 123-127.

3. Shmonin A.A., Panov I.Iu., Simanenkova A.V., Prosvirina M.S., Chekanov S.S., Melnikova E.V., Vlasov T.D. Endogenous neuroprotection in brain ischemia: erythropoietin, pre- and postconditioning // Annals of Clinical and Experimental Neurology. 2010. No. 3 (Vol. 4). Pp. 29-35.

4. Galagudza M.M., Blokhin I.O., Shmonin A.A., Mischenko K.A. Reduction of myocardial ischemia-reperfusion injury with pre- and postconditioning: molecular mechanisms and therapeutic targets// CardiovascHematolDisord Drug Targets. 2008. №8(1). P.47-65.

5. McGraw C.P., Pashayan A.G., Wendel O.T. Cerebral infarction in the Mongolian gerbil exacerbated by phenoxybenzamine treatment// Stroke. 1976; 7(5): 485- 488.

6. Mitsuo Y., Calvert J.W., Kusaka G., Zhang J. H. One-Stage Anterior Approach for Four-Vessel Occlusion in Rat // Stroke. 2005. № 36. P. 2212 2214.

УДК: 615.03

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-74-78

Шабельникова А.С.

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ
НИКОРАНДИЛОМ КАК ВОЗМОЖНОСТЬ ПОВЫШЕНИЯ
УСТОЙЧИВОСТИ ТКАНЕЙ СЕТЧАТКИ К ИШЕМИИ В
ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

ассистент кафедры фармакологии НИУ «БелГУ»,
308015, Белгород, ул. Победы, 85, Россия; E-mail: shabelnikova@bsu.edu.ru

Аннотация. У лабораторных крыс формировали ишемическое повреждение путем оказания механического давления (110 мм.рт.ст.) на переднюю камеру глаза в течение 30 минут. В эксперименте было выявлено, что никорандил (0,6 мг/кг) предотвращает развитие дегенеративных изменений слоев сетчатки, вызванных ишемическим повреждением. Выраженность протективного эффекта никорандила на сетчатку крыс оценивали через 72 часа реперфузии после моделирования патологии. Обнаруженный нами протективный эффект никорандила при развитии ишемии подтвержден методами лазерной доплеровской флоуметрии и гистоморфометрии. Выявление и применение фармакологических средств, обладающих эффектом preconditioning, может явиться новым подходом в коррекции и профилактике ишемии сетчатки, являющейся ведущим звеном в патогенезе ряда зрительных патологий. Возможность фармакологического preconditioning никорандилом ишемических повреждений сетчатки имеет важное значение для разработки антиишемических средств для лечения и профилактики глазных патологий ишемического генеза.

Ключевые слова: ишемия-реперфузия сетчатки; фармакологическое preconditioning; никорандил; АТФ-зависимые калиевые каналы.

Shabelnikova A.S.

**PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING WITH NICORANDIL
AS A POSSIBILITY OF INCREASING THE STABILITY OF TISSUES
OF THE RETINA TO ISCHEMIA IN AN EXPERIMENT**

Assistant Lecturer. Department of Pharmacology Belgorod State National Research University
85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: shabelnikova@bsu.edu.ru

ABSTRACT. In laboratory rats, we formed an ischemic damage by providing mechanical pressure (110 mm Hg) to the anterior chamber for 30 minutes. The experiment has revealed the fact that nicorandil (0.6 mg/kg) prevents the development of degenerative changes in the retinal layers induced by ischemic injury. The severity of the protective effect of nicorandil on the retina of the rats was assessed after 72 hours of reperfusion after modeling the pathology. We have found a protective effect of nicorandil with the development of ischemia, which was confirmed by the laser Doppler flowmetry and histomorphometry. The identification and application of pharmacological agents with the effect of preconditioning may be a novel approach in the correction and prevention of ischemia of the retina which is the leading element in the pathogenesis of a number of eye pathologies. The possibility of pharmacological preconditioning with nicorandil of ischemic damage to the retina is essential for the development of anti-ischemic agents for the treatment and prevention of ophthalmic pathologies of an ischemic genesis.

Keywords: ischemia-reperfusion of the retina; pharmacological preconditioning; nicorandil; ATP-sensitive potassium channels.

Введение. В настоящее время в мировой практике для лечения ишемических и реперфузионных повреждений сетчатки, включая

диабетические и гипертонические ретинопатии, применяют сосудорасширяющие препараты, фибринолитики, антикоагулянты,

ангиопротекторы, биогенные стимуляторы, витамины, иммуномодуляторы, антиоксиданты и другие лекарственные средства [4].

Лечение вышперечисленными препаратами не всегда бывает достаточно успешным, что говорит о необходимости расширения арсенала лекарственных средств для лечения глазных болезней, связанных с ишемическими состояниями [6, 7, 8].

В связи с этим, профилактика и коррекция ишемических заболеваний сетчатки является актуальной проблемой современной офтальмологии и фармакологии, которую можно решить с помощью фармакологического preconditionирования [3].

Preconditionирование может рассматриваться как универсальный инструмент предупреждения ишемического повреждения тканей, что подтверждается многочисленными мировыми исследованиями. Суммированы доказательства того, что открытие митохондриальных K⁺АТФ каналов действует как ведущий механизм в феномене preconditionирования [2].

Фармакологическое preconditionирование никорандилом доказано на сердце [5], мочевом пузыре [10], печени [9], кожном лоскуте [1] и других органах.

Учитывая данные литературы и экспериментальных исследований по фармакологическому preconditionированию, можно предположить, что введение никорандила лабораторным крысам будет оказывать протективный эффект на сетчатке при ишемическом повреждении.

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния дистантного ишемического preconditionирования (ДИП) и фармакологического preconditionирования никорандилом на уровень микроциркуляции и гистоморфометрические изменения в сетчатке при моделировании ишемии-реперфузии глаза.

Материалы и методы. Опыты проведены на 70 беспородных обополюх крысах массой 225-275 г. Моделирование ишемии-реперфузии сетчатки глаза проводили под наркозом (хлоралгидрат, 300 мг/кг массы тела животного, внутривентриально) путем оказания механического давления (110 мм.рт.ст.) на переднюю камеру глаза в течение 30 минут. Подтверждением формирования ишемии служило отсутствие глазного кровотока.

Для изучения протективных свойств ДИП, фармакологического preconditionирования никорандилом выполнено 7 серий эксперимента:

- I (n=10) – группа интактных животных;
- II (n=10) – с ишемией-реперфузией сетчатки (контроль);
- III (n=10) – с коррекцией патологии ДИП;
- IV (n=10) – с коррекцией никорандилом;
- V (n=10) – контроль + глибенкламид (блокатор АТФ-зависимых калиевых каналов);
- VI (n=10) – ДИП + глибенкламид;
- VII (n=10) – никорандил + глибенкламид;

ДИП проводили 10-минутным пережатием бедренной артерии путем наложения жгута на проксимальную треть бедра за 40 мин до моделирования ишемии сетчатки, после чего следовал 30-минутный эпизод реперфузии.

Для изучения preconditionирующего эффекта никорандила в дозе 0,6 мг/кг использовали таблетки «Коронель» (ПИК-ФАРМА), содержащие 10 мг никорандила, которые измельчали в ступке, растворяли в крахмальном киселе и вводили животным через зонд внутривентриально за 30 мин до моделирования ишемии.

Глибенкламид («Манинил» (Берлин-Хеми АГ) вводили в дозе 5 мг/кг однократно за 60 мин до моделирования ишемии.

О выраженности протективного эффекта судили по изменению уровня микроциркуляции и гистоморфометрическим изменениям в сетчатке крыс через 72 часа реперфузии. Для этого под наркозом (хлоралгидрат, 300 мг/кг массы тела животного, внутривентриально) животное фиксировали. Измерение уровня микроциркуляции в сетчатке крыс осуществляли с помощью лазер-доплер флоуметра Biopac-systems MP-150 и датчика TSD-144 иглообразного типа (США). Для этого под наркозом животное фиксировали и производили регистрацию уровня микроциркуляции в сетчатке в 10 точках по окружности склеры с шагом 1 мм. Запись кривой уровня микроциркуляции проводили в течение 20 секунд в каждой точке. Из полученных десяти значений выводили среднее, которое вносили в протокол и принимали за уровень микроциркуляции в сетчатке у данного животного. Из 10 полученных значений выводили среднее, которое принимали за уровень микроциркуляции в сетчатке в данной группе животных.

Затем глазное яблоко подлежало энуклеации. Для гистологических исследований глаза с непосредственно прилегающими тканями

фиксируют в 10% растворе формалина. После фиксации материал полностью заливали в стандартном режиме в парафин. Кусочки ориентировали в блоках таким образом, чтобы при изготовлении срезов получить препараты в меридианном направлении строго через середину глазного яблока. Срезы для стандартного гистологического исследования окрашивали гематоксилином и эозином. Описательное исследование гистологических препаратов выполняли под микроскопом Axio Scope A1 (Carl Zeiss Microimaging GmbH, Германия). Для морфометрии слоев сетчатки использовали программу ImageJ 1.47.

Достоверность изменений абсолютных параметров определяли разностным методом вариационной статистики с нахождением средних значений сдвигов, средней арифметической и вероятности возможной ошибки (p) по таблицам Стьюдента. Различия оценивали как достоверные при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

Гемодинамические нарушения в системе ретинального кровотока через 72 ч реперфузии после моделирования патологии приводили к

морфологическим изменениям в сетчатке, характерным для ишемии, что подтверждает адекватность выбранной модели патологии.

Уровень микроциркуляции в сетчатке интактных крыс составлял $743,9 \pm 5,0$ перфузионных единиц (п.е.), в группе контроля данный показатель снижался в 2 раза и составил $353,3 \pm 11,7$ п.е. ($p < 0,001$), что свидетельствует о формировании повреждения сетчатки через 72 ч реперфузии (таблица 1). На фоне коррекции патологии ДИП уровень микроциркуляции после 72 ч реперфузии достоверно возрастает до $638,5 \pm 15,8$ п.е. ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. При коррекции патологии сетчатки никорандилом уровень микроциркуляции в группе возрастает до $705,2 \pm 15,5$ п.е., что достоверно отличается от значений в группе контроля ($p < 0,001$) и стремится к значению в группе интактных животных. Введение глибенкламида в группах с коррекцией ишемических повреждений предотвращало увеличение уровня микроциркуляции, что подтверждает ключевую роль K^+ -АТФазных каналов в формировании прекодиционирования.

Изменение уровня микроциркуляции в сетчатке через 72 часа реперфузии (M±m; n=10)

Таблица 1

The change in the level of microcirculation in the retina after 72 hours of reperfusion (M±m; n=10)

Table 1

№ п.п.	Экспериментальные группы	Уровень микроциркуляции, п.е.
1.	Интактные	$743,9 \pm 5,0^y$
2.	Ишемия сетчатки	$353,3 \pm 11,7^*$
3.	Ишемия сетчатки + дистантное ишемическое прекодиционирование	$638,5 \pm 15,8^{*y}$
4.	Ишемия сетчатки + никорандил, 0,6 мг/кг	$705,2 \pm 15,5^y$
5.	Ишемия сетчатки + глибенкламид, 5 мг/кг	$359,4 \pm 10,3^*$
6.	Ишемия сетчатки + дистантное ишемическое прекодиционирование + глибенкламид, 5 мг/кг	$361,5 \pm 14,3^*$
7.	Ишемия сетчатки + никорандил, 0,6 мг/кг + глибенкламид, 5 мг/кг	$365,5 \pm 11,3^*$

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; y – $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля

Результаты морфологического исследования сетчатки подтвердили формирование ишемии через 72 ч реперфузии в группе контроля, что также подтверждает адекватность выбранной модели патологии, протективные свойства ДИП и фармакологического прекодиционирования никорандилом в дозе 0,6 мг/кг при коррекции ишемии-реперфузии сетчатки после 72 ч реперфузии, что выражалось в меньшем

повреждении клеток слоев сетчатки и сохранении минимальных структурных изменений. Морфометрическим исследованиям подлежали внутренний ядерный слой, включающий биполярные, мюллеровские, горизонтальные, амакриновые клетки, и слой фоторецепторов (рис. 1).

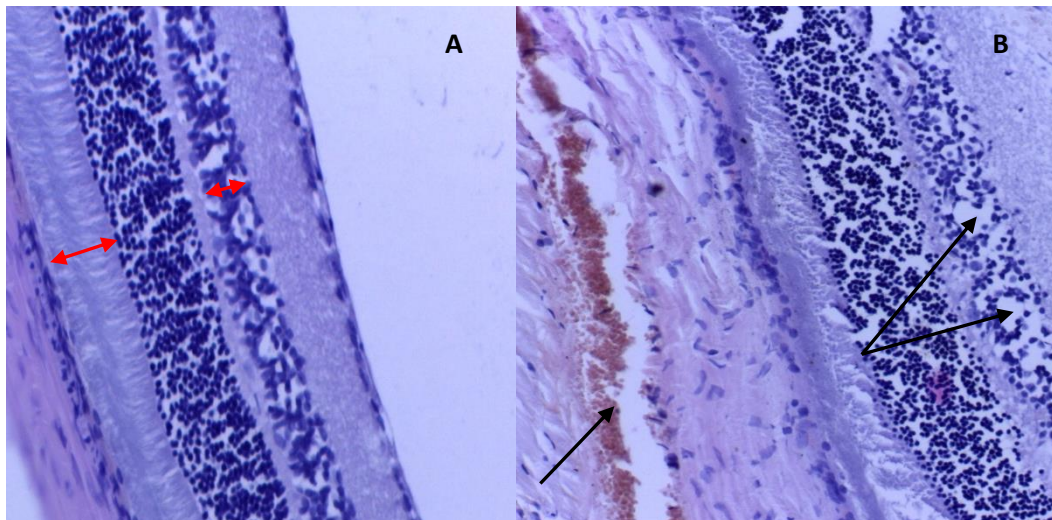


Рис. 1. Микрофотографии слоев сетчатки крыс: А – гистологическая картина сетчатки интактных крыс. В – выраженные дегенеративные изменения по сравнению с сетчаткой интактных животных через 72 часа после ишемии-реперфузии. Дилатация и неравномерное кровенаполнение венозных сосудов на уровне хориоидеи (стрелка) в группе контрольных животных. Структурные изменения сетчатки в виде отечных изменений и разрыхления внутреннего ядерного слоя (двойная стрелка). Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото х400.
Fig. 1. Microphotographs of the layers of the retina of rats: A – a histological picture of the retina of intact rats. B – marked degenerative changes compared to the intact retina of animals 72 hours after ischemia-reperfusion. The dilatation and uneven blood filling of the veins at the level of the choroid (arrow) in the control group of animals. The structural changes of the retina in the form of edematous changes and maceration of the inner nuclear layer (double arrow). OCD. with hematoxylin and eosin. Microphoto X400.

Результаты морфометрии представлены в таблице 2. Толщина внутреннего ядерного слоя сетчатки интактных крыс составила $23,8 \pm 1,0$ мкм. Данный показатель после моделирования ишемии-реперфузии в группе контроля составил после 72 ч. реперфузии $20,3 \pm 0,8$ мкм, что достоверно отличается от значений в группе интактных животных ($p < 0,05$) и свидетельствует о развитии дегенеративных изменений на данном сроке. На фоне коррекции патологии ДИП толщина внутреннего ядерного слоя увеличивается до $21,7 \pm 0,4$ мкм ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. При коррекции никорандилом данный показатель возрастает до $22,9 \pm 0,5$ мкм ($p < 0,05$) по сравнению с группой

контроля и соотносим со значениями в группе интактных крыс. Введение глибенкламида в группах с коррекцией предотвращало увеличение толщины внутреннего ядерного слоя за счет устранения эффекта прекодиционирования. Результаты морфометрии слоя фоторецепторов во всех экспериментальных группах не выявили статистически значимых отличий, что подтверждает сохранение функциональной активности фоторецепторов в отличие от выраженной дисфункции клеток внутреннего ядерного слоя сетчатки из-за ухудшения трофики нейронов при нарушениях ретинальной циркуляции в результате формирования ишемии (табл. 2).

Таблица 2

Морфометрические изменения в сетчатке через 72 часа реперфузии ($M \pm m$; $n=10$)

Table 2

Morphometric changes in the retina after 72 hours of reperfusion ($M \pm m$; $n=10$)

№ п.п.	Экспериментальные группы	Толщина внутреннего ядерного слоя, мкм	Толщина слоя фоторецепторов, мкм
1.	Интактные	$23,8 \pm 1,0^y$	$38,1 \pm 1,2$
2.	Ишемия сетчатки	$20,3 \pm 0,8^*$	$36,9 \pm 0,9$
3.	Ишемия сетчатки + дистантное ишемическое прекодиционирование	$21,7 \pm 0,4^{*y}$	$37,8 \pm 0,8$
4.	Ишемия сетчатки + никорандил, 0,6 мг/кг	$22,9 \pm 0,5^y$	$37,8 \pm 0,9$
5.	Ишемия сетчатки + глибенкламид, 5 мг/кг	$20,5 \pm 0,4^*$	$37,1 \pm 0,8$
6.	Ишемия сетчатки + дистантное ишемическое прекодиционирование + глибенкламид, 5 мг/кг	$20,6 \pm 0,6^*$	$36,9 \pm 0,8$
7.	Ишемия сетчатки + никорандил, 0,6 мг/кг + глибенкламид, 5 мг/кг	$20,5 \pm 0,4^*$	$37,2 \pm 0,7$

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; y – $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля

Заключение:

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии антиишемических свойств ДИП, фармакологического preconditionирования никорандилом в дозе 0,6 мг/кг массы тела животного в условиях модели ишемии-реперфузии сетчатки крыс, заключающихся в достоверном увеличении уровня микроциркуляции опытных животных по сравнению с группой контроля, улучшении гистологической картины слоев сетчатки, а также в сохранении морфометрических показателей, достоверно не отличающихся от значений в группе интактных животных после 72 ч. реперфузии. Введение глибенкламида предотвращало коррекцию ишемических повреждений сетчатки за счет блокады АТФ-зависимых калиевых каналов, что говорит о preconditionирующем действии никорандила в дозе 0,6 мг/кг на модели ишемии-реперфузии сетчатки.

Литература

1. Колесник, И.М., Ефременкова Д.А., Покровский М.В. /Фармакологическое preconditionирование никорандилом и миноксидилом – возможность применения в хирургии // Вестник ВолГМУ: приложение (Материалы IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием «Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств»). 2012. С.148.
2. Пересыпкина А. А., Покровский М. В., Шабельникова А. С., Кашуба А. С., Должиков А. А., Пирогов А. В. Электрофизиологические и гистоморфометрические изменения в сетчатке крыс при фармакологическом preconditionировании эритропозитином, никорандилом на модели ишемии-реперфузии глаза // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 11, 182 (2014): С. 113-117.
3. Шабельникова А. С., Кашуба А. С., Пересыпкина А. А., Покровский М. В., Должиков А. А., Бусловская Л. К. Протективное действие эритропозитина при моделировании ишемии-реперфузии сетчатки // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 11, 182 (2014): С. 109-112.
4. Adnan I. Qureshi. *Textbook of Interventional Neurology*. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. P.506.
5. Cardioprotective effects of sarcolemmal and mitochondrial K-ATP channel openers in an experimental model of autoimmune myocarditis. Role of the reduction in calcium overload during acute heart failure / Niwano S, Hirasawa S, Niwano H, Sasaki S, Masuda R, Sato K, Masuda T, Izumi T // *Int Heart J*. 53, 2 (2012): 139-145.
6. Cervia D, Casini G. The Neuropeptide Systems and their Potential Role in the Treatment of Mammalian Retinal Ischemia: A Developing Story//*Curr Neuropharmacol*. 11, 1 (2013): 95–101.
7. Gillispie Minhas, Akshay Anand. *Animal Models of Retinal Ischemia*. Rijeka: InTech, 2011. P. 522.
8. Massive subretinal bleed in a patient with background diabetic retinopathy and on treatment with

warfarin / Raj A, Sekhri R, A Salam and P Priya // *Eye*. 17, (2003): 649–652.

9. Mitochondrial K(ATP) channel opener prevents ischemia-reperfusion injury in rat liver / Hai S, Takemura S, Minamiyama Y, Yamasaki K, Yamamoto S, Kodai S, Tanaka S, Hirohashi K, Suehiro S // *Transplant Proc*. 37, 1 (2005): 428-31.

10. Pharmacological preconditioning of ATP-sensitive potassium channel openers on acute urinary retention-induced bladder dysfunction in the rat / Ohmasa F, Saito M, Oiwa H, Tsounapi P, Shomori K, Kitatani K, Dimitriadis F, Kinoshita Y, Satoh K. // *BJU Int*. 110, 6 Pt B (2012):E245-52.

References

1. Kolesnik I.M., Efremenkova D.A., Pokrovsky M.V. / Pharmacological Preconditioning with Nicorandil and Minoxidil – the Possibility of Use in Surgery // Herald of VolGМУ: Annex (Proceedings of the IV All-Russian scientific-practical seminar of young scientists with international participation «Modern Problems of Medical Chemistry. Directed Search for New Medicines»). 2012. P.148.
2. Peresyphkina, A.A., Pokrovskiy M.V., Shabelnikova A.S., Kaszuba A.S., Dolzhikov A.A. and Pirogov A.V.. Electrophysiological and Histomorphometric Changes in the Rat Retina in Pharmacological Preconditioning with Erythropoietin Nicorandil on the model of ischemia-reperfusion of the eye. The Scientific Journal of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy, 11 (182): 113-117.
3. Shabelnikova A.S., Kashuba A.S., Peresyphkina A.A., Pokrovskiy M.V., Dolzhikov A.A., Buslovskaya L.K. Protective Effect of Erythropoietin in the Simulation of Retinal Ischemia-reperfusion. The Scientific Journal Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy, 2014. 11 (182): 109-112.
4. Adnan I. Qureshi. *Textbook of Interventional Neurology*. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. P.506.
5. Cardioprotective effects of sarcolemmal and mitochondrial K-ATP channel openers in an experimental model of autoimmune myocarditis. Role of the reduction in calcium overload during acute heart failure / Niwano S, Hirasawa S, Niwano H, Sasaki S, Masuda R, Sato K, Masuda T, Izumi T // *Int Heart J*. 53, 2 (2012): 139-145.
6. Cervia D, Casini G. The Neuropeptide Systems and their Potential Role in the Treatment of Mammalian Retinal Ischemia: A Developing Story//*Curr Neuropharmacol*. 11, 1 (2013): 95–101.
7. Gillispie Minhas, Akshay Anand. *Animal Models of Retinal Ischemia*. Rijeka: InTech, 2011. P. 522.
8. Massive subretinal bleed in a patient with background diabetic retinopathy and on treatment with warfarin / Raj A, Sekhri R, A Salam and P Priya // *Eye*. 17, (2003): 649–652.
9. Mitochondrial K(ATP) channel opener prevents ischemia-reperfusion injury in rat liver / Hai S, Takemura S, Minamiyama Y, Yamasaki K, Yamamoto S, Kodai S, Tanaka S, Hirohashi K, Suehiro S // *Transplant Proc*. 37, 1 (2005): 428-31.
10. Pharmacological preconditioning of ATP-sensitive potassium channel openers on acute urinary retention-induced bladder dysfunction in the rat / Ohmasa F, Saito M, Oiwa H, Tsounapi P, Shomori K, Kitatani K, Dimitriadis F, Kinoshita Y, Satoh K. // *BJU Int*. 110, 6 Pt B (2012):E245-52.

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Preventive medicine

УДК 616-006+616-036.8+616.01/099

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-79-86

Голивец Т.П.¹
Коваленко Б.С.²

АНАЛИЗ МИРОВЫХ И РОССИЙСКИХ ТЕНДЕНЦИЙ
ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ В XXI ВЕКЕ

- 1) д.м.н., зав. кафедрой госпитальной терапии, доцент. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ БелГУ»), ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия;
E-mail: golivets@yandex.ru
- 2) к.м.н., зав. кафедрой факультетской хирургии, доцент.
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ БелГУ»), ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия;

Аннотация

В обзоре проанализированы и сопоставлены основные материалы Международного агентства по изучению рака (рак на 5 континентах) и статистические показатели, характеризующие состояние онкологической заболеваемости в Российской Федерации, которые свидетельствуют о неуклонном росте заболеваемости злокачественными новообразованиями (ЗНО) как мужского, так и женского населения России. Выявлены изменения тенденций заболеваемости ЗНО по отдельным локализациям, наблюдаемые на протяжении последних десятилетий как в России, так и практически во всех странах мира. Определены наиболее важные и перспективные направления развития онкологической науки и практического здравоохранения по снижению смертности населения России от злокачественных новообразований и повышению качества жизни онкологических больных.

Ключевые слова: злокачественные новообразования, онкологическая заболеваемость, Российская Федерация, скрининг.

Golivets T.P.¹
Kovalenko B.S.²

ANALYSIS OF WORLD AND RUSSIAN TRENDS IN CANCER INCIDENCE
IN THE TWENTY-FIRST CENTURY

- 1) MD, Associate Professor, Head of the Department of Hospital Therapy. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: golivets@yandex.ru
- 2) MD, Associate Professor. Head of the Department of Surgery. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

ABSTRACT

The review analyses and compares the main materials of the International Agency for Research on Cancer (cancer on 5 continents) and statistic indicators characterizing the state of cancer incidence in the Russian Federation, that showed a steady increase of the incidence of malignant neoplasms (MN) both in male and female population of Russia.

The authors have identified some changing trends in the incidence of MN of individual locations observed over the last decades both in Russia and almost in all countries of the world.

The study reveals the most important and perspective directions of development of oncological science and practice to reduce the Russia's population mortality from malignant neoplasms and improve the quality of life of cancer patients.

Key words: malignant neoplasms; cancer incidence; the Russian Federation; screening

Злокачественные новообразования (ЗНО) являются глобальной проблемой современности не только в медицине и биологии, но и в

социальной жизни общества. Эта проблема затрагивает интересы всего человечества, проживающего на Земном шаре. По данным

Международного агентства по изучению рака (МАИР), ежегодно в мире регистрируется более 12 млн. новых случаев рака и около 6,2 млн смертей от него. Ежегодный темп прироста ЗНО составляет примерно 2%, что превышает на 0,3-0,5% рост численности населения мира [18].

Неутешителен прогноз экспертов ВОЗ: онкологическая заболеваемость во всем мире возрастет к 2050 г. до 24 млн случаев, а смертность до 16 млн. ежегодно регистрируемых случаев [23]. Согласно расчетам МАИР (2005 г.), в Европе ежегодно следует ожидать 2,9 млн новых случаев заболевания раком (54% – среди мужчин, 46% – среди женщин) и 1,7 млн смертельных случаев от рака (56% и 44%, соответственно) [16]. При этом следует заметить, что по данным Информационного бюллетеня ВОЗ № 297 (февраль 2015 г.) в 2012 г. наблюдалось 8,2 млн. случаев смерти от рака [10].

По сообщениям российских экспертов, с начала 90-х годов прошлого столетия в России ежегодно регистрируют более 450 тыс. новых случаев ЗНО различных локализаций и более 80 тыс. людей ежегодно умирает от этих заболеваний [14]. Причем замечено, что такой постоянный рост абсолютного числа заболевших ЗНО людей наблюдается на фоне снижения в последние годы общей численности населения [13].

Так, по данным официальной российской статистики, за период с 1981 по 2005 гг. заболеваемость ЗНО мужчин выросла с 237,5 до 334,5, а женщин – с 230,6 до 325,2 случаев, на 100 тыс. населения соответствующего пола, а ежегодный темп прироста онкологических заболеваний приблизился к мировым показателям и составил 1,5-1,6% [3, 5, 9]. К 2014 г. «грубый» показатель заболеваемости злокачественными новообразованиями на 100 тыс. населения России составил 388,9, что на 4,1% выше уровня 2013 г. и на 18,6% выше уровня 2004 г. [10].

Как свидетельствуют данные мировой литературы, на всех континентах планеты заболеваемость ЗНО, как правило, у мужчин выше, чем у женщин. Расчетные для человеческой популяции данные о пожизненном числе заболеваний по лидирующим 13 локализациям ЗНО, взятые из 20 европейских регистров, свидетельствуют, что для изученных европейских регистров пожизненное (возраст жизни когорты 0-85 лет) число заболеваний составляет около 55% для мужчин и 45% для женщин [18].

Следует заметить, что в России, так же как и в других странах мира, показатели заболеваемости и ежегодного прироста ЗНО у

мужчин на протяжении многих лет были выше, чем у женщин. Однако, уже в 2000 г. несмотря, что «грубый» показатель заболеваемости мужского населения России составлял 317,5, а женского 301,4 случаев на 100 тыс. соответствующего пола [4], показатели прироста заболеваемости ЗНО к предыдущему 1999 г. составили: 1,7% в мужской когорте, а в женской – 2,6% (по стандартизованному показателю заболеваемости, соответственно, 0,4% и 1,4%).

К 2005 г. онкологическая заболеваемость мужского населения России по-прежнему оставалась выше, чем у женщин (по стандартизованному показателю 265,6 и 192,7 случая на 100 тыс. соответственно), однако прирост заболеваемости ЗНО в когорте женщин по сравнению с 2000 г. оказался почти в 2 раза выше, чем у мужчин [5, 12]. Таким образом, в 2014 г. среди пациентов с впервые выявленными случаями ЗНО, 45,8% составили мужчины и 54,2% женщины [10].

В целом, приведенные в официальных источниках данные российской онкологической статистики, сформированные на материалах ежегодной медицинской отчетности, на протяжении длительного периода наблюдения (1981-2014 гг.) свидетельствуют о неуклонном росте заболеваемости ЗНО как мужского, так и женского населения России [3-7, 10].

Известно, что распространенность ЗНО среди взрослого населения напрямую связана с возрастом. В материалах российской статистики показано, что наибольшее число ЗНО (63,4% случаев в мужской популяции и 59,7% – в женской) диагностируются в возрастных группах 60 лет и старше (В.И. Чиссов, 2010) [6, 7]. Данные зарубежной статистики также свидетельствуют, что распространенность всех новообразований в этом возрасте превышает соответствующий показатель у людей моложе 40 лет: причем, в 16,5 раза у мужчин и в 6,7 раза у женщин [20, 23].

Нельзя не заметить, что различия в возрастной структуре заболеваемости мужского и женского населения отчетливо проявляются только после 30 лет. Например, в России (В.И. Чиссов, 2010 г.), удельный вес женщин, больных ЗНО, в возрасте 30-49 лет значительно выше (15,2%), чем заболевших мужчин этого возраста (9,9%). В то время как доля детей (0-14 лет) среди заболевших пациентов мужского и женского пола распределяется почти поровну и составляет 0,6% и 0,4% соответственно [6].

Нужно также отметить, что динамика роста онкологической заболеваемости в различных

возрастных группах населения России также весьма неоднородна. Так, за десятилетний период (1998-2008 гг.), «грубый» показатель заболеваемости мужского населения в возрасте 0-29 лет вырос на 7,0%, женского – на 16,1%, а в возрастной группе 30-59 лет – на 16,7% и 24,6% соответственно. В старшей возрастной группе (свыше 60 лет) прирост «грубого» показателя за этот период у мужчин составил 15,2%, у женщин – 19,3%. Абсолютное число мужчин, больных ЗНО, за указанный период увеличилось на 3,1%, а женщин – на 9,6% [6].

Совершенно очевидно, что практически во всех изученных популяциях [6, 7, 20, 23] среди лиц старше 60 лет чаще болеют мужчины. Однако прирост заболеваемости ЗНО, практически во всех возрастных группах, в последние годы преобладает в женской популяции. Такая тенденция отчасти может быть объяснима одновременно наблюдаемой аномально высокой смертностью мужчин трудоспособного возраста от неонкологических заболеваний [2].

По опубликованным материалам мировой статистики уже к концу прошлого века в большинстве развитых стран отмечается рост онкологической заболеваемости детей в возрасте 0-14 лет. Так, по данным Американского онкологического общества, ежегодный прирост онкологической заболеваемости среди детей в США за период 1975-2002 гг. составлял в среднем 0,6% [22].

В свою очередь, по данным европейской Информационной системы злокачественных новообразований (ACCIS), приблизительно в это же время (1970-1999 гг.) рост общей заболеваемости детей в Европе составлял в среднем 1% в год. Однако между 80-ми и 90-ми годами прошлого столетия в Европе был отмечен более высокий прирост детской заболеваемости, составивший 1,3% [19].

В России в 1990-2005 гг. было зарегистрировано 45387 случаев злокачественных опухолей среди детей моложе 15 лет. За этот период «грубый» показатель заболеваемости детей ЗНО значительно возрос: с 96 случаев на 1 млн детского населения в 1990-1995 гг. до 113 в 2000-2005 гг., со среднегодовым темпом прироста 1,6% [5, 8].

Наиболее значительные изменения заболеваемости произошли в возрастной группе 0-4 года: общая заболеваемость в этом возрасте увеличивалась ежегодно в среднем на 2,8%. При этом, ежегодный прирост заболеваемости острым лейкозом в этой возрастной группе составил в

среднем 4,9%, опухолями ЦНС – 4,3%, опухолями печени – 6,3% [15].

По данным МНИОИ (2010 г.), суммарный прирост онкологической заболеваемости детей за 1998-2008 гг. по «грубому» показателю составил 17,0%. Максимальные значения «грубого» показателя зафиксированы в возрасте 0-4 года: у мальчиков – 16,5, у девочек – 13,9 (в 1998 г. – 14,1 и 12,5 соответственно). Таким образом, риск заболеть злокачественными новообразованиями среди детского населения увеличился за период 1998-2008 гг. с 0,16 до 0,18% [6].

Характерно, что, несмотря на временные различия в динамике роста ЗНО, соотношение числа впервые выявленных случаев у мужчин и женщин как на пяти континентах, так и в России на протяжении длительного периода времени остается в пределах 1:1, 1,1:1 [18].

Однако, как уже упоминалось, в разных возрастных группах соотношения показателей заболеваемости мужского и женского населения существенно различаются: мальчики (0-14 лет), как правило, в 1,2 раза болеют чаще девочек. В следующих возрастных группах соотношение заболеваемости по полу (м : ж) распределяется следующим образом: в 15-29 лет – 0,7; 30-39 лет – 0,5; 40-49 лет – 0,7; 50-59 лет – 1,2; 60-69 лет – 1,7; 70-79 лет – 1,9; 80 лет и старше – 2,1 [6].

Рассматривая заболеваемость ЗНО на различных территориях, нужно отметить, что «грубые» показатели заболеваемости суммарно всех ЗНО как у мужчин, так и женщин колеблются в достаточно широких пределах. Но, тем не менее, они постоянно находятся в рамках определенных границ (300-600 случаев на 100 тыс. населения соответствующего пола) [18].

Такие колебания заболеваемости связаны, в основном, с неоднородностью населения на той или иной территории. Чтобы исключить влияние этого фактора и привести данные к сравнимым результатам, выработаны международный и европейский стандартизованные показатели народонаселения, которые значительно сокращают колебания уровня заболеваемости по различным территориям и позволяют более объективно проводить сравнительный анализ.

Установлено, что показатели заболеваемости ЗНО даже на различных континентах достаточно близки. Различие между максимальными (Германия – 385,3) и минимальными (Россия, Санкт-Петербург – 275,0) значениями стандартизованных показателей составляет у мужчин около 40%. У женщин различие между максимальными (США – 311,0) и минимальными

(Испания – 180,6) значениями – 72%. По «грубым» показателям эти различия составляют у мужчин – 112,3%, у женщин – 72,1%.

Важно заметить, что соотношение заболеваемости мужчин и женщин, хотя и зависит от территории проживания, но по грубым показателям эти различия не очень значительны. Главное, о чем свидетельствуют данные литературы, это неуклонный рост заболеваемости ЗНО независимо от того, каким образом они рассчитывались.

Кроме того, важным, на наш взгляд, наблюдением является изменение тенденций заболеваемости ЗНО по отдельным локализациям, которое прослеживается практически во всех странах мира на протяжении последних десятилетий. Согласно обобщенным данным мировой статистики, за последние годы произошел существенный рост заболеваемости раком щитовидной железы, почек, предстательной железы, мочевого пузыря, тела и шейки матки, молочной железы, ободочной и прямой кишки, соединительной ткани, головного мозга, кожи, поджелудочной железы, лимфатической и кроветворной ткани, а также отмечен рост меланомы [18, 23].

Если по данным европейских регистров уровень заболеваемости органов дыхания и пищеварения примерно одинаков, то рак простаты в последние годы «конкурирует» с заболеваемостью раком кожи. [18]. Например, в США с 1995 г. рак предстательной железы у мужчин старше 50 лет вышел на 1-е место среди всех злокачественных опухолей.

В то же время, как свидетельствуют данные зарубежной литературы, в странах Запада число случаев рака желудка сократилось, по крайней мере, за 40 лет – в четыре раза [17, 21]. Нужно заметить, что такая тенденция по заболеваемости раком желудка наблюдается на всех пяти континентах до настоящего времени [23].

В России отмечено снижение заболеваемости раком губы, желудка, пищевода, гортани, печени, с 1994 г. наметилась тенденция к снижению заболеваемости раком легкого, в то время как частота рака молочной железы ежегодно продолжает расти. Рак предстательной железы в общей структуре российской онкологической заболеваемости в настоящее время вышел на 4-е место [12].

На конец 2008 г. (В.И. Чиссов, 2010) первые места в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения России распределены следующим

образом: опухоли трахеи, бронхов, легкого (20,4%), желудка (10,0%), кожи (9,6%), меланомы (10,8%), рак предстательной железы (9,7%), ободочной кишки (5,7%). Значителен удельный вес злокачественных новообразований прямой кишки, ректосигмоидного соединения и ануса (5,2%), лимфатической и кроветворной ткани (5,1%), мочевого пузыря (4,5%), почек (4,3%), поджелудочной железы (3,1%), гортани (2,8%). Довольно большую группу формируют злокачественные опухоли органов мочеполовой системы, составляя 18,5% в структуре ЗНО у мужчин [6]. Злокачественные опухоли молочной железы (20,0%) являются ведущей онкологической патологией у женского населения, далее следуют новообразования кожи (13,6%), меланомы (15,5%), тела матки (7,2%), ободочной кишки (7,2%), желудка (6,8%), шейки матки (5,3%), яичников (4,9%), прямой кишки, ректосигмоидного соединения, ануса (4,7%), лимфатической и кроветворной ткани (4,6%), трахеи, бронхов, легкого (3,9%). Таким образом, наибольший удельный вес в структуре онкологической заболеваемости женщин имеют злокачественные новообразования органов репродуктивной системы (37,3%), при этом опухоли половых органов составляют 17,3% всех злокачественных новообразований у женщин [65]. Удельный вес злокачественных новообразований органов пищеварения у женщин (24,5%) ниже аналогичного показателя у мужчин (31,5%). Каждая третья злокачественная опухоль, диагностируемая у мужчин (24,3%), локализуется в органах дыхания, в то время как у женщин доля этих опухолей почти в 6 раз ниже (4,3%).

Следует заметить, что, не смотря на наблюдаемый рост, структура детской онкологической заболеваемости представлена, как правило, всего 7-8 локализациями, лидирующими среди которых являются заболевания лимфатической и кроветворной ткани.

Так, по данным И.В. Бондарь в 2002 г., в структуре заболеваемости российских детей, первое место занимают гемобласты (52,8%), далее следуют опухоли ЦНС (13,2%), почек (7,6%), костей (5,8%) и мягких тканей (4,1%). Наиболее часто среди гемобластозов встречаются острый лимфолейкоз (36,2%), лимфо- и ретикулосаркомы (24,7%), лимфогранулематоз (16,4%) и другие острые лейкозы (16,4%). Мальчики заболевают чаще, чем девочки, ЗНО печени (в 1,9 раза) и глотки (в 2,3 раза). Рак щитовидной железы поражает в 1,8 раза чаще девочек [1].

В 2008 г. по данным В.И. Чиссова и соавт., в структуре онкологической заболеваемости детского населения России (0-14 лет) удельный вес гемобластозов составил 42,4%, а на долю солидных опухолей приходится 57,6% случаев [6]. По данным В.Г. Полякова, у детей (0-14 лет) за период 1998-2008 гг. наблюдается статистически значимый прирост онкологической заболеваемости следующих солидных локализаций: почки (77,7%), соединительной и других мягких тканей (53,5%), головного мозга, других и не уточненных отделов нервной системы (12,7%) [15].

При этом структура солидных опухолей также существенно не изменилась. Среди солидных опухолей наиболее часто выявляемыми локализациями у детей являются ЗНО головного мозга и других отделов нервной системы, удельный вес которых составил 17,9% всех злокачественных новообразований и 31,0% солидных опухолей [6]. Вторая по частоте встречаемости солидная опухоль у детей – ЗНО почек. Удельный вес злокачественных опухолей почек у детей российской популяции в том же 2008 г. составил 8,3% всех злокачественных опухолей и 14,3% солидных опухолей. Причем, удельный вес новообразований почек в структуре общей заболеваемости детей старшей возрастной группы (10-14 лет) в 5,5 раз ниже, чем в младшей возрастной группе (0-4 года) – 2,5 и 13,6%, соответственно. На долю заболеваний костей и суставных хрящей приходится 5,4% всех злокачественных новообразований и 9,4% солидных опухолей, а новообразования мягких тканей составили 5,3% всех новообразований у детей. Редко встречаемой патологией в структуре онкологической заболеваемости детей являются: рак щитовидной железы – 1,1%; яичников – 2,3%; яичка – 0,9% встречаемости среди всех случаев новообразований, которые выявлены в возрасте 0-14 лет.

Анализируя причины роста онкологической заболеваемости, ряд исследователей полагают, что неуклонный ежегодный рост абсолютного числа больных с впервые установленным диагнозом ЗНО может быть обусловлен улучшением диагностики и учета, а также увеличением числа лиц старшего возраста [12, 13]. На изменение показателей детской заболеваемости, в свою очередь, могли повлиять такие демографические факторы, как снижение младенческой смертности и увеличение, таким образом, числа детей, потенциально предрасположенных заболеть в раннем возрасте какой-нибудь болезнью, включая рак, а также

увеличение возраста родителей [15]. В то же время другие исследователи утверждают, что установленные тенденции заболеваемости нельзя объяснить только улучшением в диагностике, качестве учета и полнотой статистических данных и делают акцент на роль отдельных факторов среды обитания [11].

Как известно, одной из главных проблем современной онкологии является позднее выявление заболевания. Например, по данным В.И. Чиссова (2011 г.), в России более 50% впервые выявленных ЗНО диагностируют в III-IV стадии [7].

По последним, опубликованным российским данным, в 2014 г. 26,7% злокачественных новообразований были диагностированы в I стадии заболевания (2013 г. – 25,6%), 25,3% – во II стадии (2013 г. – 25,2%), 20,6% – в III стадии (2013 г. – 21,2%). Доля больных с опухолевым процессом I-II стадии, выявленных при профилактических осмотрах, среди всех больных с указанной стадией составила в 2014 г. 25,0% (в 2013 г. – 22,3%) [10].

Выявление онкологического процесса на поздних стадиях сказывается на эффективности проводимых терапевтических мероприятий, материальных затратах на его осуществление, качестве жизни онкологических пациентов, показателях выживаемости (одногодичной и пятилетней). Несмотря на то, что в течение последних 10 лет наметилась положительная тенденция к снижению показателя одногодичной летальности, уровень смертности больных в течение первого года с момента установления диагноза по последним данным составляет 24,8% (2013 г. – 25,3%; 2008 г. – 29,9%; в 1999 г. – 36,2%) [10].

Заключение

В заключение следует отметить, что проблема онкологических заболеваний остается приоритетной для современного общества. Исследования в области онкологии относятся к числу наиболее актуальных и важных проблем современности. Анализ мировых и российских тенденций заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований показывает, что главными факторами снижения смертности является скрининг и раннее выявление, своевременное и эффективное лечение. Скрининг является способом диагностики доклинического рака. Во многих высокоразвитых странах созданы специальные структуры, занимающиеся разработкой, организацией и подведением итогов

скрининговых исследований. Показана экономическая целесообразность скрининговых программ. По данным Международного Агентства по изучению рака выявление одного случая рака молочной железы при маммографическом скрининге стоит около 2500 долларов, через 5–7 лет после широкомасштабного внедрения скрининга его стоимость, как и стоимость самого лечения, за счет выявления рака на ранних стадиях, сокращается в 4 раза.

Основой для решения поставленных задач по снижению смертности населения РФ от злокачественных новообразований и повышению качества жизни онкологических больных является совершенствование системы ранней диагностики, включая достижения современных биомедицинских исследований, а также внедрение современных высокоэффективных методов лечения онкологических заболеваний, основанных на персонализированном подходе. Минздравсоцразвития России разработал Национальную онкологическую программу «Меры по совершенствованию оказания медицинской помощи онкологическим больным», рассчитанную до 2015 года. Успешная реализация Национальной онкологической программы должна базироваться на развитии высокоэффективных методов диагностики и лечения, в основе которых лежит глубокое фундаментальное понимание молекулярных и генетических основ канцерогенеза.

Одной из актуальных задач российской онкологии является разработка эпидемиологических моделей риска для основных социально-значимых форм ЗНО, создание которых возможно на основе стандартизованных эпидемиологических исследований и накопленных материалов канцер-регистров. Это необходимо для осуществления прогноза и принятия решений на государственном уровне, а также оценки эффективности противораковых мероприятий (В.И. Чиссов, М.И. Давыдов, 2011).

В 2013 г. ВОЗ был опубликован План действий по борьбе против неинфекционных заболеваний на 2013-2030 гг., который направлен, в том числе, на снижение на 25% случаев преждевременной смерти от рака.

Для организации мероприятий практического здравоохранения и прогнозирования стратегий научно-исследовательской и инновационной деятельности в области онкологии, не утрачивает своей значимости комплекс эпидемиологических исследований дескриптивного и аналитического характера, поскольку описательная

эпидемиология проводит анализ территориальной и временной распространенности заболеваемости и смертности, а аналитическая эпидемиология занимается выявлением факторов риска заболевания с целью проведения контрольных мероприятий.

В конечном итоге, результаты таких исследований будут использованы при разработке и внедрении инновационных технологий скрининга, ранней диагностики, лечения и профилактики злокачественных новообразований, создание которых в будущем планируется на базе технологической платформы биомедицины с использованием молекулярно-генетических маркеров. Такой подход позволит обеспечить наиболее эффективное оказание помощи онкологическим больным.

Литература

1. Бондарь, И. В. Злокачественные новообразования у детей: заболеваемость, смертность, продолжительность жизни / И. В. Бондарь // Российский онкологический журнал. 2002. № 1. С. 43-44.
2. Демографический ежегодник Белгородской области. 2010: стат. сб. / Федер. служба гос. статистики, Территор. орган Федер. службы гос. статистики по Белгор. обл. ; [ред. совет: О. С. Таранова и др.] – Белгород : Белгородстат, 2010. 271 с.
3. Злокачественные новообразования в России в 1980-1995 годах / Л. В. Ременник, Г. В. Петрова, А. В. Тарасова [и др.] ; под ред. В. И. Чиссова [и др.]. – М. : РАНКО-Пресс, 1998. 167 с.
4. Злокачественные новообразования в России в 2000 году: заболеваемость и смертность / М-во здравоохранения РФ, Центр информ. технологий и эпидемиол. исслед. в обл. онкологии в составе Моск. науч.-исслед. онкол. ин-та; под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. – М. : МНИОИ, 2002. 262 с.
5. Злокачественные новообразования в России в 2005 году: заболеваемость и смертность / М-во здравоохранения РФ, Центр информ. технологий и эпидемиол. исслед. в обл. онкологии в составе Моск. науч.-исслед. онкол. ин-та ; под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. – М. : МНИОИ, 2007. 251 с.
6. Злокачественные новообразования в России в 2008 году: заболеваемость и смертность / М-во здравоохранения РФ, Центр информ. технологий и эпидемиол. исслед. в обл. онкологии в составе Моск. науч.-исслед. онкол. ин-та ; под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. – М. : МНИОИ, 2010. 255 с. : ил., табл.
7. Злокачественные новообразования в России в 2009 году: заболеваемость и смертность / М-во здравоохранения РФ, Центр информ. технологий и эпидемиол. исслед. в обл. онкологии в составе Моск.

науч.- исслед. онкол. ин-та; под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. – М. : МНИОИ, 2011. 259 с.

8. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2004 г. / под ред. М. И. Давыдова, Е. М. Аксель // Вестник Российского онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2006. – Т. 17, № 3, прил. 1. С. 5-132.

9. Стратегия и тактика онкологической службы России на современном этапе / В. И. Чиссов, В. В. Старинский, Б. Н. Ковалев [и др.] // Российский онкологический журнал. 2006. № 3. С. 4-7.

10. Состояние онкологической помощи населению России в 2014 году / Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России.: 2015. 235 с.

11. Канцерогенез: руководство / РАМН, Рос. онкол. науч. центр, НИИ канцерогенеза ; под ред. Д. Г. Заридзе. – М. : Медицина, 2004. 574 с.

12. Онкология: учебник с компакт-диск : для студентов мед. вузов / [Г. Р. Абузарова, Б. Я. Алексеев, А. А. Берзой] ; под ред. В. И. Чиссова, С. Л. Дарьяловой. М. : ГЭОТАР-МЕДИА, 2007. 559 с.

13. Отраслевая программа «Разработка высокотехнологичных методик профилактики, диагностики и лечения, повышающих эффективность медико-социальной реабилитации и качество жизни онкологических больных» и основные итоги ее выполнения в 2001-2005 гг. / В. И. Чиссов, В. В. Старинский, Л. М. Александрова [и др.] // Российский онкологический журнал. 2006. № 4. С. 38-40.

14. О состоянии здоровья населения Российской Федерации в 1999 году: Гос. доклад Минздрава РФ, РАМН.–М.: МЗ РФ; РАМН, 1999.204 с.

15. Поляков, В.Г. Заболеваемость злокачественными новообразованиями детей России в 1990-2005 гг. / В. Г. Поляков, Т. Х. Мень // Российский онкологический журнал. 2008. № 2. С. 30-33.

16. Boyle, P. Cancer incidence and mortality in Europe. 2004 / P. Boyle, J. Ferlay // Ann. Oncol. 2005. – Vol. 16, № 3. P. 481-488.

17. Cancer research for cancer control / ed. J. Sinéad. – Lyon : International Agency for Research on Cancer, 1997. 33 p. ; ill. ; maps.

18. Cancer incidence in five continents. Vol. VIII / eds.: D. M. Parkin, S. L. Whelan, J. Ferlay [et al.]. – Lyon : International Agency for Research on Cancer, 2002. 838 p. : tab. (IARC Scientific Publication ; № 155).

19. Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCISproject): an epidemiological study / E. Steliarova-Foucher, C. Stiller, P. Kaatsch [et al.] // Lancet. 2004. Vol. 364, № 9451. P. 2097-2105.

20. Global cancer statistics. 2002 / D. M. Parkin, F. Bray, J. Ferlay [et al.] // C.A. Cancer. J. Clin. – 2005. – Vol. 55, № 2. – P. 74-108.

21. Hill, C. L'épidémiologie des cancers / C. Hill, F. Doyon // Bulletin du Cancer. 1997. Vol. 84, № 9. P. 917-918.

22. Interpreting cancer trends / E. M. Ward, M. J. Thun, L. M. Hannan [et al.] // Ann. N.-Y. Acad. Sci. 2006. Vol. 1076. P. 29-53.

23. World Cancer Report / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer ; eds.: B. W. Stewart, P. Kleihues. Lyon : IARC Press, 2003. – 351 p.

References:

1. Bondar, V. I. Malignant Neoplasms in Children: Morbidity, Mortality, Life Expectancy / Bondar I. V. // Russian Journal of Oncology. 2002. No. 1. Pp. 43-44.

2. The Demographic Yearbook of Belgorod Region. 2010: stat. sat / Federal Service of State Statistics, Territorial Agency of Federal State Statistics Service in Belgorod Region.; [ed. board: S. O. Taranova et al.]. Belgorod : Belgorodstat, 2010. 271 p.

3. Malignant Neoplasms in Russia in 1980-1995 / L. V. Remennik, G. V. Petrova, A. V. Tarasova [et al.] ; edited by V. I. Chissov [and others]. M. : RANCO Press, 1998. 167 p.

4. Malignant Neoplasms in Russia in 2000: Morbidity and Mortality / The Ministry of Health of Russia, Center for Informational Technology and Epidemiological Research of Oncology in Moscow Scientific-Research Oncological Institute ; ed. by V. I. Chissov, V. V. Starinsky, G. V. Petrova. – Moscow : the Moscow research oncologic Institute, 2002. 262 p.

5. Malignant Neoplasms in Russia in 2005: Morbidity and Mortality / The Ministry of Health of Russia, Center for Informational Technology and Epidemiological Research of Oncology in Moscow Scientific-Research Oncological Institute; ed. by V. I. Chissov, V. V. Starinsky, G. V. Petrova. Moscow : Moscow Research Oncologic Institute, 2007. 251 p.

6. Malignant Neoplasms in Russia in 2008: Morbidity and Mortality / The Ministry of Health of Russia, Center for Informational Technology and Epidemiological Research of Oncology in Moscow Scientific-Research Oncological Institute ; ed. by V. I. Chissov, V. V. Starinsky, G. V. Petrova. – Moscow : Moscow Research Oncologic Institute, 2010. 255 p.

7. Malignant Neoplasms in Russia in 2009: Morbidity and Mortality / The Ministry of Health of Russia, Center for Informational Technology and Epidemiological Research of Oncology in Moscow Scientific-Research Oncological Institute; ed. by V. I. Chissov, V. V. Starinsky, G. V. Petrova. Moscow : Moscow Research Oncologic Institute, 2011. 259 p.

8. Statistics of Malignant Neoplasms in Russia and CIS Countries in 2004 / ed. by M. I. Davydov, E. M. Axel // Bulletin of the Russian Oncological Scientific Center named. After N. N. Blokhin RAMS. 2006. Vol. 17, No. 3, Suppl. 1. Pp. 5-132.

9. Strategy and Tactics of the Oncological Service in Russia on the Modern Stage / V. I. Chissov,

V. V. Starinsky, B. N. Kovalev [and others] // Russian Oncological Journal. 2006. No. 3. Pp. 4-7.

10. The State of Cancer Care in Russia in 2014 / Kaprin A. D., Starinsky V. V., Petrova G. V. M.: MNI OI P. A. Hertsen, the branch of FGBU «NMRRC» of the Ministry of health of Russia.: 2015. P. 235.

11. Carcinogenesis: a Guide / RAMS, ROS. oncol. scientific. center, Institute of carcinogenesis, edited by D. G. Zaridze. M. : Medicine, 2004. 574 p.

12. Oncology: textbook with CD-ROM : for students of medical institutes / [Abuzarova G. R., B. Y. Alekseev, A. A. Berti] ; ed. by V. I. Chissov, S. L. Daryalova. M. : GEOTAR-MEDIA, 2007. 559 p.

13. The Branch Program «Development of High-tech Methods of Prevention, Diagnosis and Treatment Aimed at Increasing the Effectiveness of Medical and Social Rehabilitation and Quality of Life of Cancer Patients» and the main results of its implementation in 2001-2005 / Chissov V. I., Starinskii V. V., Aleksandrova L. M. [and others] // Russian oncological journal. 2006. No. 4. Pp. 38-40.

14. About the Health Status of the Population of the Russian Federation in 1999: State report of the Ministry of Health of the Russian Federation, the Russian Academy of medical Sciences. M.: Ministry of health of the Russian Federation; the Russian Academy of medical Sciences, 1999. 204 p.

15. Polyakov, V. G. The Incidence of Malignant Tumors in Children in Russia in 1990-2005 / V. Polyakov, T. H. Men // The Russian Oncological Journal. 2008. No. 2. Pp. 30-33.

16. Boyle, P. Cancer incidence and mortality in Europe. 2004 / P. Boyle, J. Ferlay // Ann. Oncol. 2005. Vol. 16, № 3. P. 481-488.

17. Cancer research for cancer control / ed. J. Sinéad. – Lyon : International Agency for Research on Cancer, 1997. 33 p. ; ill. ; maps.

18. Cancer incidence in five continents. Vol. VIII / eds.: D. M. Parkin, S. L. Whelan, J. Ferlay [et al.]. – Lyon : International Agency for Research on Cancer, 2002. 838 p. : tab.– (IARC Scientific Publication; № 155).

19. Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCISproject): an epidemiological study / E. Steliarova-Foucher, C. Stiller, P. Kaatsch [et al.] // Lancet. 2004. Vol. 364, № 9451. P. 2097-2105.

20. Global cancer statistics. 2002 / D. M. Parkin, F. Bray, J. Ferlay [et al.] // C.A. Cancer. J. Clin. 2005. Vol. 55, № 2. P. 74-108.

21. Hill, C. L'épidémiologie des cancers / C. Hill, F. Doyon // Bulletin du Cancer. 1997. Vol. 84, № 9. P. 917-918.

22. Interpreting cancer trends / E. M. Ward, M. J. Thun, L. M. Hannan [et al.] // Ann. N.-Y. Acad. Sci. 2006. Vol. 1076. P. 29-53.

23. World Cancer Report / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer ; eds.: B. W. Stewart, P. Kleihues. – Lyon : IARC Press, 2003. – 351 p.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Pharmaceutical sciences

UDC 614.2:339.138:615.2:616.72:2-455

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-87-90

Spichak I.V.¹
Dereglazova Yu.S.²
Petrovskaya T.Yu.³

OPTIMIZATION OF INFORMATION SUPPORT
FOR PHARMACIES IN THE FIELD OF PHARMACEUTICAL
AID TO CHILDREN WITH ARTHROPATHY

1) Head of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Doctor of Pharmacy, Professor Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: Spichak@bsu.edu.ru

2) Assistant Lecturer, Department of Management and Economics of Pharmacy Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail:dereglazova@bsu.edu.ru

3) rheumatologist, pediatric cardiologist, PhD in Medicine
Municipal Budgetary Healthcare Institution «City Children's Hospital», Sadovaya St., 1A, Belgorod, 308014, Russia, E-mail: rheumo@list.ru

Abstract.

The paper presents an analysis of information awareness of pharmaceutical personnel on aspects of pharmaceutical aid to children with joint diseases; we analyzed the product portfolio of medicines for treating children with juvenile arthritis in the ambulatory outpatient conditions, taking into account consumer preferences and economic opportunities of their families; we developed a materials bank for pharmaceutical information counseling of pharmacy personnel in terms of pharmaceutical aid to children with joint diseases.

Keywords: pharmaceutical aid, medicines, children, arthritis, product portfolio, pharmacies.

Спичак И.В.¹
Дереглазова Ю.С.²
Петровская Т.Ю.³

ОПТИМИЗАЦИЯ ИНФОРМАЦИОННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ АПТЕК
В ОБЛАСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ ДЕТЯМ
С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СУСТАВОВ

1) заведующая кафедрой управления и экономики фармации, доктор фармацевтических наук, профессор НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: Spichak@bsu.edu.ru

2) ассистент кафедры управления и экономики фармации НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail:dereglazova@bsu.edu.ru

3) врач – ревматолог, детский кардиолог, кандидат медицинских наук, МБУЗ «Городская детская больница», 4) 308014, Белгород, ул. Садовая, 1А, Россия, E-mail:rheumo@list.ru

Аннотация. В статье представлены результаты анализа информационной осведомленности фармацевтических работников по аспектам фармацевтической помощи детям с заболеваниями суставов; проанализированы ассортиментные портфели лекарственных средств для лечения детей с юношеским артритом в амбулаторно – поликлинических условиях с учетом потребительских предпочтений и экономических возможностей семьи; разработан банк материалов для фармацевтического информационного консультирования работников аптек в области фармацевтической помощи детям с заболеваниями суставов.

Ключевые слова: фармацевтическая помощь, лекарственные средства, дети, артриты, ассортиментные портфели, аптеки.

Introduction: The Joint diseases in children, grouped as «juvenile arthritis», tend today to the steady increase in the population of children and adolescents, which leads to higher social and medical significance of the problem. Pharmacotherapy of this nosology provides long-term outpatient and inpatient treatment [1, 3].

Children in outpatient treatment are provided with medicines from the pharmacies for patients' own funds. However, in the case of the high cost of prescribed drugs, the parents who cannot afford the entire complex, buy it partially, or don't buy at all. As a result, there is a significant decline in the quality of the therapy, slowing of the healing process, and, as a consequence, an increased likelihood of disease process to become chronic [2].

Given that the final element in providing drugs to outpatient patients is the pharmacy, a competent pharmaceutical information counseling (PIC) of consumers by the pharmaceutical personnel in terms of range of drugs comes to the fore, which contributes to the acquisition of the full range of medicines prescribed by a doctor. However, currently, the pharmaceutical experts incur an information deficit in aspects of pharmaceutical care in the pharmacotherapy of rare diseases, including diseases of the joints in children.

In connection therewith, the optimization of informational support for pharmacies in the field of pharmaceutical aid to children with arthropathy is a highly relevant issue.

Objective of this paper is the optimization of informational support for pharmacies in the field of pharmaceutical aid to children with arthropathy (using juvenile arthritis as an example).

Objects of research: 300 pharmaceutical professionals working in Russian pharmacies; Internet resources: the State Register of Medicinal Products 2015; Encyclopedia of Drugs: Russian Drug Register 2015, the International Classification of Diseases, 10th Revision (ICD-10), Widal's Handbook «Medicines in Russia» 2015, and Russian Public Opinion Research Center (RPORC) <http://wciom.ru/>

Research methods: analytical approach, method of ranking, graphic method, comparison method, and sociological method (questionnaire survey).

Results and discussion. In order to optimize informational support for pharmacies in the field of pharmaceutical aid to children with arthropathy is a highly relevant issue, we developed a concept of

study consisting of 3 stages. The first stage of the study involves theoretical aspects of optimization of information support to the pharmacies in terms of pharmaceutical aid to children with joint diseases; the second stage involves analysis of information awareness of pharmaceutical personnel on the provision of pharmaceutical aid to children with joint diseases; and the third stage includes development of a materials bank for pharmaceutical information counseling of pharmacy personnel in terms of pharmaceutical aid to children with joint diseases.

Thus, the second stage of the study involved sociological research in the form of full-time and part-time (online) questionnaire survey of 300 pharmaceutical professionals on the basis of pharmacies of Belgorod and other cities of Russia. On the basis thereof a professional portrait of a pharmaceutical specialist has been created. We found that it is a woman – 91.7%; aged 20 to 30 years – 69%; with specialized secondary pharmaceutical education – 52.7%; working on a specialty from 1 to 5 years – 56.7%; carrying out her professional activity in Belgorod pharmacies – 63.7%. We revealed that 87% of pharmaceutical specialists had in their practice the cases of arthritis in children; while 80.7% of respondents are aware of the possible causes of the disease; 91.7% of pharmaceutical employees are aware of the probability of chronic articular process and disability in case of delayed reference to the doctor by reason of pain in the joints in children.

We determined that only 34.3% of parents refer to the pharmacy with the medications prescribed by doctor; 43.9% of patients ask a pharmaceutical professional to provide an advice on the choice of the drug in situ. It was found that in case of parents referring to the pharmacy with complains of joint pain in children, more than half of the respondents would dispense external or oral NSAIDs in accordance with the age of the child, and definitely advise to refer to a doctor – 51%. Conspicuous is the fact that about 50% of respondents indicated that parents often ask to replace the prescribed medications with cheaper equivalents. We revealed that the source of professional information for pharmaceutical professionals is reference literature – 44.4%, books and periodicals are used as additional information – 48.4%; 89.7% of respondents consider necessary to draw the attention of parents to the necessity for timely reference to the doctor upon the first symptoms of the joint disease in their child; 55.1% of respondents consider visual materials to be the most convincing information on the need to see a

doctor; in particular, the thematic posters – 32.7%; 92.3% of respondents indicated that placing such materials in the pharmacy will enhance the level of parental responsibility for children's health, as well as timely reference to a doctor; and 88.3% of respondents consider helpful to have a list of drugs in the pharmacy, effective for the treatment of juvenile arthritis, and at different price. Thus, we have revealed the interest of pharmaceutical professionals in the development of materials, which make up the information deficit in the matters of pharmaceutical aid to children with the joint diseases.

As part of the 3rd stage of the study, we analyzed the drugs product portfolio of different price categories for the treatment of juvenile arthritis on an outpatient basis developed in 2013 at the Department of Management and Economics of Pharmacy of NRU «BSU» under the guidance of professor Spichak I.V. The portfolios have been created due to the following approach: to involve the drugs with the maximum possible consumer characteristics such as pharmacotherapeutic efficacy, age restrictions, price, ease of use, safety, and a certain price range for one course of treatment.

Conclusion. We have formed a data bank (DB) for pharmaceutical professionals, designed to advise consumers on pharmaceutical and consumer characteristics of drugs used in treating joint diseases in children. The data bank includes 3 lists in three different price categories: «high-cost», «mid-price», and «low-cost» and contains summary of pharmaceutical and consumer characteristics of the described drugs and is to be placed in the pharmacy checkout area.

Thus, a data bank on high-cost drugs for the treatment of juvenile poly-/oligoarticular arthritis includes 7 essential drugs (EsD) and 4 equivalent drugs (EqD) in accordance with the pharmacotherapeutic complex – disease-modifying agents – basic anti-inflammatory drugs; the drugs

affecting the blood system and blood formation; symptom-modifying agents. Average cost per course of treatment amounts up to 7,600 rubles. The medicines of the above complex are original, have a high pharmacotherapeutic effect and consumer features, however cost-intensive. The mid-price list in the data bank contains 7 EsD and 6 EqD. The estimated cost per course of treatment amounts up to 4,600 rubles. The low-cost list in the data bank with the average cost per course of treatment up to 1,600 rubles includes 8 EsD and 8 EqD, which are usually the domestic products, having successfully proven themselves in the treatment of this pathology.

The developed materials are presented for the purpose of creation of a pharmacy product portfolio policy in the field of drugs for the treatment of joint diseases in children, which will ensure optimization of the advice of pharmaceutical professional to parents on the choice of children's medicines based on the doctor's prescriptions, and fully meet the client's information needs.

References

1. Baranov A.A., Alekseeva E.I., Bzarova T.M. Juvenile rheumatoid arthritis / Clinical guidelines. Pediatrics (Juvenile rheumatoid arthritis). Moscow, 2005. – P. 32.
2. Spichak I.V., Pankratova O.G., Avtina N.V. Optimization of provision of medicines to children with tonsillitis in outpatient institutions // Scientific statements of Belgorod state University. Ser. Medicine. Pharmacy. 2010. No. 22 (93), V. 12. P. 154-159.
3. Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis // Lancet. 2007. No. 369 (9563). P. 767-778.

Table

A fragment of a data bank on mid-price drugs for juvenile poly-/oligoarticular arthritis in children (the estimated cost per course of treatment amounts up to 4,600 rubles)

Essential drug									
No.	Trade name	INN	Type of drug	PF, dosage	Manufacturing country	Dispensing requirements	Age restrictions	Dosage regimen	Note
Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) Symptomatic therapy of articular syndrome: anti-inflammatory, analgesic effect. The drugs are prescribed prior to a regression of the articular syndrome and normalization of laboratory test values.									
1	Mataren	Meloxicamum	Generic drug	Tablets 7.5 mg No. 20	Russia	<u>Dispense on prescription</u> <u>Prescription form No. 107/Y</u>	From age 12	Per os. 15mg/day, after positive therapeutic effect the dose can be reduced to 7.5 mg/day	With food
2	Voltaren Emulgel	Diclophenacum	Original drug	gel 1%, 20 g	Switzerland	<u>Pharmacy dispensing – over-the-counter</u>	From age 12	Topical Drug amount to apply depends on the size of trigger area. A single dose – 2-4 gram (comparable to the size of a cherry or walnut) is sufficient to cover the 400-800 cm ² area	The drug is applied to the skin 3-4 times/day with gentle massage
3	Nurofen for children	Ibuprofen	Generic drug	oral suspension 100 mg/5 ml	Great Britain	<u>Pharmacy dispensing – over-the-counter</u>	Per os. Children aged 3 to 6 months – 2.5 ml, 3 times a day (not more than 150 mg/day); 6 to 12 months – 2.5 ml 3-4 times a day (maximum 200 mg/day); 1 year to 3 years – 5 ml 3 times a day (not more than 300 mg/day); 4 to 6 years – 7.5 ml 3 times per day (up to 450 mg/day); 7 to 9 years – 10 ml 3 times per day (up to 600 mg/day); 10 to 12 years – 15 ml 3 times per day (up to 900 mg/day)		
4	Nise	Nimesulidum	Original drug	dispersible tablets 50 mg No.20	India	<u>Dispense on prescription</u> <u>Prescription form No. 107/Y</u>	From age 2	Per os. 100 mg 2 times a day before meals (pour the sachet content into a glass and dissolve in water), for 7-14 days	In case of discomfort in the stomach, the drug can be taken at the end or after a meal
5	Nise	Nimesulidum	Original drug	gel 1%, 20 g	India	<u>Pharmacy dispensing – over-the-counter</u>	From age 7	Topical Apply a uniform thin layer of 3 cm gel column on the area of maximum tenderness, do not rub, 3-4 times/day.	
6	Indovasin	Indomethacinum + Troxerutinum	Original drug	gel for external use	Bulgaria	<u>Pharmacy dispensing – over-the-counter</u>	From age 14	Topical Apply 4-5 cm of a thin gel layer on the affected area with gentle massaging movements	

UDC 615.1

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-91-96

**Spichak I.V.¹
Murashko Yu.I.²**

MARKET RESEARCH OF RUSSIAN MEDICINAL PRODUCTS USED FOR TREATMENT OF ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTION IN PREGNANT WOMEN

- 1) dean of pharmaceutical faculty, head of the department of management and economics of pharmacy of Medical University, doctor of pharmaceutical sciences, professor. Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: Spichak@bsu.edu.ru
- 2) postgraduate student of the 3rd year of study, Pharmaceutical faculty, assistant of the department of management and economics of pharmacy of Medical University; Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: Murashko_yu@bsu.edu.ru

Abstract

This paper deals with the conducted market research of Russian medicinal preparations used for treatment of acute respiratory viral infection in pregnant women.

Keywords: medicinal preparation market research, Russian market, pregnant women, acute respiratory viral infection.

**Спичак И.В.¹
Мурашко Ю.И.²**

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА РОССИЙСКОГО РЫНКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННЫХ С ОРВИ

- 1) декан фармакологического факультета, заведующая кафедрой управления и экономики фармации, 2) доктор фармацевтических наук, профессор НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: Spichak@bsu.edu.ru
- 2) аспирант, ассистент кафедры управления и экономики фармации НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: dereglazova@bsu.edu.ru

Аннотация. Проведен анализ российского рынка лекарственных препаратов разрешенных к применению у беременных заболевших острыми респираторно-вирусными инфекциями.

Ключевые слова: анализ ассортимента лекарственных средств, российский рынок, беременные, острые респираторно-вирусные инфекции.

Respiratory diseases today are a major global health problem. For example, the incidence of these pathologies in the Russian Federation increased by 12.4% during the period from 2005 to 2011, and the temporary disability has increased and now takes the first place – 28% of all cases. The mortality rate, according to statistics, in 2009 – 2010 was 56.0 cases per 100 thousand people [2].

In the world, the influenza and acute respiratory viral infections (ARVI) cause the main economic damage in the structure of infectious respiratory diseases. Up to 90% of cases is accounted for acute respiratory diseases [1, 7], which is about 30 million cases in Russia annually. However, the actual number of cases often not seeking medical care 1.5-2 times exceeds the official data [8].

All categories of population are susceptible to ARVI, but for some groups of people, they are the most dangerous. The main risk group is represented by pregnant women, whose incidence structure's leading position is occupied by this pathology [3, 4, 5, 6]. During pregnancy, there is a physiological depression of immunity, so a woman's body becomes weak and susceptible to various colds and infectious diseases [9].

Currently, there is a broad range of medicinal drugs (MD) for the treatment of ARVI, but their application by pregnant women is limited. Clinical trials of the majority of medicinal products (MP) in terms of their safe use during pregnancy are either limited, or have not been carried out yet. Prescription of medicinal treatment is also complicated due to the absence of pharmacological standards and formulary lists of

medicinal products for the treatment of pregnant women with acute respiratory viral infection [10].

In connection therewith, it is relevant to study the market of medicinal products used for the treatment of acute respiratory viral infections in pregnant women.

Objective of the research: to study the market of Russian medicinal products used for treatment of acute respiratory viral infection in pregnant women.

Materials and research methods. To conduct the study we used official information directories of medicinal products: Vidal «Medicines in Russia» 2014, «Register of medicinal products of Russia» for 2014-2015; and the «Analyte-Pharmacy» software.

Methods of research: content analysis, structural, comparative, graphic, and segmentation analyses.

Results and discussion.

To archive the set objective, we developed the research concept consisting of three stages: the formation of drug information array; structural analysis of the range of medicinal products; and the development of macroprofile of the Russian pharmaceutical market of medicinal products used in treating ARVI in pregnant women.

During the first stage, we analyzed the official sources of information about medicinal products and based thereon generated the information array of medicinal products for the treatment of ARVI in pregnant women. We revealed that the range includes 503 medicinal drugs, 217 trade names and 67 international non-proprietary names (INN) medicines.

During the second stage of the study, we revealed that the structuring of the range fully on the Anatomical Therapeutic Chemical Classification (ATC) is not possible, and therefore we added to the structure the drugs for ARVI treatment on the International Classification of Diseases, 10th edition (ICD-10): homeopathic medicines, herbal MD and medicinal plant product.

It was found that seven groups (four – on the ATC-3 classification, and three pharmacotherapeutic groups) represent the range of the Russian market of drugs for the treatment of acute respiratory viral infections in pregnant women. Group R «Respiratory system» ranks first in the range structure – 293 medicinal drugs (58.3%). The second is the «Medicinal plant product» – 54 MD (10.7%), and the third is group N «Nervous system» – 50 MD (9.9%). Further, there are herbal drugs – 42 MD (8.3%); group L «Antineoplastic and immunomodulating agents» – 30 MD (6%); homeopathic drugs – 21 MD (4.2%), and group J «Antivirals for systemic use» – 13 MD (2.6%) (Table 1).

Studying the MD used for treatment of ARVI in pregnant women, we excluded categories of drugs such as «contraindicated» and «not recommended». The rest of the MD were ranked and grouped. In the course of study, we divided the entire range into 6 subgroups. The leading position is occupied by a subgroup of drugs, which can be used only after consultation with a doctor or upon doctor's prescription and evaluation of the potential benefit for the mother and the risk to the fetus. Drugs of this group make a majority – they account for 57.2% (288 MD) of the total number of MD used during pregnancy. The second are medicinal drugs, the use of which is prohibited during the 1st trimester of pregnancy, and their further use is only possible after consulting a doctor and evaluating the risks and benefits – 16.1% (81 MD). The third is a group of «Use with care» drugs – 14.3% (72 MD). Further, there are groups of «Use permitted» – 6% (30 MD), «Use possible» – 5% (25 MD), and «Contraindicated in the 1st trimester of pregnancy» – 1.4% (7 MD) (Fig. 1).

Table 1

The range structure of the medicinal drugs used in treating acute viral respiratory infections in pregnant women, presented in the Russian pharmaceutical market

No.	Classification group	Number of items													
		INN		Trade name		Medicinal preparations									
						Total			incl. domestic		incl. foreign		incl. new		
		Abs.	Share, %	Abs.	Share, %	Abs.	Share, %	Rank	Abs.	Share, %	Abs.	Share, %	Abs.	I ₀ , %	
<i>R Respiratory system</i>															
1	R01 Nasal preparations	14	20.9	43	19.8	108	21.5	II	52	48.1	56	51.9	62	57.4	
2	R02 Throat preparations	25	37.3	42	19.4	60	11.9	III	26	43.3	34	56.7	29	48.3	
3	R05 Cough and cold preparations	12	17.9	50	23	125	24.9	I	52	41.6	73	58.4	54	43.2	
<i>Total for group</i>		51	76.1	135	62.2	293	58.3								
<i>N Nervous system</i>															
4	N02 Analgesics	6	9	21	9.7	50	9.9	V	35	70	15	30	18	36	
<i>J Antiinfectives for systemic use</i>															
5	J05 Antiviral preparations for systemic use	3	4.5	3	1.4	13	2.6	IX	8	61.5	5	38.5	10	76.9	
<i>L Antineoplastic and immunomodulating agents</i>															
6	L03 Immunostimulants	7	10.4	14	6.5	30	6	VII	25	83.3	5	16.7	15	50	
<i>Preparations of other groups</i>															
7	Homeopathic medicines	-	-	19	8.7	21	4.2	VIII	1	4.8	20	95.2	6	28.6	
8	Herbal MD	-	-	20	9.2	42	8.3	VI	19	45.2	23	54.8	16	38.1	
9	Medicinal plant product	-	-	5	2.3	54	10.7	IV	54	100	-	-	28	51.9	
Total		67	100	217	100	503	100		272	55.3	231	44.7	238	47.8	

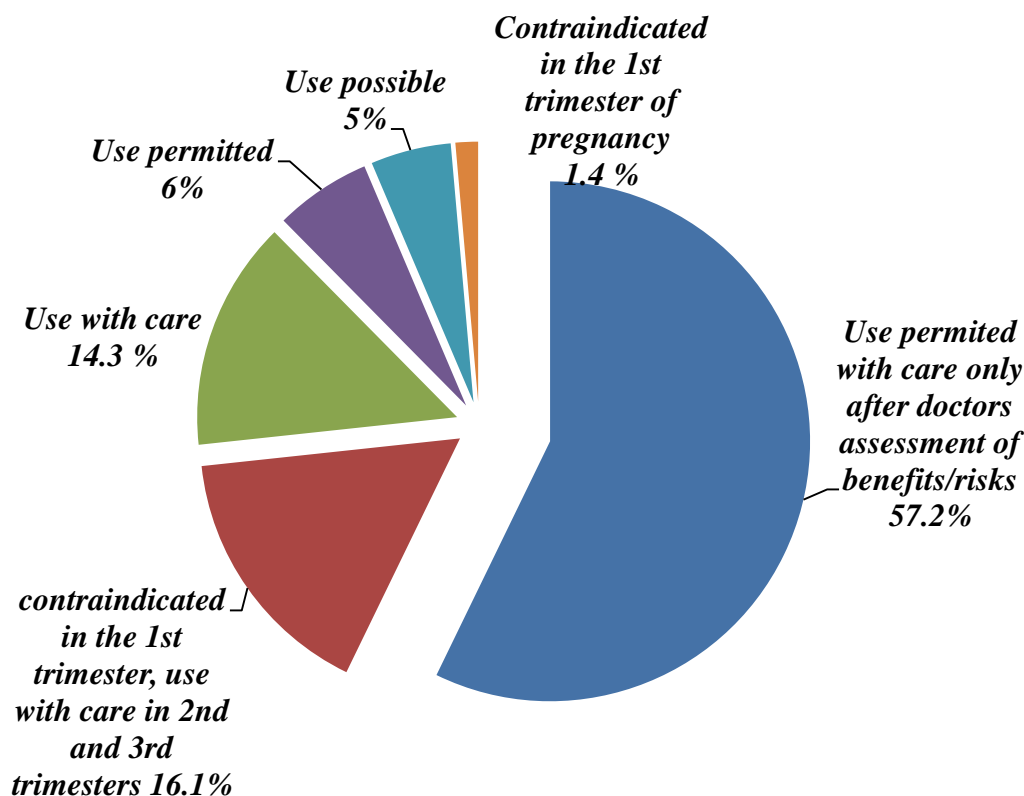


Fig. 1. Segmentation of the MD range by the possibility of using in pregnant women, %

We conducted the structural analysis of the MD range by INN. It was found that the leading position is occupied by a group R «Respiratory system» – 76.1% (51 MD). Further, there are group L preparations «Antineoplastic and immunomodulating agents» – 10.74% (7 MD); group N «Nervous system» – 9% (6 MD), and group J «Antivirals for systemic use» – 4.5% (13 MD) (Table 3).

Analysis of the range structure by trade names showed that the leading group is also group R «Respiratory system» – 62.2% (135 MD TN). Further, there are group N «Nervous system» – 9.7% (21 MD), herbal preparations – 9.2% (20 MD), Homeopathic preparations – 8.7% (19 MD), «Antineoplastic and immunomodulating agents» – 6.5% (14 MD), «Medicinal plant product» – 2.3% (5 MD), and «Antivirals for systemic use» – 1.4% (3 MD).

During segmentation analysis based on production, we found the predominance of the domestic drugs – 54.1% (272 MD) over foreign – 45.9% (231 MD).

Analysis of offers for drugs of foreign manufacturing countries showed that there are

offers of total 25 foreign countries registered. The leading positions among them belong to Germany (30.3%), France (7.4%), and India (6.9%). They are followed by Great Britain (6.1%), Switzerland (5.6%), Italy (5.2%), Slovenia (4.3%), the USA (3.5%), Czech Republic (3.5%), and Croatia (3%). The rest of the foreign manufacturing countries are grouped as «Others» and account for 24.2% (56 MD).

The next stage involved segmentation of the drugs range by their composition. It was found that of the dominant part in the structure belongs to single component preparations – 54.9%, while the combined MD account for 45.1%.

The MD segmentation by type of dosage form (DF) showed that four groups – liquid, solid, soft, and gaseous, represent the range. The liquid MD prevail and account for 50%. The leading position among them belongs to sprays that are 31.3% (70 MD). Further, there are drops – 25.9% (58 MD), syrups – 24.6% (55 MD), solutions – 16.5% (37 MD), suspensions – 1.3% (3 MD), and emulsions – 0.4% (1 MD).

The solid MD are the second – 43.4%. The leading position among them belongs to tablets – 65.1% (127 MD). Further, there are powders –

9.2% (18 MD), suppositories – 8.2% (16 MD), capsules – 6.2% (12 MD), lyophilizates – 4.6% (9 MD), pastilles – 3.1 % (6 MD), granules – 2.1% (4 MD), and pellets – 1.5% (3 MD).

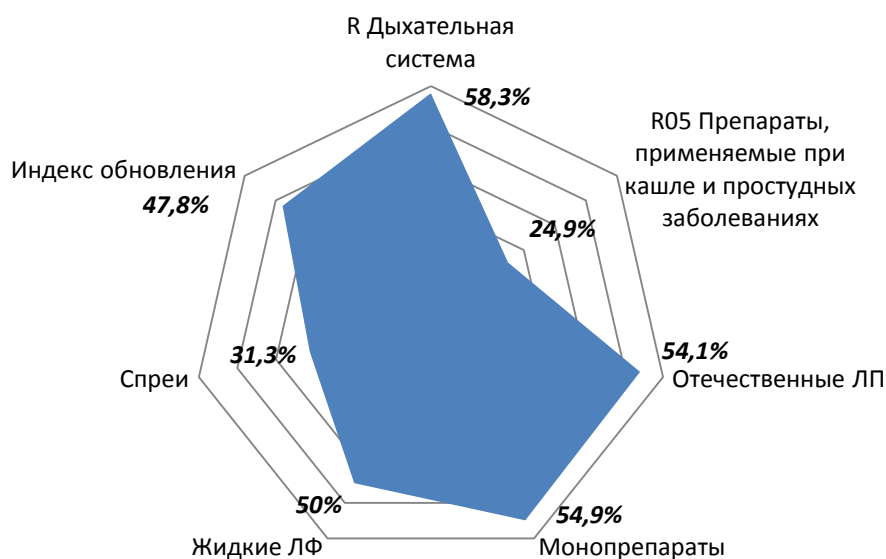
Soft and gaseous MD are the third – each of 3.3% (15 MD each). The leading position among soft MD belongs to ointment – 86.6% (13 MD), then gels and creams – each 6.7% (1 MD each). Gaseous MD are represented by aerosols – 3.3% (15 MD).

We analyzed the dynamics of MD registration and revealed that the renewal index in all groups of studied preparations took on a value of 28.6% to 76.9% during 2009-2014 in the Russian market, and was 47.8% on average.

It was found that the renewal index was maximum for the group J05 «Antiviral preparations for systemic use» – 76.9% (10 MD). The second is a subgroup R01 «Nasal preparations» – 57.4% (62 MD). Further, there are medicinal plant product – 51.9% (28 MD), L03

«Immunostimulators» – 50% (15 MD), R02 «Throat preparations» – 48.3% (29 MD), R05 «Cough and cold preparations» – 43.2% (54 LP), herbal drugs – 38.1% (16 LP), N02 «Analgesics» – 36% (18 LP), and homeopathic medicines – 28.6% (6 MD).

Based on these findings, we formed the macroprofile of the Russian pharmaceutical market of drugs used for the treatment of acute respiratory viral infection in pregnant women, which is represented mainly by a group R «Respiratory system» (58.3%), where the leader by the absolute number of the MD is a group R05 «Cough and cold preparations» (24.9%). The domestic medicines prevail in terms of production (54.1%). The single component drugs dominate in the general structure of the Russian market (54.9%). 50% of the analyzed range is accounted for liquid MD, mostly in the form of sprays – 31.3%. The average renewal index is 47.8% (Fig. 2).



R Дыхательная система – R Respiratory system. R05 Препараты, применяемые при кашле и простудных заболеваниях – R05 Cough and cold preparations. Отечественные ЛП – Domestic MD. Монопрепараты – Mono-preparation. Жидкие ЛФ – Liquid DF. Спреи – Sprays. Индекс обновления – Renewal index

Fig. 2. The macroprofile of the Russian pharmaceutical market of medicinal drugs used in treating acute viral respiratory infections in pregnant women, %

Thus, the analysis of the Russian pharmaceutical market revealed a significant number of drugs used for the treatment of ARVI. However, the range of drugs permitted or possible for use in pregnant women is only 11% of total range of drugs, which requires, in our opinion, the development of government decisions on the introduction of drugs with a high safety threshold possible for use in pregnant women on the Russian pharmaceutical market.

References

1. Lytkina I.N., Malyshev N.A. Prevention and treatment of influenza and acute respiratory viral infections among epidemiologically significant populations // Attending physician. 2010. No. 10. Pp. 10-11.
2. Medico-demographic indices of the Russian Federation. Statistical Handbook. Moscow: Ministry Of Healthcare Of Russia, 2013. P. 112.
3. Murashko Yu.I., Spichak I.V. Medico-social characteristics of pregnant women // Materials of scientific conference of students and young scientists with international participation «Youth science and modernity», dedicated to the 79th anniversary of the KSMU. April 16-17, 2014. In 3 parts. – Kursk: GBOU VPO KSMU, 2014. – p. 416.
4. Spichak I.V., Murashko Yu.I. Analysis of pharmaceutical care to pregnant women with ARVI in outpatient conditions // Actual problems of humanitarian and natural sciences. 2014. No. 6-1. Pp. 98-101.

5. Spichak I.V., Murashko Yu.I. Medico-social portrait of a pregnant woman with acute respiratory viral infection // Biology – science of XXI century: the 18th international school conference of young scientists (Pushchino, Russia, April 21-25, 2014). Collection of abstracts.

6. Spichak I.V., Murashko Yu.I., Trukhanova E.O. Development of medico-social portrait of pregnant women having suffered ARVI // Pharmaceutical cluster as the integration of science, education and production of the collection of materials of IV Intern. scientific. conf. in the framework of the scientific session: NRU «BelSU», Belgorod, April 9-16, 2014; under the editorship of Professor I.V. Spichak. – Belgorod: Publishing house «Belgorod» NRU «BSU», 2014. – P. 26.

7. Trukhan D.I., Viktorova I.A. Diseases of the respiratory system // Internal medicine. Specialized Literature: 2013. p. 176.

8. Federal state institution of health «Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor of the Russian Federation» URL: <http://www.fcgsen.ru> (accessed date: 02.12.2015).

9. Shekhtman M.M. Guide on extragenital pathology in pregnant women: practical guide. Triad – X, 2005. P. 816.

10. Nicholson K. G. Managing influenza in primary care: Science. 1999. 106 p.

УДК 615.322 : 615.89

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-97-101

Новиков О.О.¹
Писарев Д. И.²
Жилякова Е. Т.³
Трифонов Б.В.⁴
Новикова М.Ю.⁵
Корниенко И. В.⁶

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ НАТУРОЦЕПТИКИ

1) заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, профессор. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: novikov@bsu.edu.ru

2) доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, доцент Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

3) заведующая кафедрой фармацевтической технологии, доктор фармацевтических наук, профессор Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru

4) заведующий кафедрой стоматологии общей практики, доктор медицинских наук, профессор Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: trifonov@bsu.edu.ru

5) доцент кафедры фармацевтической технологии, кандидат фармацевтических наук Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: mnovikova@bsu.edu.ru

6) ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: indina@bsu.edu.ru

Аннотация. Сегодня человечество переживает очередной виток интереса к натуроцептике и изучение новых видов растительного сырья, введение их в официальную медицину в виде лекарственных средств и биологически активных пищевых добавок становится как нельзя своевременным и разумным. В этой связи, в поле нашего зрения попали яркие представители голосеменных растений – можжевельники. Однако в настоящее время в отечественной научной медицине практическое применение находит только можжевельник обыкновенный – *J. communis* L., плоды которого (шишкоягоды) включены в ГФ XI издания в качестве диуретического средства. Использование в медицине других видов можжевельника не предусмотрено нормативной документацией. Представленные в данной статье материалы, достаточно убедительно доказывают на примере растений рода *Juniperus* L. перспективность не только дальнейшего предметного изучения огромного числа растений с позиций фармакогнозии и лекарствоведения в целом, но и необходимость глубокого анализа ранее обретенных знаний, в том числе эмпирически полученных данных, рецептов народной медицины. В этой связи представляется правомочным введение в фармацевтику нового глобального направления и соответствующего термина «Фармацевтический ремейк».

Ключевые слова: натуроцептика, фитопрепараты, можжевельник обыкновенный.

Novikov O.O.¹
Pisarev D.I.²
Zhilyakova E.T.³
Trifonov B.V.⁴
Novikova M. Yu.⁵
Kornienko I.V.⁶

DEVELOPMENT PROSPECTS OF NATUROTSEVTIKA

- 1) Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Head of Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia.
E-mail: novikov@bsu.edu.ru
- 2) Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: pisarev@bsu.edu.ru
- 3) Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Head of Department of Pharmaceutical Technology Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia.
E-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru
- 4) Doctor of Medical Sciences, Professor. Head of Department of General Practice Dentistry Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: trifonov@bsu.edu.ru
- 5) PhD in Pharmaceutical Sciences, Associate Professor. Department of Pharmaceutical Technology Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia.
E-mail: mnovikova@bsu.edu.ru
- 6) Assistant Lecturer. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: indina@bsu.edu.ru

Abstract. Today, humanity is experiencing another round of interest in naturaceutics. The study of new types of plant materials and their introduction into the official medicine in the form of drugs and biologically active food substances become vital and reasonable. In this regard, our attention was given to the outstanding representatives of the gymnosperms – the junipers. However, at present, the only representative of the Junipers used in practice by the domestic scientific medicine is *J. communis* L., whose fruits (cypress cones) are included in the GF XI edition as a diuretic. The use of other types of juniper in medicine is not provided by the regulatory documentation. The materials presented in this article use the example of the genus *Juniperus* L. to convincingly prove the viability of further special studies of a huge number of plants from the standpoint of pharmacognosy and pharmacology in general, and the need for a thorough analysis of the previously obtained knowledge, including empirically obtained data and the recipes of folk medicine. In this connection, we suggest the introduction of a new global direction into pharmaceutics and suggest calling it a «Pharmaceutical remake».

Keywords: naturaceutics; phytomedication; *Juniperus communis* L.

Еще в XIX веке медицина имела в своем арсенале лекарственные средства только природного происхождения. Синтетических препаратов практически не существовало. Впоследствии чрезвычайно экспрессно произошел переход на синтетические лекарственные препараты и в настоящее время они доминируют на потребительском рынке. Объективно благодаря этому медики получили явные преимущественные инструменты для интенсивного лечения острых и критических состояний макроорганизма homo sapiens, а также многих хронических заболеваний. Но при этом в значительной степени утерян накопленный веками фитотерапевтический опыт.

Сегодня, когда человечество переживает очередной виток интереса к натуроцевтике,

изучение новых видов растительного сырья, введение их в официальную медицину в виде лекарственных средств и биологически активных пищевых добавок становится как нельзя своевременным и разумным. При этом невозможно не опереться на огромный пласт эмпирических знаний, который предоставляет в наше распоряжение народная медицина.

В свою очередь, по значению для биосферы, по роли в хозяйственной деятельности человека хвойные занимают второе место после покрытосеменных, далеко опережая все остальные группы растений. В то же время, в целом в медицине они используются существенно реже других представителей флоры.

В этой связи, в поле нашего зрения попали яркие представители голосеменных растений – можжевельники.

Очень трудно представить парк или сад без можжевельника. Это лучшее украшение любого сада, его изюминка, неотъемлемая составляющая современного сада. К достоинствам можжевельников следует отнести их долговечность, неприхотливость. Высокорослые можжевельники можно использовать в качестве солитеров, для создания аллей, крупных композиций. Особую ценность представляют введенные в культуру сорта можжевельника с измененным характером роста, необычной формой кроны, типом и окраской хвои. Такие растения обычно имеют небольшую высоту или карликовую форму. Их разнообразное сочетание позволяет создавать миксбордеры из хвойных, использовать их как почвопокровные растения, декорировать ими альпийские и берега водоемов [1].

Можжевельники сегодня стали едва ли не ведущим изобразительным компонентом в ландшафтном дизайне. И не напрасно: самое ценное их качество круглогодичная декоративность. К тому же можжевельник обогащает воздух кислородом, сдерживает сильные порывы ветра, смягчает микроклимат на участке, поглощает шумы, идущие с оживленных улиц, и эффективно поглощает пыль [2].

Можжевельник имеет древнее происхождение. В Древней Греции и Риме его считали верным средством против змей. Там же впервые использовали это растение в качестве лекарственного средства. Ибн Сина считал, что толченые можжевеловые ягоды с медом хорошо заживляют гнойные раны. Можжевельник распространен во всем Северном полушарии, за исключением Крайнего Севера. Под именем *Juniperus* это растение упоминалось еще у древнеримского поэта Вергилия. Карл Линней сохранил его в качестве названия рода.

Можжевельник (верес, яловец, арча, бружделевельник, можжевель, можжуха, тетеревиные ягоды, тетеревиный куст) принадлежит к семейству *Cupressaceae* Bartl. – кипарисовые, подсемейству *Juniperoideae* Endl. – можжевеловые. Это самый крупный род в семействе, объединяющий, по мнению большинства систематиков, около 70 видов, распространенных практически на всех континентах северного полушария. От других представителей семейства этот род отличается значительным полиморфизмом, что дало основание систематикам выделить в нем несколько подродов, секций и серий. Главным отличительным характеристическим признаком рода является наличие ягодообразной шишки, называемой

шишкоягодой, образующейся в результате срастания чешуевидных мегаспорофиллов [3-6].

На Руси можжевельник всегда был обычным и доступным лекарственным средством – рос под рукой, в ближайшем лесу. Ягодам можжевельников приписывают фитонцидные, противовоспалительные свойства. Они способны произвести отхаркивающий эффект, тонизирующий. При нарушении работы пищеварительной системы и кишечника можжевельник может использоваться как сильное слабительное средство. Существует довольно внушительный перечень заболеваний, при которых это удивительное растение принесло огромную пользу. Настой из давленных ягод, называемый можжевеловым чаем, давали при отсутствии аппетита и для поддержания сил, им лечили кашель, желудочные расстройства. Повязки, пропитанные соком ягод, накладывали на раны, отваром спасались при кожных болезнях. Свежие ягоды, порошки и настои из семян употребляли при водянке, подагре, лихорадке, ревматизме. Масло считалось хорошим средством при лечении десен, трещин на коже, при варикозном расширении вен. Поправить здоровье можно было и в баньке, попарившись с можжевеловым веником [7, 8].

Употребляются зрелые (черные с сизым налетом) соплодия обыкновенного можжевельника. Хотя их и принято называть ягодами, на самом деле это мясистые шишечки, построенные из трех мясистых чешуек, заключающих каждая по одному твердому желто-бурому семечку. Мякоть плодов зеленовато-бурая, смолистая и сладкая со своеобразным ароматом [9].

Из древесины отдельных видов можжевельника посредством сухой перегонки добывается эфирное масло (*Oleum cadinum*, «можжевеловый дёготь»), представляющее собою густую темно-бурюю жидкость своеобразного пригорелого запаха. Древесина можжевельников с давних времен использовалась в строительстве домов, кораблей, в мебельной промышленности. Крепкая, мелкослойная, красноватая и смолистая с приятным запахом, эта древесина устойчива против насекомых, хорошо сопротивляется гниению. Из коры ствола и ветвей можжевельников добывают смолу, известную под названием «немецкого сандарака», которая служит для изготовления белого лака.

Давнюю историю имеет применение можжевельника в народной медицине и бытовой санитарии, парфюмерии и даже в магических обрядах. Изделия из можжевельника сохраняют все свойства этого благородного дерева [10].

Эфирное масло незрелых шишкоягод входит в состав иммерсионного масла для

микроскопических исследований и освежающих эссенций [2].

Можжевеловые ягоды, как и можжевеловое дерево, представляют в настоящее время главным образом как народное средство. Причем ягоды наиболее употребимы и применяются и в научной медицине как мочегонное средство, но при воспалении они противопоказаны. Можжевеловые ягоды назначаются также для усиления аппетита подобно другим пряностям: их дают внутрь в виде отваров и настоев; наружно ягоды употребляются при окуривании и в ароматических ваннах. Масло можжевеловых ягод назначают внутрь, как диуретик, и наружно в виде спиртового раствора и в составе мазей для втираний преимущественно в качестве болеутоляющего средства. Древесина можжевельника применяется преимущественно для окуриваний, реже внутрь – в качестве мочегонного средства. Масло можжевелового дерева является в настоящее время исключительно народным средством, применяемым подобно маслу можжевеловых ягод. Из можжевеловых ягод, так как они богаты сахаром, гонят водку, называемую во Франции «Genievte», а в Шотландии «Gin» [11].

Можжевельник – типично польская (славянская) приправа. Чаще всего можжевельник считают пряностью охотников. В домашней кулинарии опытные хозяйки успешно используют ягоды можжевельника для вымачивания мяса домашних животных, отчего оно как бы приобретает вкус дичи из-за тонкого духа хвои, а также для приготовления рыбных маринадов. Раньше и капусту квасили с ягодами можжевельника, от чего ее вкус и аромат были намного лучше.

Все вышесказанное подчеркивает заслуженный многосторонний интерес человечества к растениям рода *Juniperus* L. Однако в настоящее время в отечественной научной медицине практическое применение находит только можжевельник обыкновенный – *J. communis* L., плоды которого (шишкоягоды) включены в ГФ XI издания в качестве диуретического средства. Использование в медицине других видов можжевельника не предусмотрено нормативной документацией [12].

О можжевельниках человечеству известно многое, к сожалению, многое о них забыто, забыто несправедливо и опрометчиво. Но это не единичный случай, связанный с лекарственными растениями, бывшими официальными и не бывшими таковыми. Этому есть объективное объяснение – рынок, рынок и еще раз рынок. Интересы доминирующих мировых фармацевтических компаний зачастую не предполагают бурного развития натуротцеvtики.

Однако, что радует, в последние годы интерес потребителей к натуральным лекарствам и лекарственным продуктам непрерывно растет. А спрос по-прежнему формирует предложение.

В целом препараты из растений обладают определенными особенностями. Они отличаются сложностью химического состава, свойственного растениям и, следовательно, многообразием биологического действия, влияют не на один, а на несколько рецепторов. Не случайно одно и то же растение можно использовать при различных заболеваниях, оно может проявлять и патогенетическое и симптоматическое и иммуностимулирующее действие. Эта активность распространяется на нормализацию функциональных расстройств органов, на нормализацию процессов обмена веществ. Поэтому действие фитопрепаратов проявляется не сиюминутным эффектом, а при длительном применении, что и определяет специфику и ценность этих средств. Наступивший терапевтический эффект от применения природных компонентов более стойкий и длительный [13]. Наряду с этим растительные препараты, чаще, не обладают выраженным аллергизирующим действием. Их применение не дает отрицательных побочных эффектов.

По данным различных источников, количество лекарственных растений достигает 17-20 тысяч, однако официальной медициной пока используется около 300. В последние десятилетия в связи с появлением новой нозологической формы – «лекарственной болезни» – актуальность применения препаратов из растительного сырья возрастает непомерно.

Представленные в данной статье материалы, на наш взгляд, достаточно убедительно доказывают на примере растений рода *Juniperus* L. перспективность не только дальнейшего предметного изучения огромного числа растений с позиций фармакогнозии и лекарствоведения в целом, но и необходимость глубокого анализа ранее обретенных знаний, в том числе эмпирически полученных данных, рецептов народной медицины. Пусть не все, но многое «новое» это, как известно, давно забытое «старое».

В этой связи и заключая вышесказанное, представляется правомочным введение в фармацевтику нового глобального направления и соответствующего термина «Фармацевтический ремейк».

Под термином «Фармацевтический ремейк» предлагается понимать комплекс традиционных и инновационных технологических, аналитических и фармакологических операций (моделей),

приводящих к возрождению ранее известных и ныне не используемых лекарственных составов и форм.

Хочется отметить, что данный путь расширения номенклатуры лекарственных средств выглядит достаточно рациональным и малозатратным, ибо нет необходимости заниматься полномасштабным научным поиском.

Литература

1. Александрова М.С. Хвойные растения в вашем саду. М.: Фитон, 2000. 120 с.
2. Экофарм. Ландшафтный дизайн [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://ekofarm-kramar.com.ua/landshaftnij_dizajn.html (дата обращения 16.10.2013).
3. Алексеев Ю.Е., Жмылёв П.Ю., Карпухина Е.А. Деревья и кустарники. Энциклопедия природы России. М.: ABF, 1997. 592 с.
4. Жизнь растений / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1980. Т. 4. 447 с.
5. Исмаилов М.И. Ботанико-географический обзор можжевельников в связи с их происхождением и развитием // Вопросы экологии и географии растений. Душанбе, 1974. С. 3-80.
6. Козубов Г.М., Муратова Е.Н. Современные голосеменные (морфолого-анатомический обзор и кариология). Л.: Наука, 1986. 192 с.
7. Можжевельник в народной медицине [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://www.bestgardener.ru/gardening/mojjzevelnik_02.shtml (дата обращения 16.10.2013).
8. Ваш айболит [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: <http://www.vashaibolit.ru/> (дата обращения 16.10.2013).
9. Можжевельник и его использование в народной медицине [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: <http://www.vashaibolit.ru/3034-mozhzhevelnik-i-ego-ispolzovanie-v-narodnoy-medicine.html> (дата обращения 16.10.2013).
10. Можжевельник, Juniper [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: <http://ukrspice.kiev.ua/special/juniper.html> (дата обращения 16.10.2013).
11. Можжевельник обыкновенный [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: <http://shitovidki.ru/rastenii/50-2010-04-14-17-49-49> (дата обращения 16.10.2013).

12. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. 11-е изд., доп. М.: Медицина, 1991. 397 с.

13. Мануйлов Б.М. Некоторые особенности фитотерапии в стоматологии. М., 2005. 57 с.

References

1. Alexandrova M., Conifers in your Garden. M.: Fiton, 2000. 120 p.
2. Ecopharm. Landscaping Access: URL: http://ekofarm-kramar.com.ua/landshaftnij_dizajn.html (date of access: October 16, 2013).
3. Alekseev Yu.E., Zhmylev, P.Yu., Karpukhina, E.A. Trees and Shrubs. Encyclopedia of Russian Nature. M.: ABF, 1997. 592 p.
4. The life of Plants / Ed. A.L. Takhtadzhyan. M.: Education, 1980. T.4. 447 p.
5. Ismailov M. Botanical and Geographical Survey of Juniper Due to their Origin and Development // Questions of ecology and plant geography. Dushanbe, 1974, Pp. 3-80.
6. Kozubov G.M., Muratova, E.N. Modern Gymnosperms (morphological and anatomical review and karyology). L.: Science, 1986. 192 p.
7. Juniper in Folk Medicine [Electronic resource]. Access: URL: http://www.bestgardener.ru/gardening/mojjzevelnik_02.shtml (date of access October 16, 2013).
8. Your Aibolit [Electronic resource]. Access: URL: <http://www.vashaibolit.ru/> (date of access October 16, 2013).
9. Juniper and its Use in Traditional Medicine [Electronic resource]. Access: URL: <http://www.vashaibolit.ru/3034-mozhzhevelnik-i-ego-ispolzovanie-v-narodnoy-medicine.html> (date of access October 16, 2013).
10. Juniper [Electronic resource]. Access: URL: <http://ukrspice.kiev.ua/special/juniper.html> (date of access October 16, 2013).
11. Juniperus [Electronic resource]. Access: URL: <http://shitovidki.ru/rastenii/50-2010-04-14-17-49-49> (date of access October 16, 2013).
12. State Pharmacopoeia of the USSR. General Methods of Analysis. Medicinal Herbs. 11th ed. Vol. 2. M.: Medicine, 1991. 397 p.
13. Manuilov, B.M. Some Features of Herbal Medicine in Dentistry. M., 2005. 57 p.

УДК 615.1

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-102-108

Спичак И.В.¹
Кухтина О.С.²
Акулова Н.А.³

**МАРКЕТИНГОВЫЙ АНАЛИЗ РЫНКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ПРЕПАРАТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ТЕРАПИИ ВЕГЕТОСОСУДИСТОЙ
ДИСТОНИИ У ДЕТЕЙ**

- 1) доктор фармацевтических наук, профессор кафедры управления и экономики фармации. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия
- 2) ассистент кафедры управления и экономики фармации. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия
- 3) студентка фармацевтического факультета. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ БелГУ»), ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: Kukhtina@bsu.edu.ru

Аннотация Проведено маркетинговое исследование российского рынка лекарственных препаратов (ЛП), применяемых в терапии вегетососудистой дистонии у детей. Результаты контент-анализа показали, что на российском фармацевтическом рынке зарегистрировано 1198 лекарственных препаратов. Изучена структура лекарственных препаратов по странам-производителям, происхождению, составу, формам выпуска. Установлены основные показатели и тенденции развития ассортимента лекарственных средств.

Ключевые слова: фармацевтический рынок, вегетативная дисфункция, маркетинговое исследование, лекарственные средства.

Spichak I.V.¹
Kukhtina O.S.²
Akulova N.A.³

**MARKETING ANALYSIS OF THE MARKET OF MEDICINES USED
IN THE TREATMENT OF DYSTONIA IN CHILDREN**

- 1) Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Department of Management and Economics of Pharmacy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: spichak@bsu.edu.ru
- 2) Assistant Lecturer. Department of Management and Economics of Pharmacy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: Kukhtina@bsu.edu.ru
- 3) 5th Year Student. Faculty of Pharmacy. Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: akulovanadezhda1111@gmail.com

Abstract. The authors conducted a market research of the Russian market of medicinal preparations used in the therapy of vegetovascular dystonia. The results of the content analysis demonstrate that 1198 medicinal preparations are registered in the State Register of Medicinal Remedies. The structure of manufacturer countries, the origin, composition, and forms were analyzed. The core indicators and development trends of the range of medicinal preparations were cleared up.

Keywords: pharmaceutical market; autonomic dysfunction; marketing research; pharmaceuticals.

В любых социально-экономических и политических условиях состояние здоровья детей и подростков является актуальной государственной проблемой [4, 7, 8, 10]. Согласно статистическим данным, лишь 10-15 % детей можно считать практически здоровыми, у остальных наблюдаются те или иные морфологические и функциональные отклонения, хронические заболевания [5, 6]. Неадекватное лечение детей на ранних этапах функциональных и метаболических нарушений в перинатальном периоде, отсутствие динамического диспансерного наблюдения в критические периоды прогрессирования патогенетических признаков у таких детей; формальная реабилитация в посттравматическом периоде, приводят к более тяжелому течению и более раннему дебюту неврологических заболеваний [1].

Синдром вегетативной дисфункции (СВД) включает в себя проявление всех форм нарушения вегетативной регуляции. Проблема остается актуальной, так как распространенность вегетативных дисфункций у детей и подростков весьма значительна и колеблется от 29,1 до 82% у населения.

Фармакотерапия данной нозологии предусматривает применение значительного ассортимента лекарственных средств из различных клинико-фармакологических групп.

Современный фармацевтический рынок России характеризуется неуклонным ростом товарной номенклатуры. Это существенно увеличивает возможность выбора необходимых лекарственных препаратов, для лечения синдрома вегетативной дисфункции у детей, с учетом современных подходов фармакотерапии различных патологических состояний, индивидуальных особенностей течения болезней, потребительских предпочтений конечных потребителей [2].

Важным является изучение тенденций формирования российского фармацевтического рынка путем проведения маркетинговых исследований ассортимента препаратов, для лечения вегетативных расстройств у детей [9].

Целью настоящего исследования являлось анализ Российского рынка лекарственных препаратов, применяемых при лечении синдрома вегетативной дисфункции у детей.

Материалы и методы. Объектами исследования явились официальные источники информации о зарегистрированных и разрешенных к медицинскому применению ЛС в РФ: Государственный реестр ЛС; Регистр ЛС России; Справочник Видаль 2009-2015 гг.

Методы исследования: контент-анализ, группировки, ранжирования, структурный, сравнения.

Обсуждение результатов исследования. Информационный массив лекарственных средств составил 1198 лекарственных препаратов, 121 торговое наименование и 31 международное непатентованное наименование лекарственных средств из 5 классификационных групп.

В ходе маркетингового исследования определена структура ассортимента, которую формируют 5 классификационных групп ЛП, применяемых для лечения СВД у детей, согласно АТХ-классификации. Лидирующую позицию занимает группа N «Препараты для лечения заболеваний нервной системы» – 66,7%, вторую позицию – группа C «Препараты для лечения заболевания сердечно-сосудистой системы» – 20,0%, третью позицию – препараты группы A «Препараты, влияющие на пищеварительный тракт и обмен веществ», на которые приходится 6,7% в общем объеме ассортимента.

В ходе детального внутригруппового анализа группы N – «Препараты для лечения заболеваний нервной системы» установлено, что ее формируют 6 подгрупп ЛП. Лидирующую позицию занимает группа N06B – «Психостимуляторы и ноотропы» – 65,9%. На второй позиции группа N05C «Снотворные и седативные средства» – 16,6%. Третья позиция приходится на группу N06A «Антидепрессанты» – 11,4%.

Сегментационный анализ по производственному признаку показал преобладание доли лекарственных препаратов отечественного производства – 69,87%, остальные 30,13% – зарубежные препараты. Как видно из рис. 2., рынок препаратов для лечения СВД у детей представлен товарами 18 стран-производителей. Лидерами по предложению ЛП, применяемых при СВД у детей являются: Российская Федерация – 69,87%, Индия – 12,52%, Германия – 3,92%.

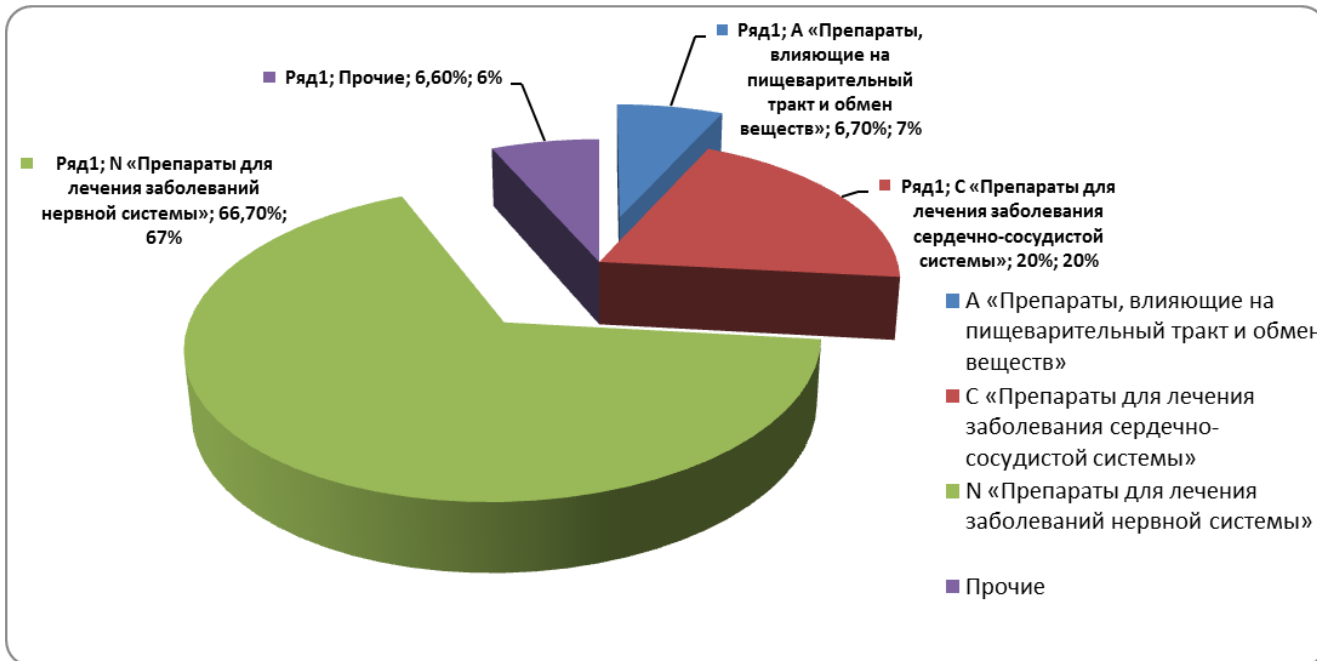


Рис. 1. Структура ассортимента лекарственных препаратов, для лечения СВД у детей по лидирующим группам согласно АТХ-классификации, %

Figure 1. Structure of the range of medicinal preparations used in the therapy of vegetovascular dystonia according to ATC-code, %

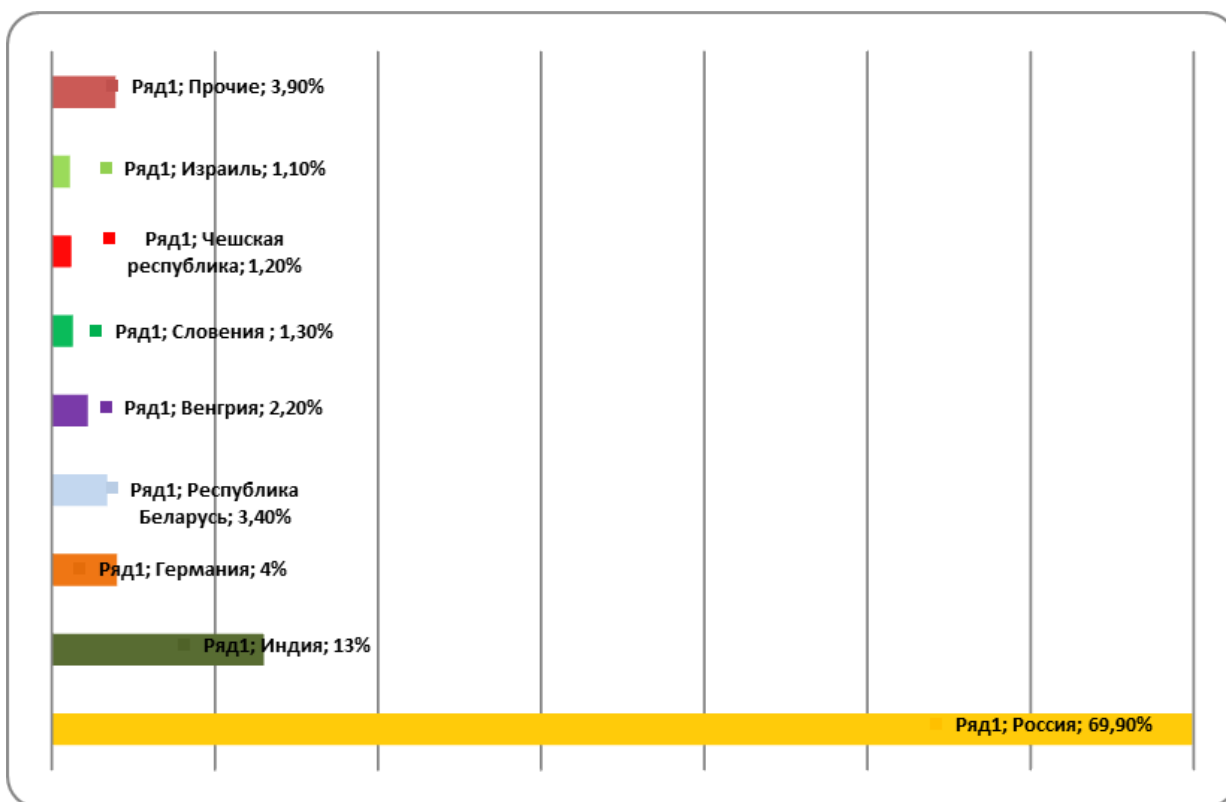


Рис. 2. Сегментирование ассортимента лекарственных препаратов для лечения СВД у детей по странам-производителям, %

Figure 2. Segmentation of the range of medicinal preparations used in the therapy of vegetovascular dystonia in children according to manufacturer countries, %

В ассортименте ЛС выявлены монокомпонентные и комбинированные препараты сложного состава. В общей структуре доминирующая часть принадлежит монокомпонентным лекарственным средствам, что составляет 99,0%, комбинированные – 1,0% соответственно.

Лекарственные препараты, для лечения СВД у детей выпускаются в различных лекарственных формах (рис. 3). Сегментирование ассортимента по виду лекарственной формы выявило, что доля твердых форм для лечения синдрома

вегетативной дисфункции у детей в общей структуре ассортимента составляет 85,1%, жидких – 14,6%, мягких – 0,3%.

Наибольший удельный вес в общей номенклатуре занимают твердые лекарственные формы: таблетки – 513 препаратов (50,3%), таблетки, покрытые оболочкой – 207 препарата (20,3%), таблетки, покрытые пленочной оболочкой – 128 препаратов (12,5%), удельный вес остальных твердых лекарственных форм – 17,2 % (172 лекарственных препарата).

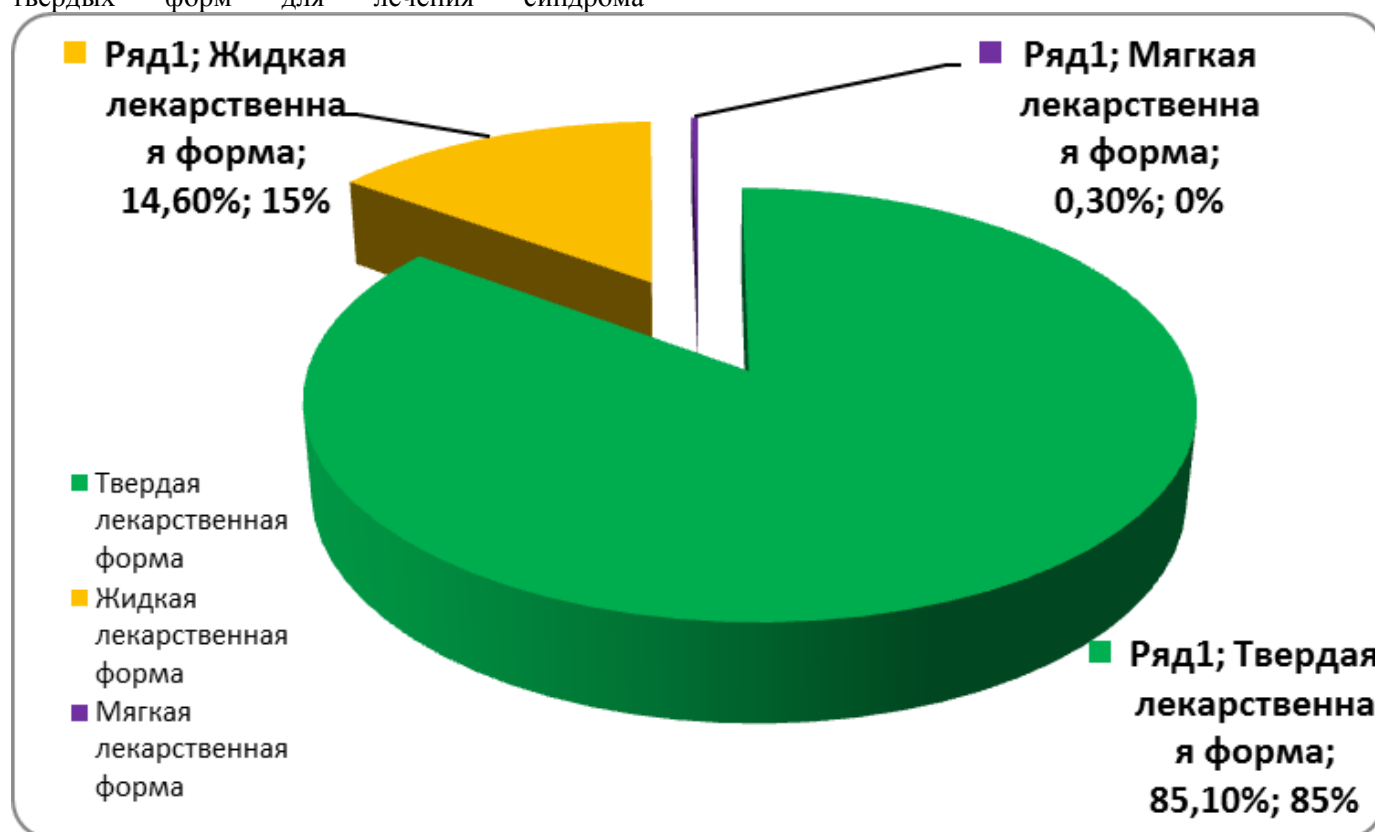


Рис. 3. Сегментирование ассортимента лекарственных препаратов для лечения СВД у детей по лекарственным формам, %

Figure 3. Segmentation of the range of medicinal preparations used in the therapy of vegetovascular dystonia in children according to dosage forms, %

Далее осуществлен анализ регистрации лекарственных средств, который позволил установить, что на российском рынке за исследуемые 2010-2015 гг. зарегистрировано 497 препаратов для лечения ВСД у детей. Обновление ассортимента составило 41,4%, что свидетельствует о благоприятных тенденциях развития данного сегмента.

В результате анализа сформирован ассортиментный макроконтур рынка лекарственных средств, применяемых при лечении СВД у детей, который представлен, в основном,

препаратами для лечения заболеваний нервной системы (66,7%), лидирующее место среди которых занимают психостимуляторы и ноотропы (65,9%). По производственному признаку преобладают препараты отечественного производства (69,8%). Изучаемый ассортимент в 85,1% случаев представлен твердыми лекарственными формами, преимущественно в виде таблеток (50,3%). В общей структуре российского рынка доминируют монопрепараты (99%). Обновление составляет 41,4% (рис. 4).



Рис. 4. Ассортиментный макроконтур российского фармацевтического рынка препаратов, применяемых при лечении СВД, %

Figure 4. The range of Russian pharmaceutical market of drugs used in the treatment of vegetatovascular dystonia, %

Выводы:

Отечественный фармацевтический рынок предлагает целевому сегменту потребителей значительный ассортимент лекарственных препаратов для лечения данной нозологии. На нем присутствуют преимущественно препараты отечественного производства, в различных ценовых категориях, что представляет значительный интерес для семей, воспитывающих детей.

Литература

1. Андреева Н.А. Маркетинговый анализ рынка лекарственных препаратов седативного действия / Андреева Н.А., Ивченко О.Г., Кабакова Т.И. // *Фундаментальные исследования*. 2011. №10.
2. Азизова Ф. Л. Заболеваемость детей и подростков с нарушениями опорно-двигательного аппарата / Ф. Л. Азизова // *Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2011. Т. 9. № 1. С. 145–151.
3. Гончарова О.В., Соколовская Т.А. Заболеваемость детей 0-14 лет в Российской Федерации: лонгитудинальное и проспективное исследование / О.В. Гончарова, Т.А. Соколовская // *Медицинский совет*. 2014. №6.

4. Заболеваемость детского населения России (итоги комплексного медико-статистического исследования) / А.А. Баранов, В.Ю. Альбицкий, А.А. Модестов, С.А. Косова, В.И. Бондарь, И.М. Волков // *Здравоохранение Российской Федерации*. 2012. № 5. С. 21-26.
5. Ляпин В.А. Медико-социальные и гигиенические аспекты формирования здоровья населения в крупном промышленном центре Западной Сибири: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Омск, 2006.
6. Ляпин В.А. Социально-значимая патология детского населения промышленного центра Западной Сибири / В.А. Ляпин // *Сибирь-Восток*. 2005. № 3. С. 9-11.
7. Морохина С.А. Изучение седативного эффекта успокоительных сборов / С.А. Морохина, Р.Н. Аляутдин, А.А. Сорокина // *Фармация*. 2010. №6.
8. Новикова И.И. Гигиеническая оценка влияния среды обитания крупного промышленного города на здоровье детей и подростков / И.И. Новикова // *Здоровье населения и среда обитания*. 2005. № 10. С. 38.
9. Панкратова О.Г., Спичак И.В. Анализ фармацевтического рынка лекарственных средств для лечения отитов / Панкратова О.Г., Спичак И.В. // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. – 2010. №3. С.157-159.

10. Потапов А.И. Только здоровая Россия может стать сильной / А.И. Потапов // Здравоохранение Российской Федерации. 2009. № 2. С. 3–6.

References

1. Andreeva N.A. Ivchenko O.G., Kabakova, I.T. Marketing Analysis of the Market of Sedative Drugs // Fundamental research. 2011. No. 10.

2. Azizova, F. L. Morbidity of Children and Adolescents with Disorders of the Musculoskeletal System // Vestnik of Novosibirsk state University. Series: Biology, clinical medicine. 2011. V. 9. N. 1. Pp. 145-151.

3. Goncharova O. V., Sokolovsky T. A. Morbidity of Children of 0-14 years in the Russian Federation: Longitudinal and Prospective Research // The Medical Council. 2014. N. 6

4. The Morbidity of Children Population in Russia (results of the integrated medical-statistical studies) / A. A. Baranov, V. Y. al'bitskiy, Modestov A. A., Kosova S. A., Bondar V. I., Volkov I. M. // Healthcare Service of the Russian Federation. 2012. N 5. Pp. 21-26.

5. Lyapin V.A. Medico-social and Hygienic Aspects of the Formation of Health in the Population in a Large Industrial Center of Western Siberia: synopsis of a thesis Dr.scient.med. Omsk, 2006.

6. Lyapin V.A. A Socially Significant Pathology of the Child Population of an Industrial Center of Western Siberia // Siberia-East. 2005. No. 3. Pp. 9-11.

7. Morochina S.A., Alyautdin R.N., Sorokina A.A. The Study of a Sedative Effect of Sedative Herbal Medicines // Pharmacy. 2010. No. 6.

8. Novikova I.I. Hygienic Evaluation of the Influence of Habitat of a Large Industrial City on the Health of Children and Adolescents // Public Health and environment. 2005. N 10. P. 38.

9. Pankratova, O. G., Spichak I. V. Analysis of the Pharmaceutical Market of Medicines for the Treatment of Otitis // Kursk Scientific and Practical Bulletin «Man and his Health». 2010. №3. P p. 157-159.

10. Potapov A.I. Only Healthy Russia can Become Strong // The Healthcare Service of the Russian Federation. 2009. N. 2. Pp. 3-6.

УДК 615.1

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-108-112

Спичак И.В.¹
Лапшина Л.А.²

**ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОГРАММЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
НЕОБХОДИМЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СРЕДСТВАМИ
НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ**

1) доктор фармацевтических наук, профессор кафедры управления и экономики фармации

2) ассистент кафедры управления и экономики фармации

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ БелГУ), ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: lapshina_1@bsu.edu.ru

Резюме. Проведена оценка эффективности реализации программы ОНЛС в Белгородской области. Изучены материалы проверок медицинских организаций, данные мониторинга реализации программы ОНЛС. Выявлены существенные проблемы в реализации программы и её неэффективность в целом и вследствие этого возможность ухудшения показателей здоровья населения региона.

Ключевые слова: программа ОНЛС, лекарственные средства, государственная социальная помощь.

Spichak I.V.¹
Lapshina L.A.²

**STUDYING THE EFFICIENCY OF THE ESSENTIAL DRUGS SUPPLY
PROGRAM IN BELGOROD REGION**

1) Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Department of Management and Economics of Pharmacy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: spichak@bsu.edu.ru

2) Assistant Lecturer. Department of Management and Economics of Pharmacy

Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: lapshina_1@bsu.edu.ru

Abstract. The authors have studied the efficiency of the Essential Drugs Supply Program (EDSP) in Belgorod Region. After reviewing the results of inspections in medical institutions and the data of the EDSP monitoring there were identified significant problems in the implementation of the Program and its efficiency as a whole, and therefore the possibility of deterioration of health indicators in the region.

Keywords: pharmaceutical aid; pharmaceuticals; state social support.

Право на получение государственной социальной помощи отдельными категориями граждан Российской Федерации определено Федеральным законом от 25.06.1999 №178-ФЗ «О государственной социальной помощи» (в редакции Федерального закона от 22.08.2004 №122-ФЗ) [1]. Система дополнительного лекарственного обеспечения (далее – ДЛО) граждан введена на территории, как Российской Федерации, так и Белгородской области с 1 января 2005 г. Основной целью этой программы является полное, качественное и своевременное обеспечение отдельных категорий граждан лекарственными средствами (ЛС); обеспечение контроля за выпиской, выдачей и оплатой выделенных на нужды льготников лекарственных

средств; разграничение и структурирование функций федеральных и региональных органов власти в области льготного обеспечения в рамках единой стратегии. Программа ДЛО – одна из крупнейших программ в здравоохранении [10, 5]. Изначально в нее были включены все граждане Российской Федерации, относящиеся к категории лиц, имеющих право на получение государственной социальной помощи. В 2006 г. гражданам предоставлено право выбора: лекарственная помощь или денежная компенсация. В результате в программе остались лица, имеющие хронические формы заболеваний и постоянно испытывающие необходимость в приеме лекарств (зачастую дорогостоящих) [8].

В 2008 г. в соответствии с Федеральным законом от 18.10.2007 г. №230-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации в связи с совершенствованием разграничения полномочий», полномочия по проведению аукционов на размещение государственного заказа на поставку ЛС, необходимых для обеспечения отдельных категорий граждан, переданы в субъекты РФ. Эта программа получила название ОНЛС – «обеспечение необходимыми лекарственными средствами» [2, 6]. Она позволила обеспечить пациентов жизненно важными лекарственными средствами. По ряду нозологий, таких как сахарный диабет, гемофилия, онкология, рассеянный склероз и др., значительно улучшилось лекарственное обеспечение. Программа оказала серьезное влияние также на развитие фармацевтического рынка в целом. При этом произошла значительная активизация отечественной фармпромышленности [7, 9].

В ходе реализации программы ОНЛС возникают различные проблемы: от организационных, связанных с очередями в лечебно-профилактических учреждениях и аптеках, проблемах с выпиской рецептов до проблем с финансированием, дефектурой, назначением ЛС, не включенных в Перечень лекарственных средств для льготного отпуска («Перечень»), качеством определения потребности, отсутствием должного контроля за результатами проводимой терапии и др. [3, 4].

Цель исследования: изучение эффективности реализации программы обеспечения необходимыми лекарственными средствами (ОНЛС) на территории Белгородской области (БО).

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явилась программа ОНЛС Белгородской области. Источниками информации служили: данные материалов проверок медицинских организаций, проведенных Департаментом здравоохранения и социальной защиты населения Белгородской области, данные мониторинга реализации программы ОНЛС в Белгородской области. Методы исследования: социологический опрос, группировки, сравнения, контент-анализ, системный подход, структурно-функциональный анализ.

Результаты исследования. Одним из наиболее важных показателей эффективности функционирования системы льготного лекарственного обеспечения являются обращения граждан. Жалобы на недостаточное обеспечение

жизненно необходимыми и важнейшими ЛП поступают от льготополучателей всех категорий (федеральных и региональных).

За 2015 г. в Департамент здравоохранения и социальной защиты населения БО поступило 237 письменных обращений по вопросу обеспечения ЛП, что составляет 12 % от общего количества обращений. Поскольку за этот же период 2014 г. данный показатель составлял 15,5 %, то наблюдается незначительная тенденция снижения количества обращений по вопросу предоставления лекарственной помощи. Анализ обращений показывает, что превалирует желание получить определенное торговое наименование, а также назначение ЛП, не включенных в перечень для льготного отпуска (табл. 1).

Таблица 1

Сведения о выявленных нарушениях в амбулаторно-поликлинических организациях БО

Table 1

The problems identified in outpatient facilities in Belgorod Region

	2013г.	2014г.	2015г.
Количество амбулаторно-поликлинических организаций	171	168	169
Количество медицинских амбулаторных карт	189	122	131
Количество федеральных льготников	48369	47916	45146
Количество врачей, занятых выпиской льготных рецептов	1950	2045	2068
Выявлены нарушения:			
назначение льготного ЛП без осмотра больного	2,8%	1,7%	1,4%
назначение ЛП без проведения дополнительных методов обследований	2,6%	4,1%	8,9%
отсутствие записи консультаций узких специалистов	1,3%	-	3,8%
назначение 5 и более ЛП одновременно	1,1%	-	-
назначение льготного ЛП без указания способа применения	3,4%	5,1%	1,8%
нерациональное комбинирование ЛП	1,5%	2,0%	0,5%
назначение на одного больного ЛП, превышающих курсовую дозу приемов	1,1%	0,9%	0,4%
число ЛП, назначенных не по МНН	0,5%	-	-
назначение ЛП, не входящих в стандарты медицинской помощи	0,7%	2,5%	0,6%

Наибольшее количество нарушений в 2015 г. составили нарушения при выписке ЛП без

проведения дополнительных методов обследований (8,9 %) и отсутствие записи консультаций узких специалистов (3,8 %). Отмечается увеличение нарушений, связанных с назначением ЛП без проведения дополнительных методов обследования, предусмотренных стандартом медицинской помощи, назначением льготного ЛП без указания способа применения, нерациональное комбинирование ЛП.

С целью изучения эффективности реализации программы ОНЛС отдельных категорий граждан в БО проведен социологический опрос 250 респондентов,

получавших ранее льготные ЛП, а впоследствии отдавших предпочтение денежной компенсации и 300 льготополучателей, оставшихся в программе ОНЛС. Результаты опроса показали, что основная причина отказа (33 %) от льготных ЛП в пользу денежной компенсации обусловлена простотой и удобством ее получения, поскольку отдав предпочтение компенсации, людям не приходится тратить время на прием к врачу за получением рецепта и тратить время на ожидание необходимого выписанного льготного ЛП в аптечной организации (АО) и т.п. (таблица 2).

Таблица 2

Причины выбора денежной компенсации взамен лекарственного обеспечения

Table 2

The causes of selecting financial compensations instead of drug supplies

Причины	Доля, %
Нет необходимости стоять в очереди к врачу за получением льготного рецепта, Отсутствие необходимости обновления рецептов в поликлинике, Удобство и простота системы денежной компенсации	33
Отсутствие в Перечне необходимых ЛП	22
Частое отсутствие ЛП по льготному рецепту АО, Нет необходимости ожидания льготного ЛП в АО	16
Возможность самостоятельного выбора нужного ЛП без привязки к Перечню	8
Возможность приобретения эффективных, оригинальных ЛП	7
Компенсация является дополнительным финансовым источником	6
Приобретение ЛП на собственные средства	3
Возможность пользоваться любой АО	2
Другое	3

Свыше 22% опрошенных отметили отсутствие необходимых ЛП в «Перечне», и практически столько же участников опроса указали на частое отсутствие ЛП по льготному рецепту в АО и ожидание льготного ЛП. Около 6% участвующих в опросе граждан, высказали мнение о том, что система компенсаций позволяет купить те ЛП, которые действительно необходимы без привязки к «Перечню».

Серьезной причиной выхода из программы ОНЛС является наличие в «Перечне» дешевых, малоэффективных, дженерических ЛП, в результате большим приходится покупать за собственные деньги более дорогостоящие аналоги. Почти половина опрошенных граждан (44 %), получающих льготные ЛП, готовы потенциально выйти из программы ОНЛС при определенных условиях (таблица 3).

Таблица 3

Причины отказа от льготных ЛП жителями БО

Table 3

The causes of refusals from subsidized medicines by patients in Belgorod Region

Причины отказа	Доля, %
Соглашусь (всего 43%)	
Если компенсация полностью покрывает стоимость всех необходимых ЛП	18
При наличии больших очередей к врачу за получением льготного рецепта	7
При необходимости долгого ожидания ЛП по льготным рецептам в аптеке	6
При отсутствии роста цены на ЛП	4
При оказании помощи в оформлении компенсации	3
При условии, что компенсация будет выгоднее льгот	2
Если необходимые ЛП будут отсутствовать в Перечне	3
Нет (всего 57%)	
Ни при каких условиях	29
Поскольку стоимость ЛП выше, чем размер компенсации, а возможность покупать ЛП за свой счет отсутствует	8
Ввиду наличия серьезного заболевания, сопровождающегося дорогостоящим лечением	6
Наличие нескольких заболеваний	5
Поскольку льготы выгоднее компенсации	3
Все устраивает	3
Поскольку часто приходится лежать в больнице и денежных компенсаций не хватает на лечение	2
Надежность льготного обеспечения	1

Более половины участников опроса (57%) не согласились бы променять право их бесплатного получения на денежную компенсацию, а 29 % респондентов заявили, что не перейдут на денежную компенсацию ни при каких условиях, мотивируя это недостаточным размером денежной компенсации, которая не покрывает стоимости необходимого количества ЛП, а также наличием серьезного заболевания, требующего применения дорогостоящих

ЛП. 100 % респондентов не устраивает постоянный рост цен на ЛП. Часть больных готова перейти на компенсацию и планирует это сделать в ближайшее время, если им будет оказана помощь в оформлении такого перехода. При этом все респонденты обуславливают свой переход рядом дополнительных пожеланий, перечень которых в порядке убывания значимости приведен в таблице 4.

Таблица 4

Анализ возможных причин возврата в программу ОНЛС

Table 4

Analysis of possible causes of returning to the Essential Drugs Supply Program

Причины	Доля,%
Да (всего 47 %)	
Если все нужные ЛП будут входить в Перечень льготных	12
При наличии ЛП в аптеках и их выдаче при первом обращении в аптеку с рецептом	7
При резком росте цен на необходимые препараты	7
При превышении стоимости необходимых ЛП над стоимостью компенсации	5
В случае упрощения процедуры получения рецепта у врача и получения ЛП в АО	4
При увеличении срока действия рецепта	4
При изменении самой программы, если она будет более продумана	3
При выписывании дорогих качественных оригинальных ЛП, а не дешевых аналогов	2
При доставке ЛП на дом	2
При отсутствии проволочки с оформлением льгот	1
Нет (всего 53%)	
Ни при каких условиях	29
Все устраивает	7
Компенсации получать удобнее, чем льготы, поскольку предпочитаю покупать те препараты, которые выбираю самостоятельно	5
Из-за частого отсутствия льготного ЛП в аптеке	4
Поскольку врачи выписывают дешевые аналоги	3
Поскольку отсутствуют необходимые ЛП в Перечне	2
Поскольку программа льготных ЛП не отлажена	1
В связи с необходимостью приобретать основную часть ЛП за свой счет	1
Трата значительного объема времени на посещение врача	1

Изучение возможности отказа от денежных компенсаций в пользу льготных ЛП показало, что основная доля больных считает это возможным при условии наличия необходимых ЛП в «Перечне», при резком росте цен на необходимые ЛП, при превышении стоимости ЛП над компенсацией, при упрощении процедуры получения льготных рецептов и увеличении срока их действия. Немаловажным фактором для перехода является изменение самой программы ОНЛС и включение в «Перечень» дорогостоящих, эффективных и оригинальных ЛП. Уровень доверия к системе льготного обеспечения ЛП отличается у разных групп опрошенных. Граждане, которые получают денежную компенсацию, заметно критичнее оценивают все стороны системы льготного обеспечения ЛП, чем получающие льготные ЛП. Как показали результаты исследования, решение об обращении к врачу в случае заболевания обычно связано с тем, насколько сильно выражены симптомы недомогания. Причем обе группы льготной категории граждан – и те, кто пользуется льготными ЛП, и те, кто получает денежную компенсацию – ведут себя одинаково. В случае легкого недомогания более половины участников исследования предпочитают заниматься самолечением (54 %). В медицинскую

организацию большинство респондентов обращаются только тогда, когда симптомы недомогания выражены явно – три четверти опрошенных (73 %) и в случае сильного недомогания в медицинские организации обращаются практически все (94 %). Установлено, что граждане, получающие льготные ЛП, чаще обращаются в поликлинику, чем те, кто пользуется денежной компенсацией. Это можно объяснить тем, что гражданам, получающим льготные ЛП, приходится минимум раз в месяц посещать врача для продления, обновления или выписки нового льготного рецепта. Так, 74 % получающих льготные ЛП ходят в поликлинику раз в месяц и чаще, тогда как среди тех, кто получает денежную компенсацию, с такой частотой посещают поликлинику 48 % опрошенных. Как показали результаты исследования, ассортимент ЛП, входящих в «Перечень», полностью или частично соответствует потребностям льготополучателей. Почти две трети тех, кто получает денежную компенсацию (60 %), заявили, что им приходилось покупать ЛП за свои деньги. Еще треть опрошенных, из группы получающих денежные компенсации, отметили, что «Перечень» отвечает их потребностям лишь частично (31 %). В связи с этим можно сделать вывод, что именно несоответствие Перечня

потребностям больных является причиной их выхода из программы ОНЛС. Как правило, АО не предоставляют возможности выбора между ЛП различных производителей (56–62 %). Между тем для большинства опрошенных важно, кто производит ЛП (55–58 %). Получающие денежную компенсацию готовы доплачивать за приобретение ЛП нужного производителя. Каждый второй (50 %) из получающих льготные ЛП регулярно вынужден покупать их за свои деньги. Таким образом, на территории БО на протяжении всех лет реализации программы отмечается снижение численности граждан, остающихся в ней, что может привести к неэффективной терапии больных, нуждающихся в постоянном медицинском наблюдении, и, в конечном результате, отрицательно сказаться на показателях здоровья населения региона.

Литература

1. Федеральный закон от 17.07.1999г. №178-ФЗ «О государственной социальной помощи».
2. Федеральный закон от 18.10.2007г. №230-ФЗ (ред. от 22.12.2014, с изм. от 29.12.2014) «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации в связи с совершенствованием разграничения полномочий» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.03.2015).
3. Распоряжение Правительства РФ от 30.12.2014г. № 2782-р «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2015 год, а также перечней лекарственных препаратов для медицинского применения и минимального ассортимента лекарственных препаратов, необходимых для оказания медицинской помощи».
4. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 18.09.2006г. № 665 «Об утверждении перечня лекарственных препаратов, в том числе перечень лекарственных препаратов, назначаемых по решению врачебной комиссии лечебно-профилактических учреждений, обеспечение которыми осуществляется в соответствии со стандартами медицинской помощи по рецептам врача (фельдшера) при оказании государственной социальной помощи в виде набора социальных услуг».
5. Постановление Правительства Белгородской области от 22.12.2014г. № 501-пп «О территориальной программе государственных гарантий бесплатного оказания жителям Белгородской области медицинской помощи на 2015 год и плановый период 2016 и 2017 годов».
6. Дубовик А.О. Мнение населения о реализации программы обеспечения необходимыми лекарственными средствами // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2015.- № 5. С.337
7. Тельнова Е.А. Критический анализ состояния системы лекарственного обеспечения льготной категории населения // Фармация. 2006. №4. С.6-9
8. Даутов С. Б. Обеспечение необходимыми лекарственными средствами отдельных категорий граждан, имеющих право на получение государственной социальной помощи/ Даутов С. Б.,

Ганиева Р. А., Загирова А. Ф. // Вестник Росздравнадзора. 2010. № 4.

9. Тельнова Е.А. Лекарственное обеспечение отдельных категорий граждан необходимыми лекарственными средствами: состояние, проблемы, перспективы/ Тельнова Е.А., Петроченков Г. А., Румянцев А.С.//Вестник Росздравнадзора. 2008. № 3.

10. Хабриев Р.У. Реализация программы дополнительного лекарственного обеспечения населения России/ Хабриев Р.У., Тельнова Е.А., Бескер И.Л. // Фармация. 2006. №5

References:

1. The Federal Law of 17.07.1999g. №178-FZ «On State Social Assistance».
2. The Federal Law of 18.10.2007g. №230-FZ (ed. By 12.22.2014, as amended. On 12.29.2014) «On Amendments to Certain Legislative Acts of the Russian Federation in Connection with further Delineation of Jurisdiction» (rev. And ext., Joined. In force from 01.03.2015).
3. The Order of the Government of the Russian Federation 30.12.2014g. № 2782-p«On Approval of the List of Vital and Essential Medicines in 2015, as well as Lists of Drugs for Medical Use and Minimal Assortment of Drugs Needed for Medical Care.»
4. Order of the Health Ministry of the Russian Federation from 18.09.2006y. № 665 «On Approving the List of Drugs, Including the List of Medicines Prescribed by the Decision of the Medical Commission of Health-care Facilities, to Ensure that it is Carried out in Accordance with the Standards of Care Prescribed by Doctors (Medical Assistant) in the Provision of State Social Assistance in the Form of Social Services. «
5. The Resolution of the Government of Belgorod Region of 22.12.2014g. Number 501-PP «On the Territorial Program of State Guarantees of Free Provision of the Residents of Belgorod Region with Care for 2015 and the Planned Period of 2016 and 2017».
6. Dubovik S.A. The Opinion of the Public about the Implementation of the Program of Provision with Essential Drugs // The Bulletin of Medical Internet Conference. 2015. № 5. P.337
7. Telnova E.A. A Critical Analysis of the System of Drug Provision of Preferential Categories of the Population // Farmatsiya. 2006. №4. Pp.6-9
8. Dautov S.B. Providing Essential Drugs to Certain Categories of Citizens Eligible for the State Social Assistance / Dautov SB, Ganiev RA, Zagirova AF // Herald Roszdravnadzor. 2010. № 4.
9. Telnova E.A. Provision of Certain Categories of Citizens with Essential Drugs: The State, Problems and Prospects / E.A. Telnova, Petrochenkov G.A., Rummyantsev A.S.// Herald Roszdravnadzor. № 3. 2008.
10. Khabriev R.W. Implementation of the Program of Additional Drugs Provision of Russia's Population / R.W. Khabriev, E.A. Telnova, Wesker I.L. // Pharmacy. 2006. №5.

UDC 615.072: 615.074:615.357

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-113-118

Pisarev D.I.¹

Novikov O.O.²

Kornienko I.V.³

**OPTIMIZATION OF METHODS OF STEROID DRUG QUALITY CONTROL
ON THE EXAMPLE OF GLUCOCORTICOSTEROIDS**

1) Assistant Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Doctor of Pharmacy, Associate Professor. Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia;

E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

2) Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Doctor of Pharmacy, Professor Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: novikov@bsu.edu.ru

3) Assistant Lecturer of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University» (NRU BelSU), Pobedy St. 85, Belgorod, 308015, Russia; E-mail: indina@bsu.edu.ru

Abstract. This paper presents an original method for the analysis of corticosteroids with the use of reversed-phase high performance liquid chromatography. A mixture of 1% aqueous formic acid and ethyl alcohol at a ratio of 10 to 90 was taken as an eluting system for corticosteroids. This ratio of solvents in the mobile phase ensures control of the rate of movement of corticosteroids in the column. Since corticosteroids are freely soluble in alcohol, using 90% of this solvent in the mobile phase ensured optimum retention time of these compounds. Another important advantage of this system is that the expensive and toxic acetonitrile and methanol, commonly used in the world practice in the reversed-phase HPLC were replaced with non-toxic and available ethyl alcohol. The quality of the chromatographic results remained the same. Due to characteristic UV and visible spectrum absorption bands of the corticosteroids, we used the diode-array detector to record the results. Analysis time was maximum 5 minutes, which characterizes the chromatographic process as express enough.

Keywords: glucocorticosteroids; high performance liquid chromatography; chromatographic system suitability criteria.

Писарев Д.И.¹

Новиков О.О.²

Корниенко И.В.³

**ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ПРЕПАРАТОВ СТЕРОИДНОЙ СТРУКТУРЫ НА ПРИМЕРЕ
ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДОВ**

1) доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, доцент НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

2) заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, профессор НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: novikov@bsu.edu.ru

3) ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: indina@bsu.edu.ru

Аннотация. Предложен оригинальный метод анализа кортикостероидов с использованием обращённо-фазной высокоэффективной жидкостной хромато-графии. В качестве элюирующей системы кортикостероидов подобрана смесь 1%-ного водного раствора кислоты муравьиной – спирт этиловый в соотношениях 10:90. Такое соотношение растворителей в подвижной фазе позволяет контролировать скорость перемещения кортикостероидов по колонке. Поскольку кортикостероиды хорошо растворимы в спирте, то использование в подвижной фазе 90% этого растворителя позволило получить оптимальное время удерживания данных соединений. Также важным достоинством данной системы является то, что проведена замена дорогостоящих и токсичных ацетонитрила и метанола, традиционно используемых в мировой практике в методе обращённо-фазной ВЭЖХ на нетоксичный и доступный спирт этиловый. Качество получаемых результатов хроматографирования не

изменилось. Поскольку кортикосте-роиды имеют характерные полосы поглощения в УФ- и видимой областях спек-тра, то для регистрации результатов использован диодно-матричный детектор. Время анализа составило не более 5 минут, что характеризует данный хромато-графический процесс как весьма экспресный.

Ключевые слова: глюкокортикостероиды, высокоэффективная жидкостная хроматография, критерии пригодности хроматографической системы.

Introduction. Steroid hormones are one of the most important groups of drugs in the modern pharmaceutical market. The most important feature of this group of drugs is the breadth of pharmacological effects and especially the impact on all metabolic processes of the body. However, steroid compounds are a quite diverse group of compounds in terms of their points of application. There are sex hormones and hormones of the adrenal cortex – corticosteroids. The latter group of hormones features pronounced influence on the exchange of various substrates in the body, primarily carbohydrates. Furthermore, their characteristic property such as regulation of immune processes in the body determines their breadth of use in different clinical forms, including the most severe autoimmune diseases. None of other pharmacological group has similar vector of action at the present time, so these drugs are virtually indispensable in all fields of medicine [5].

Given the uniqueness of corticosteroid hormones in medical practice, the methods of their quality analysis are highly essential, because sound quality of these compounds depends entirely on their standardization.

Currently, a significant amount of analysis methods for corticosteroids has been developed, due to their long-time application in medicine. Corticosteroids are mainly analyzed by instrumental methods of analysis, due to their structural features.

Spectral analysis methods are most widely used to study these compounds. The presence of common chromophore fragment – a ketodienoic group – ensures their absorption in the UV-area of the spectrum. Therefore, UV spectroscopy is one of the most important methods of analysis of corticosteroids, which is used for both identification, and their quantification.

IR spectroscopy is suitable for the identification of steroids and the establishment of structural features in their formula because it can detect the presence of specific functional groups and structural features of the molecules.

The steroid compounds have a hard skeleton – a sterane core and conjugated bonds, so a fluorometer is also required for their analysis. Fluorometric method is quite sensitive, therefore

indispensable for detecting the trace amounts of corticosteroids, in particular, in the biopharmaceutical analysis [2].

Chromatographic techniques are the most important for the analysis of corticosteroids. There is a large number of analysis layouts developed, corticosteroid mobile phases chosen in various objects with the use of planar chromatographic variants such as paper and thin-layer ones.

An essential variant of corticosteroid chromatography is the method of gas-liquid chromatography. Due to thermal stability of these compounds and their ability to derivate into volatile forms, this method has widespread application in their analysis.

HPLC-method has found wide application for the standardization of corticosteroids, especially in the direct-phase variant. This is due to mild conditions of HPLC, and a large number of structural information obtained from the analysis results.

However, each of the said methods of corticosteroid analysis has its own significant drawbacks. In particular, spectral methods can only provide information on the structure of the chromophore or the presence of functional groups, but no information about the purity of analyzed objects.

Methods paper and thin-layer chromatography are characterized by an inadequate sensitivity, objectivity and give little information about the analyte.

Although gas-liquid chromatography is characterized by sensitivity and objectivity, it, however, requires complex sample preparation and conditions of analysis.

HPLC has become one of the most valuable methods for separation and determination of corticosteroids. One of such possible causes for displacing the gas chromatography with HPLC in the corticosteroid analysis is the thermal sensitivity of a side chain C-17. In addition, HPLC allows determining all corticosteroids with quite high sensitivity by their intense UV-absorption band in. The high sensitivity of HPLC allows addressing almost all the problems that can arise for analysts in the field of pharmaceuticals and biomedicine [1].

Corticosteroids can form isomers due to the presence of asymmetric carbon atoms in their structure, so the advantage of HPLC method lies in the possibility of separating these isomers. As for the chromatographic separation systems, both adsorption chromatographic and distribution reverse-phase systems have been widely used. The UV-detectors are almost exclusively used for the chromatograms analysis. The absorbance is usually measured on a spectrophotometric ultraviolet detector at 240 nm [2, 7].

Given the above, the development of new approaches to the analysis of corticosteroids is a topical problem.

Objective of the research was to develop the optimum methods for the analysis of corticosteroids with the use of reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC).

Materials and methods. The objects of this study were corticosteroid-containing medications such as «Dexamethasone» eyedrops, «Triamcinolone» tablets, and «Prednisolone» injections.

Chromatographic studies were conducted on the chromatographic apparatus by *Agilent Technologies 1200 Infinity* (USA) with autosampler *Agilent 1200*, vacuum micro-degasifier, gradient pump, and thermostat of the same series. Electronic absorption spectra were recorded with a spectrophotometric diode-array detector *Agilent 1200* (a wavelength range of 190 to 950 nm, a cuvette with a path length of 10 mm and volume of 13 μ l), the scanning pitch – 2 nm.

Registration and processing of spectral data and chromatograms was performed with the use of *Agilent Chem Station* software.

The tests were carried out with a steel chromatographic column *Ascentis express C₁₈2.7 μ m \times 100 mm \times 4.6 mm*.

The mobile phases were prepared with the use of the following solvents: ultrapure water (liquid chromatography), ethyl alcohol (acc. GOST R 51652), and formic acid.

Column efficiency was determined by calculating the number of theoretical plates *N*. As an optimal column efficiency criterion the value of not less than 5000 was used [4].

The number of theoretical plates was calculated by formula 1:

$$N = 16 \times \left(\frac{t}{\mu} \right)^2 \quad (1)$$

where t - the retention time of the analyte, mm;

μ - peak width at the baseline, mm.

The main criterion for assessing the adequate separation of adjacent peaks was the separation factor R_s , which shall not be less than 1.5, subject to the European Pharmacopoeia [4]. In this case, the peaks must be separated in the baseline.

Peak separation coefficient R_s was calculated by formula 2:

$$R_s = \frac{\Delta l}{\mu_{0.5(1)} + \mu_{0.5(2)}}$$

where Δl – distance between the tops of two adjacent peaks, mm;

$\mu_{0.5(1)}, \mu_{0.5(2)}$ - width at half peak height of the two components, mm.

The shape of the chromatographic peak, which characterizes the overload of chromatographic column, was determined by calculating the peak asymmetry coefficient (T_f) by formula 3:

$$T_f = \frac{\mu_{0.05}}{2 \times f}$$

where $\mu_{0.05}$ – peak width at a height of 5.0% of the baseline, mm;

f – distance from the peak base at a height of 5.0% of the baseline to the perpendicular drawn from its top, mm;

The optimum value of the asymmetry coefficient T_f was the one less than 2.

Separation was carried out under the following conditions:

mobile phase: 1.0% formic acid aqueous solution – ethyl alcohol (10 : 90);

mobile phase rate – 0.5 ml/min;

column temperature +35°C;

sample injection volume 1 μ l.

The investigated corticosteroids contain in the ring A a chromophoric fragment represented by ketodienoic group, therefore absorb optical electromagnetic radiation in the ultraviolet region. Maximum absorption of these compounds is observed in the wavelength range of 238 – 242 nm. Therefore, the UV-spectrophotometry is used for the qualitative and quantitative analysis of corticosteroids and their analogs.

A diode-array detection at a wavelength $\lambda = 240$ nm.

Results and discussion. Polkortolone chromatogram is shown in Figure 1.

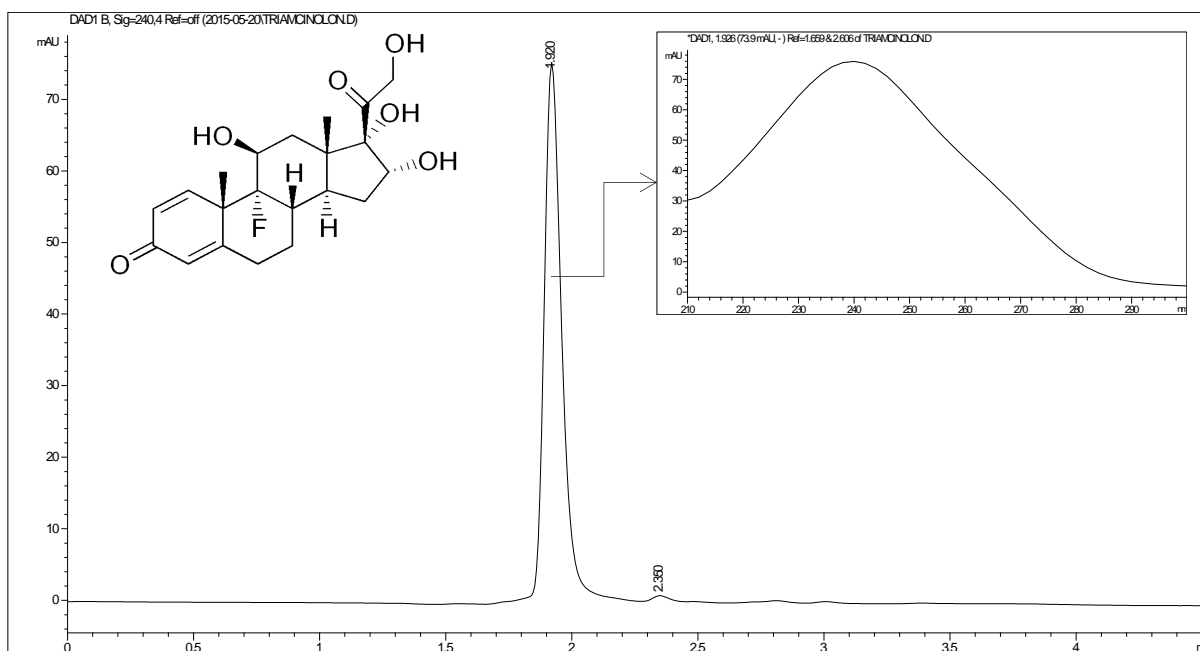


Figure 1. Polkortolone chromatogram

Applicability of the applied chromatographic system was confirmed by calculating the suitability criteria.

The results are shown in Table 1.

Table 1

Indicators of chromatographic system suitability for determining Triamcinolone in tablets

t_R	S	N	HETP	T_f	W_b
1.920	376.6	10184.81	9.8×10^{-4}	0.688	0.0761

t_R – absolute retention time, S – area of the peak, N – number of theoretical plates, HETP – height equivalent to theoretical plate, T_f – asymmetry coefficient, W_b – peak width on the baseline.

The suitability criteria in the Table 1 give evidence of the suitability of the applied chromatographic system, because the number of theoretical plates was >5000 and the asymmetry factor was less than 2.

Dexamethasone drug was separated under conditions similar to those of Triamcinolone. Chromatogram is shown in Figure 2.

Thus, the suitability criteria in Table 2 demonstrate that the applied chromatographic system is suitable for determination of Dexamethasone.

Moreover, the use of the said chromatographic system allowed us to detect the Dexamethasone isomer in the chromatogram – a peak with a retention time of 1.951.

Thus, the chromatographic system ensures determination of both the authenticity of the product «Dexamethasone», and its purity, as can be seen from Figure 2.

Prednisolone chromatogram is shown in Figure 3.

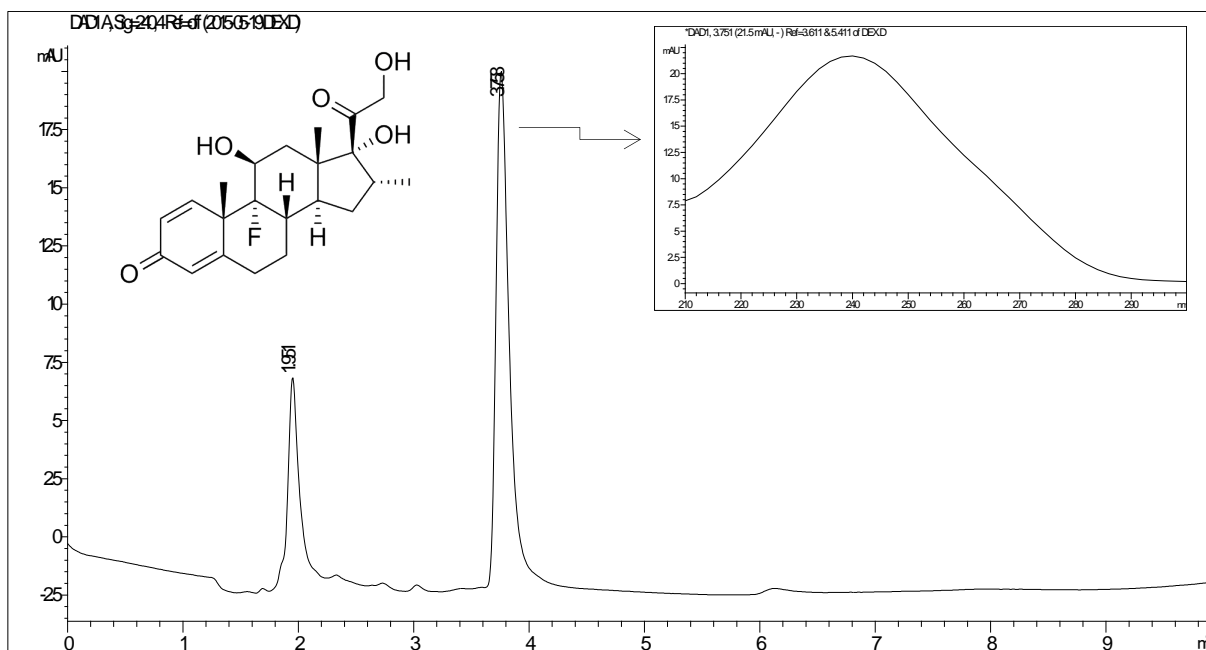


Figure 2. Dexamethasone chromatogram

The suitability criteria of the applied chromatographic system are shown in the Table 2.

Table 2

Indicators of chromatographic system suitability for determining Dexamethasone in eye drops

t_R	S	N	HETP	T_f	W_b
3.758	184.9	14438.39	6.9×10^{-4}	0.519	0.1251

t_R – absolute retention time, S – area of the peak, N – number of theoretical plates, HETP – height equivalent to theoretical plate, T_f – asymmetry coefficient, W_b – he peak width on the baseline

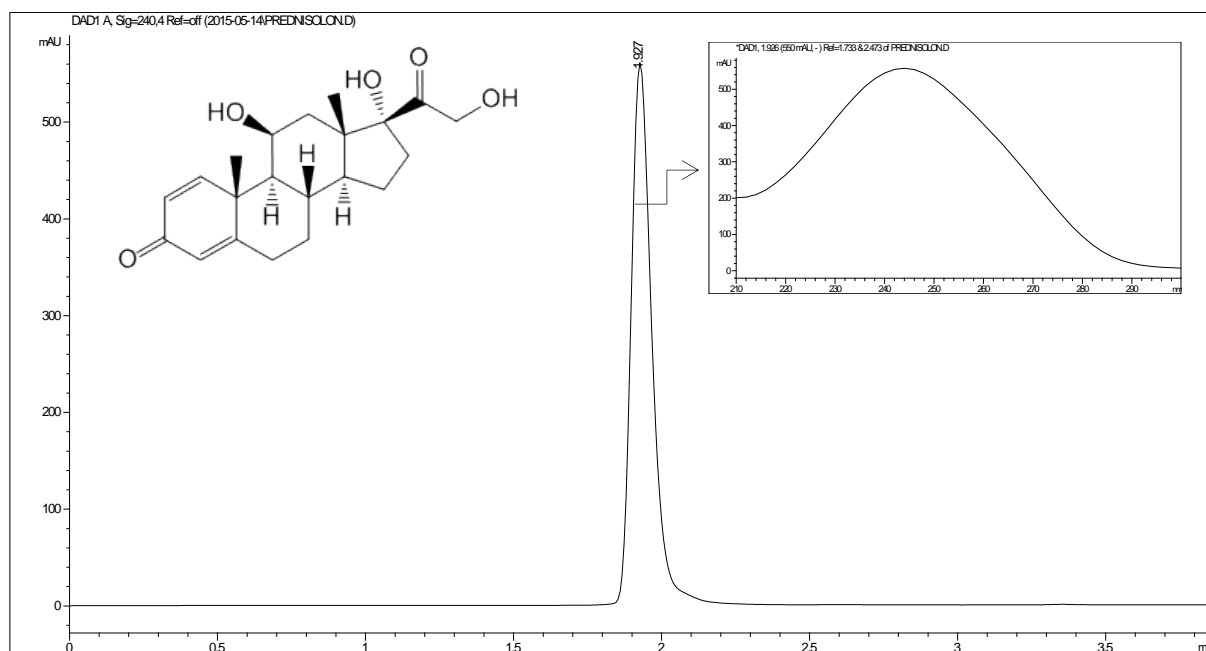


Figure 3. Prednisolone chromatogram

Table 3

Indicators of chromatographic system suitability for determining Prednisolone in the injectable drugs

t_R	S	N	HETP	T_f	W_b
1.927	2739.2	10562.35	9.4×10^{-4}	0.677	0.075

t_R – absolute retention time, S – area of the peak, N – number of theoretical plates, HETP – height equivalent to theoretical plate, T_f – asymmetry coefficient, W_b – the peak width on the baseline.

The suitability criteria in Table 3 demonstrate that the applied chromatographic system is suitable for determination of Prednisolone.

Summary. As a result of the conducted studies, an original method for corticosteroid analysis has been suggested. In this case, we used a reverse-phase chromatography. Corticosteroids are characterized as low-polarity compounds and therefore can be actively captured by nonpolar stationary phase. However, a mixture of 1% aqueous formic acid and ethyl alcohol at a ratio of 10 to 90 was taken as an eluting system for Dexamethasone, Prednisolone, and Triamcinolone. This ratio of solvents in the mobile phase ensures control of the rate of movement of corticosteroids in the column. Since corticosteroids are freely soluble in alcohol, using 90% of this solvent in the mobile phase ensured optimum retention time of these compounds that did not exceed 5 minutes. Another important advantage of this system is that the expensive and toxic acetonitrile and methanol, commonly used in the world practice in the reversed-phase HPLC were replaced with non-toxic and available ethyl alcohol [3, 6]. Furthermore, the quality of the chromatographic results remained the same. To record the analysis results, we used the diode-array

detector that records the electronic absorption spectra, which is an objective feature in the drug data analysis, due to characteristic UV and visible spectrum absorption bands of the corticosteroids. Analysis time was maximum 5 minutes, which characterizes the chromatographic process as express enough.

References

1. Gorog S. Quantitative analysis of steroids. M.: Mir, 1985. P. 504.
2. Dikunets M.A., Appolonova S.A., Rodchenkov G.M. Determination of endogenous and exogenous glucocorticoids HPLC-MS in human urine // Pharmaceutical Chemistry Journal. T.44, No. 6. 2010: P. 43-49.
3. The British Pharmacopoeia Commission. 2014. Vol. III. Formulated Preparations: Specific Monographs.
4. European Pharmacopoeia, 8th ed. 2014
5. Makin H.L.J., Gower D.B. Steroid analysis. London, New York. 2010. 1224 p.
6. United States Pharmacopoeia, 2014. USP 37/NF 32.
7. Volin, P. High-performance liquid chromatographic analysis of corticosteroids (review) // J. of Chromatogr. V.671. 1995: P. 319-340.

УДК 615.322: 615.071: 615.074

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-119-124

**Писарев Д. И.¹
Алексева К.А.²
Новиков О.О.³
Корниенко И.В.⁴
Севрук И.А.⁵**

**ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА АНТОЦИАНОВ ТРАВЫ
OCIMUM BASILICUM L.**

1) доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, доцент Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

2) студентка 5 курса фармацевтического факультета Медицинского института Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: 740890@bsu.edu.ru

3) заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, профессор. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: novikov@bsu.edu.ru

4) ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: indina@bsu.edu.ru

5) ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: sevruk@bsu.edu.ru

Аннотация. Базилик обыкновенный – *Ocimum basilicum* L. содержит широкий спектр биологически активных соединений, в их числе эфирные масла, фенольные соединения, включая флавоноиды и антоцианы. Фиолетовая разновидность является богатым источником ацилированных и гликозилированных антоцианов и может представить интерес в качестве уникального источника стабильных красных пигментов для пищевой промышленности. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определён химический состав антоцианов – *O. basilicum* L. Установлено, что в его составе присутствует 12 антоциановых гликозидов, причём данные соединения находятся в виде депсидов с оксикоричными кислотами, о чём свидетельствуют их характерные УФ-профили. Агликоном антоциановых гликозидов является цианидин, что было подтверждено кислотным гидролизом. Причём 11 антоциановых гликозидов представлены в виде депсидов с п-кумаровой кислотой. Один из антоциановых гликозидов находится в виде депсида с кофейной кислотой. Количественное определение антоцианов проводили методом *pH – дифференциальной спектрофотометрии*. Установлено, что в свежем сырье *O. basilicum* L. суммарное содержание антоцианов составило – 0,48±0,054%.

Ключевые слова: базилик обыкновенный, депсиды антоциановых гликозидов, высокоэффективная жидкостная хроматография.

**Pisarev D.I.¹
Alekseeva K.A.²
Novikov O.O.³
Kornienko I.V.⁴
Sevrur I.A.⁵**

**THE CHEMICAL STUDY OF THE ANTHOCYANINS IN
OCIMUM BASILICUM L. HERB**

1) Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

2) 5th Year Student. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: 740890@bsu.edu.ru

- 3) Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Head of Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: novikov@bsu.edu.ru
4) Assistant Lecturer. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: indina@bsu.edu.ru
5) Assistant Lecturer. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: sevruk@bsu.edu.ru

Abstract. Sweet basil – *Ocimum basilicum L.* contains a wide spectrum of biologically active compounds: essential oils, phenolic compounds, including flavonoids and anthocyanins. The violet variety is a rich source of acylated and glycosylated anthocyanins and can be of interest as a unique source of stable red pigments for the food industry. The HPLC method has determined the chemical composition of *O. basilicum L.* anthocyanins: it contains 12 anthocyanin glycosides, and these compounds are in the form of depsides with hydroxy-cinnamic acids, as evidenced by their characteristic UV profiles. The aglycone of anthocyanin glycosides is cyanidin, which was confirmed by the acid hydrolysis. And 11 anthocyanin glycosides are represented as depsides with p-coumaric acid. One anthocyanin glycoside is in the form of a depside with caffeic acid. The quantification of anthocyanins was determined by the pH-differential spectrophotometry. It was found that the fresh *O. basilicum L.* raw material total content of anthocyanins was – $0,48 \pm 0,054\%$.

Keywords: basil ordinary; depsides anthocyanin glycosides; high performance liquid chromatography.

Введение. Антоцианидины – это производные катиона флавилия. Особенностью строения антоцианидинов является наличие в гетероциклическом кольце четырехвалентного кислорода (оксония) и свободной положительной валентности. Антоцианы отвечают за окраску плодов, цветков и других частей растений от оранжевого до синего [1].

На окраску антоцианидинов влияет число и природа заместителей: гидроксильные группы, несущие свободные электронные пары, обуславливают батохромный сдвиг при увеличении их числа. Гликозидирование, метилирование или ацилирование гидроксильных групп антоцианидинов приводит к уменьшению или исчезновению батохромного эффекта [2,3].

Большие различия между природными антоцианами связаны с разнообразием углеводных фрагментов, присоединенных к агликону по гидроксильным группам, как правило, в положении 3, реже одновременно в двух положениях – 3 и 5. Кроме того, большей частью разнообразие антоцианов обусловлено различием производных, в которых некоторые из гидроксильных групп углеводного фрагмента ацилированы уксусной, малоновой, кумаровыми, кофейной и другими кислотами [4, 7, 10].

Для антоцианов в настоящее время доказаны следующие виды фармакологической активности:
– антиоксидантная – высокая антирадикальная активность антоцианов во много раз превышает таковую других классов флавоноидов [12].

– вазопротекторная – уменьшают ломкость и проницаемость капилляров, улучшая функцию эндотелия [6].

– илизации выработки коллагена, ингибируют агрегацию тромбоцитов и стимулируют выработку эндотелием простагландинов. Кроме того, установлена способность антоцианов гасить воспалительные процессы в легких, снижая активность ферментов [8].

– противоопухолевая – антоцианы уменьшают скорость деления раковых клеток [11].

– фунгицидная и антимикробная активность – антоцианы способны ингибировать биосинтез афлатоксинов [13].

Базилик душистый обыкновенный – *Ocimum basilicum L.* – однолетнее травянистое растение семейства *Lamiaceae*, образующее ветвящийся куст около 50 см в высоту.

Трава *O. basilicum L.* содержит широкий спектр биологически активных соединений, в их числе эфирные масла, фенольные соединения, включая флавоноиды и антоцианы.

В ряде зарубежных сообщений указывается, фиолетовый базилик является богатым источником ацилированных и гликозилированных антоцианов и может представить интерес в качестве уникального источника стабильных красных пигментов для пищевой промышленности [9].

Учитывая вышесказанное, целью настоящего исследования явилось изучение химического состава антоцианов *O. basilicum L.*

Материалы и методы. Для определения антоцианов 2,5 г свежей травы *O. basilicum L.*, измельчили и помещали в плоскодонную колбу вместимостью 100 мл, заливали 25 мл экстрагента – 1%-ного раствора кислоты хлористоводородной в

спирте этиловом 95%-ном, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на магнитной мешалке при температуре 80°C в течение 30 минут. Полученное извлечение декантировали и оставшееся сырьё заливали свежей порцией того же экстрагента в количестве 25 мл. Всего было сделано четыре экстракции. Извлечение каждый раз фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Содержимое мерной колбы доводили экстрагентом до метки. Полученный фильтрат далее исследовали на содержание антоцианов.

Для разделения исследуемого объекта использовали метод ОФ ВЭЖХ.

Хроматографические исследования проводили на хроматографическом приборе фирмы «Agilent Technologies 1200 Infinity» производства США с автоматическим пробоотборником Agilent 1200, вакуумным микродегазатором, градиентным насосом и термостатом той же серии. Электронные спектры поглощения регистрировали с помощью спектрофотометрического детектора с диодной матрицей серии Agilent 1200 (диапазон длин волн от 190 до 950 нм), шаг сканирования – 2 нм.

Для регистрации и обработки спектральных данных и хроматограмм использовали программное обеспечение «Agilent Chem Station».

Для приготовления подвижных фаз использовали следующие растворители: воду сверхчистую (для жидкостной хроматографии), спирт метиловый, кислоту муравьиную.

Идентификацию компонентов осуществляли по совпадению времён удерживания анализируемых веществ со СО зафиксированных в аналогичных условиях эксперимента и по результатам диодно-матричного детектирования.

Сумму антоцианов подвергали хроматографическому разделению в следующих условиях: подвижная фаза – (А) – 1%-ный водный раствор кислоты муравьиной, (Б) – спирт этиловый в градиентном режиме элюирования; колонка – Ascentis express C₁₈ 2,7µm × 100 мм × 4,6 мм; скорость подвижной фазы – 0,5 мл/мин; температура колонки +35 °С; объём вводимой пробы 1 µl; детекция диодно-матричная – 520 нм.

Состав подвижной фазы программировали в условиях, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Условия градиентного элюирования антоцианов

Table 1

Terms of gradient elution of anthocyanins

Время, мин	А,%	Б,%
0	90	10
10	80	20
20	70	30
30	50	50
40	10	90

Идентификацию компонентов осуществляли по совпадению времён удерживания анализируемых веществ со СО зафиксированных в аналогичных условиях эксперимента и по результатам диодно-матричного детектирования.

Результаты и выводы. Хроматограмма разделения суммы антоцианов травы *O. basilicum L.* представлена на рисунке 1.

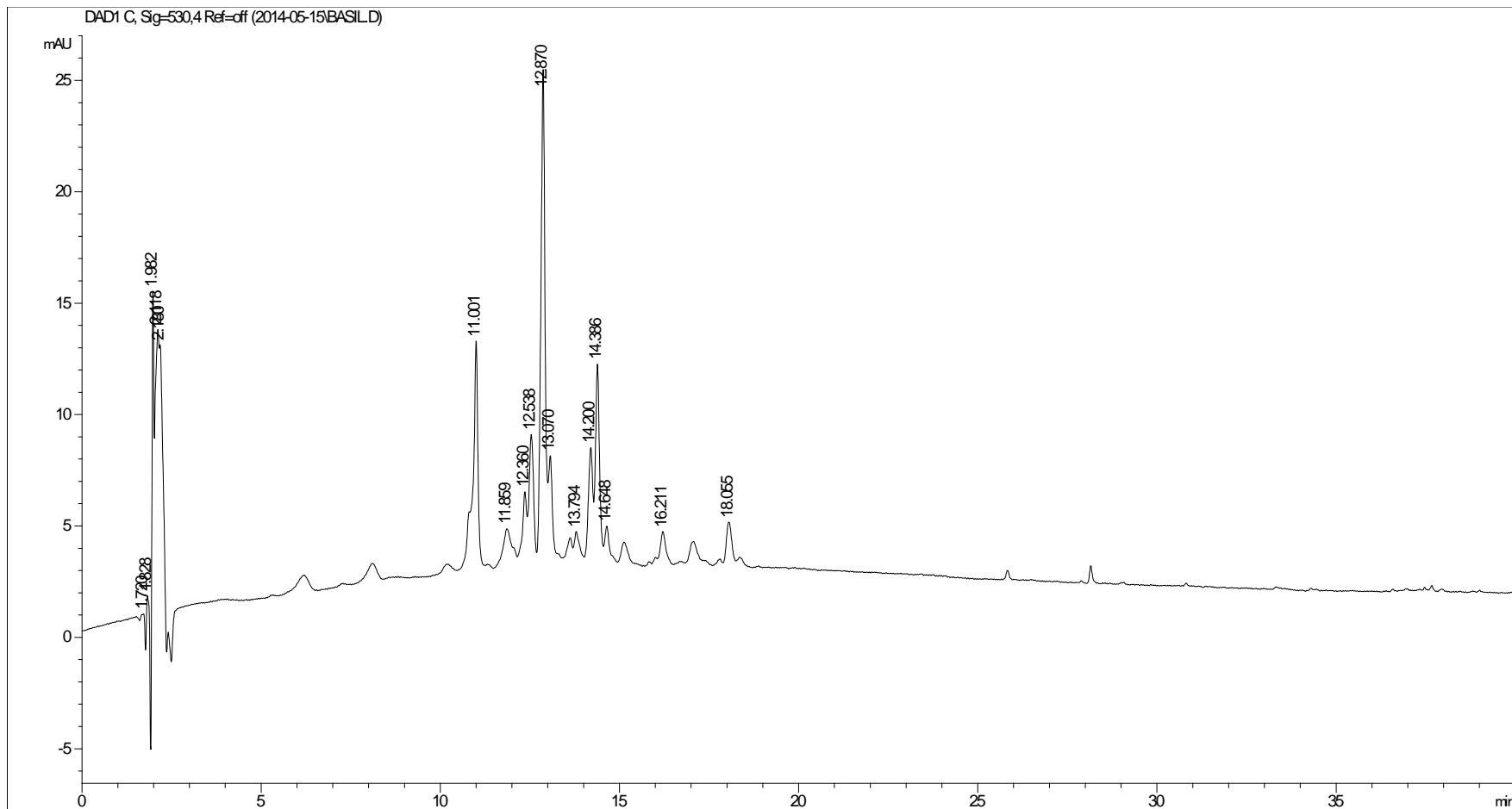


Рис. 1. Хроматограмма антоцианов базилика (детекция диодно-матричная $\lambda_{\max} = 530$ нм)

Figure 1. Chromatography of basil anthocyanins (diode array detector $\lambda_{\max} = 530$ nm)

В результате хроматографирования установлено присутствие в траве базилика 12 антоциановых гликозидов, причём данные соединения находятся в виде депсидов с оксикоричными кислотами, о чём свидетельствуют их характерные УФ-профили.

Агликоном антоциановых гликозидов является цианидин, что было подтверждено кислотным гидролизом. Причём 11 антоциановых гликозидов представлены в виде депсидов с п-кумаровой кислотой, УФ-профиль, одного из компонентов представлен на рисунке 2.

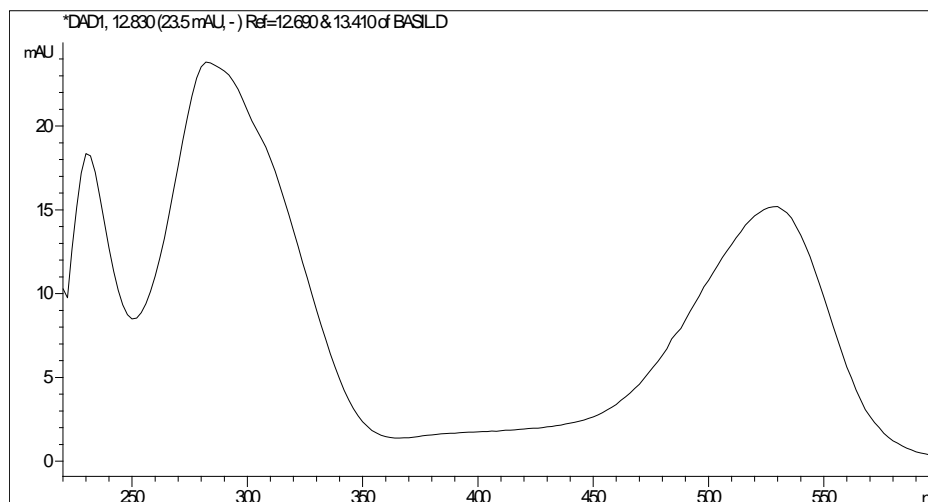


Рис. 2. УФ-профиль депсида антоцианового гликозида с п-кумаровой кислотой

Figure 2. UV-profile of anthocyanins glucoside deposite with p-coumaric acid

Один из антоциановых гликозидов находится в виде депсида с кофейной кислотой (рис. 3).

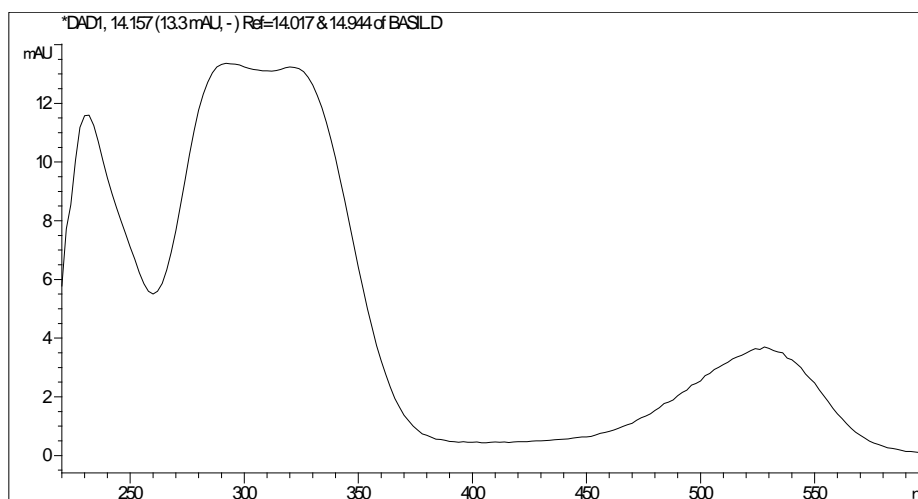


Рис. 3. УФ-профиль депсида антоцианового гликозида с кофейной кислотой

Figure 3. UV-profile of anthocyanins glycoside deposite with caffeic acid

Количественное определение антоцианов проводили методом *pH – дифференциальной спектрофотометрии* [4].

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-гликозид в процентах (X) вычисляли по формулам 1 и 2:

$$D = (D_{510} - D_{700})_{pH1,0} - (D_{510} - D_{700})_{pH4,5}$$

$$X = \frac{D \times M_M \times W_1 \times W_2 \times 100}{\varepsilon \times l \times m \times V \times 10 \times (100 - B)}$$

где W_1 – общий объем извлечения из сырья, мл;
 W_2 – объем разведения, мл;
 m – масса сырья, г;
 V – аликвота, взятая для разбавления, мл;
 M_M – молярная масса цианидина-3-гликозида, равная 449,17;

l – толщина кюветы, см;
ε – молярный коэффициент поглощения,
равный 26900;

В – влажность сырья.

В результате установлено, что в свежем сырье
O. basilicum L. суммарное содержание
антоцианов составило – 0,48±0,054%.

Проведённые исследования позволяют
рекомендовать траву *O. basilicum* L. в качестве
источника биологически активных антоцианов.

Список литературы

1. Биохимия растений / Л. А. Красильникова, О. А. Авксентьева, Ю. А. Жмурко [и др.]. Ростов н/Д : Феникс; Харьков : Торсинг, 2004. 224 с.
2. Гейссман Т. Антоцианы, халконы, ауроны, флавоны и родственные им водорастворимые пигменты // Биохимические методы анализа растений: сб. ст. М., 1960. С. 453.
3. Кишковский З. Н, Скурихин И. М. Химия вина. М.: Пищевая промышленность, 1976. 312 с.
4. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи / под ред. В. А. Тутельяна, К. И. Эллера; НИИ питания РАМН. М. : Династия, 2010. 180 с.
5. Танчев С. С. Антоцианы в плодах и овощах. М.: Пищевая промышленность, 1980. 302 с.
6. Analysis and biological activities of anthocyanin / J. M. Kong, L. S. Chia, N. K. Goh [et al.] // Phytochemistry. 2003. Vol.64, №5. P. 923-933.
7. Antal D.-S, Gârban G., Gârban Z. The anthocyanins: biologically-active substances of food and pharmaceutical interest // The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI : Food Technology. Galati, 2003. P. 106-115.
8. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries / H. Wang, M. G. Nair, G. M. Strasburg [et al.] // J. Nat. Prod. 1999. Vol.62, №2. P. 294-296.
9. Phippen B.W., Simon J.E. Anthocyanins in Basil (*Ocimum basilicum* L.) // J. Agric. Food Chem. 1998. Vol.46, №5. P. 1734–1738.
10. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development / L. Jaakola, K. Määttä, A. M. Pirttilä [et al.] // Plant. Physiol. 2002. Vol.130, №2. P. 729-739.
11. Hou D. X. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins // Curr. Mol. Med. 2003. Vol.3, №2. P. 149-159.
12. Lila M. A. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach // J. Biomed. Biotechnol. 2004. Vol.2004, №5. P. 306-313.

13. Norton R. A. Inhibition of Aflatoxin B1 Biosynthesis in *Aspergillus flavus* by Anthocyanidins and Related Flavonoids // J. Agric. Food. Chem. 1999. Vol.47, №3. P. 1230-1235.

References

1. Plant Biochemistry / L.A Krasil'nikova, O.A Avksentiev Yu.A. Zhmurko [et al.]. Rostov n/D: Phoenix; Kharkov: Torsing, 2004. 224 p.
2. Geysman, T. Anthocyanins, Chalcones, Auron, Flavones and Related Water-soluble Pigments // Biochemical Methods of Analysis plan. M., 1960. P. 453.
3. Kishkovsky, Z. H., Skurikhin, I.M. Chemistry of Wine. M.: The Food Industry, 1976. 312 p.
4. Methods of Analysis of Biologically Active Substances in Food / ed. VA Tutelian, K.I. Eller; Institute of Nutrition. M.: Dynasty, 2010. 180 p.
5. Tanchev, S.S. Anthocyanins in Fruits and Vegetables. M.: The Food Industry, 1980. 302 p.
6. Analysis and Biological Activities of Anthocyanin / J. M. Kong, L. S. Chia, N. K. Goh [et al.] // Phytochemistry. Vol.64, №5. 2003: Pp. 923-933.
7. Antal, D.-S, Gârban, G., Gârban, Z. The anthocyanins: biologically-active substances of food and pharmaceutical interest // The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI : Food Technology. 2003: P. 106-115.
8. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries / H. Wang, M. G. Nair, G. M. Strasburg [et al.] // J. Nat. Prod. Vol.62, №2. 1999: P. 294-296.
9. Phippen, B.W., Simon, J.E. Anthocyanins in Basil (*Ocimum basilicum* L.) // J. Agric. Food Chem. Vol.46, №5. 1998: P. 1734–1738.
10. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development / L. Jaakola, K. Määttä, A. M. Pirttilä [et al.] // Plant. Physiol. Vol.130, №2. 2002: P. 729-739.
11. Hou, D. X. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins // Curr. Mol. Med. Vol.3, №2. 2003: P. 149-159.
12. Lila, M. A. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach // J. Biomed. Biotechnol. Vol.2004, №5. 2004: P. 306-313.
13. Norton, R. A. Inhibition of Aflatoxin B1 Biosynthesis in *Aspergillus flavus* by Anthocyanidins and Related Flavonoids // J. Agric. Food. Chem. Vol.47, №3. 1999: P. 1230-1235.

УДК 615.322: 615.89

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-125-131

**Селютин О.А.¹
Новиков О.О.²
Писарев Д.И.³
Куликова М.Д.⁴
Васильев Г.В.⁵**

**АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОИЗВОДНЫХ
СЕРОУГЛЕРОДА**

1) директор ГУЗ «Воронежский ЦКК И СЛС»

Государственное учреждение здравоохранения «Воронежский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств»; ул. Писателя Маршака, 1, Воронеж, 394051, Россия; E-mail: selutin@ckksls.vrn.ru

2) заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, профессор. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: novikov@bsu.edu.ru

3) доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, доцент Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

4) ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: bezmenova@bsu.edu.ru

5) ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»); ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия; E-mail: vasilyev@bsu.edu.ru

Аннотация. Статья представляет собой обзор литературы современных методик определения сероуглерода при содержании его в каких-либо объектах в незначительных количествах. Поскольку учитывая токсичность данного соединения и возможности его попадания в антропогенную среду, разработка новых чувствительных и воспроизводимых в условиях различных лабораторий методик является актуальной задачей современной науки. В статье подробно рассмотрены хроматографические методы анализа сероуглерода: тонкослойная хроматография, газовая хроматография, жидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография; спектрофотометрические методы; масс-спектрометрия; полярография на примере анализа тетурама.

Ключевые слова: сероуглерод, тетурам, спектрофотометрия, хроматография.

**Selyutin O.A.¹
Novikov O.O.²
Pisarev D.I.³
Kulikova M.D.⁴
Vasilyev G.V.⁵**

**ANALYTICAL CHARACTERISTICS OF CARBON DISULFIDE
DERIVATIVES**

1) Director of Voronezh Center for Quality Control and Certification of Medicines. 1 Pisatel Marshak St., Voronezh, 394051, Russia. E-mail: selutin@ckksls.vrn.ru

2) Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Head of Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
E-mail: novikov@bsu.edu.ru

- 3) Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia.
E-mail: pisarev@bsu.edu.ru
- 4) Assistant Lecturer. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: bezmenova@bsu.edu.ru
- 5) Assistant Lecturer. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia.
E-mail: vasilyev@bsu.edu.ru

Abstract. This article is a literature review of modern methods of determining carbon disulfide when it is present in any objects in small quantities. Since taking into account the toxicity of the compound and the possibility of its penetration into the built environment, the challenge of modern science is to develop some new techniques which are sensitive and reproducible in a variety of laboratory conditions. The article describes in detail the chromatographic methods of analysis of carbon disulfide: thin layer chromatography, gas chromatography, liquid chromatography, high performance liquid chromatography; spectrophotometric methods; mass spectrometry; polarography on the example of teturam.

Keywords: carbon disulfide; teturam; spectrophotometry; chromatography.

Сероуглерод считается одним из главных загрязнителей воздуха рабочей зоны нефтеперерабатывающих или производящих искусственное волокно, сахар, кокс предприятий. В настоящее время наиболее популярным методом анализа воздуха является, несомненно, газовая хроматография [1]. Основное достоинство метода – способность разделять сложные, многокомпонентные смеси химических веществ, состоящие из 100–300 и более индивидуальных соединений.

Для определения сероуглерода в воздухе рабочей зоны производственных помещений рекомендован фотометрический метод с предварительным абсорбционным концентрированием компонента в жидкую фазу [2], что весьма удлиняет время анализа и приводит к дополнительному расходу реагентов и погрешностям. Перспективно для этой цели использование молекулярных сорбционно-спектроскопических методов, сочетающих хемосорбционное концентрирование определяемого компонента и измерение оптических характеристик продукта реакции на поверхности твердотельного чувствительного элемента (ТЧЭ) [3-5]. Формирование аналитического сигнала в данном случае связано с реакциями между определяемым компонентом и органическим реагентом в фазе ТЧЭ. Операция концентрирования позволяет добиться требуемой чувствительности, а использование ТЧЭ часто сводит к минимуму пробоподготовку. Концентрирование с одновременным химическим преобразованием является динамическим процессом, зависящим от скоростей химической

реакции и сорбции вещества из газовой фазы. Для аналитической химической реакции на сорбенте существуют взаимосвязанные сорбционные характеристики, обеспечивающие необходимые уровни предела обнаружения, точности, границ диапазона определяемых содержаний, и термодинамические параметры, характеризующие методологическое единство концентрирования, химического преобразования и последующего спектроскопического определения [6].

На основании описанной выше реакции с солями меди предложено сорбционно-фотометрическое определение сероуглерода в воздухе рабочей зоны. Выбрана аналитическая система, образующая ярко окрашенный диэтанолдитиокарбаминат меди (II), и матрица (целлюлоза-фильтр), определены оптимальные условия анализа. Содержание сероуглерода в поглотительном растворе определяли фотометрическим методом по окраске диэтилдитиокарбамата меди (II) [7].

Для хроматографического определения состава головной фракции сырого бензола и органической фазы после связывания CS₂ аммиаком использовали хроматограф с детектором по теплопроводности Кристалл Люкс – 4000 [8].

Условия хроматографирования следующие [9]: газ-носитель – гелий; фаза – ПЕГА, 15%; носитель – динахром; температура термостатирования – 65°C; скорость газаносителя – 40 мл/мин; длина колонки – 4,5 м.

Однако следует отметить низкую чувствительность детектора по теплопроводности,

делающую данную методику малопригодной для анализа следовых количеств сероуглерода.

Для определения примеси сероуглерода в бензоле, толуоле, четыреххлористом углероде отбирают 1 мл исследуемого раствора, содержащего 0,025 – 0,10 мг сероуглерода, добавляют 1 мл 1%-ного раствора диэтиламина в чистом бензоле (или в четыреххлористом углероде), вводят 1 мл 0,03%-ного раствора ацетата меди в абсолютном этиловом спирте, взбалтывают и разбавляют этиловым спиртом до объема 10 мл. Желтую окраску раствора сравнивают с окраской стандартных растворов [10, 11].

В свою очередь, методики анализа тетраама могут представлять определенный интерес из-за их возможной модификации для определения самого сероуглерода.

Для идентификации тетраэтилтиурамдисульфида может быть использована колебательная спектрофотометрия. Инфракрасный спектр вещества в области от 1600 до 400 см⁻¹ должен иметь полное совпадение полос поглощения с полосами поглощения спектра стандарта [12, 13].

Согласно методике определения, тетраэтилтиурамдисульфид запрессовывают в таблетку с бромидом калия и исследуют поглощения образца в диапазоне частот 4000–400 см⁻¹, применяя ИК-спектрофотометр JMPAKT 400d фирмы «Nicolet» (США) с детектором DTOS KBг. Оптическое разрешение составляло 4 см⁻¹, количество сканирований – 32. Формой регистрации спектра являлось пропускание. При исследовании ИК-спектра тетраэтилтиурамдисульфида отмечено присутствие в нем ряда характеристических полос, соответствующих определенным видам колебаний участков молекулы рассматриваемого вещества. В высокочастотной части ИК-спектра (область 2868–2972 см⁻¹) тетраэтилтиурамдисульфида присутствуют полосы, соответствующие валентным асимметрическим и симметрическим колебаниям С–Н связи в метильных и метиленовых группах. Полоса С максимумов в области 1375 см⁻¹ предположительно может соответствовать симметричным деформационным колебаниям С–Н в метильной группе. Асимметрическим деформационным колебаниям С–Н связей в СН₃-группе соответствует полоса с максимумом при 1456 см⁻¹. В интервале частот 1072–1092 располагаются максимумы полос,

обусловленных валентными колебаниями С=S связи. В ИК-спектре имеются полосы, которые могут быть отнесены к колебаниям S–S-связи, деформационным колебаниям N–C=S и колебаниям с участием связи C=S [12, 13].

В качественном анализе дитиокарбаминатов используются химические реакции. Так, 0,01 г вещества растворяют в 1 мл спирта 95% при легком подогревании. После охлаждения прибавляют 1 мл 10% раствора натрия сульфита, 2 мл раствора аммиака и 1 мл 1% раствора меди сульфата; выпадает объемистый коричневый осадок медной соли.

Для определения серы в молекуле дитиокарбаминатов 0,01 г анализируемые вещества растворяют в 1 мл спирта 95% при легком нагревании, прибавляют по каплям бромную воду до исчезающей желтой окраски, подкисляют 0,5 мл кислоты хлористоводородной разведенной, нагревают раствор на водяной бане до обесцвечивания, прибавляют 1 мл раствора бария хлорида; выпадает белый осадок [12, 13].

Существует множество примеров применения высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) при определении производных карбаминовой и дитиокарбаминовой кислот в воде, биологическом материале и других объектах [14-19].

При использовании хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) хроматографирование пестицидов дитиокарбаминатной структуры проводят на пластинке «Sorbfil» ПТСХ-АФ UV-254 (связующее – силиказоль, толщина слоя 110 мкм) без активирования. Пластинки проявляют модифицированным по Мунье реактивом Драгендорфа и 0,05% раствором бромфенолового синего (БФС).

С реактивом Драгендорфа данные пестицидные дают оранжевые пятна, с БФС – черные или серые пятна после облучения пластинки в УФ-свете (254 нм) в течение 20 мин и снятия фона 2%-ным раствором лимонной кислоты. Подвижными фазами при этом являются смеси растворителей: хлороформ–метанол–25% раствор аммиака (31:8:1); толуол–ацетон–96% этанол–25% раствор аммиака (45:45:7:3); бензол–96 % этанол (8:2); этилацетат–ацетон–вода (4:5:1).

Сопоставление результатов использования цветных реакций и величин R_f позволяет с высокой степенью достоверности

идентифицировать те или иные пестициды рассматриваемой структуры [20].

Все объекты дают характерную для балластных веществ голубую флюоресценцию в УФ-лучах. Эти же объекты в некоторых опытах образуют сероватые пятна в реакциях с БФС. Величина их R_f находится в пределах от 0 до 0,15 в зависимости от применяемой системы. С реактивом Драгендорфа в контрольных опытах окрашиваний не наблюдается. Для установления границы обнаружения к 100 г печени добавляют от 0,5 до 5 мг того или иного пестицида с интервалом 0,5 мг [21, 22].

Для количественного определения тетраэтилтиурамдисульфида предложено комплексометрическое титрование. Около 0,5 г вещества (точная навеска) помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл и при слабом нагревании на водяной бане (не доводя до кипения) растворяют в 25 мл спирта 95% при постоянном перемешивании. По охлаждении к раствору постепенно прибавляют восстанавливающую смесь, состоящую из 10 мл 10% раствора натрия сульфита и 25 мл 5% раствора аммиака. Затем при перемешивании прибавляют в течение 5 мин 25 мл 0,1 М раствора никеля сульфата, и периодически перемешивая, оставляют на 1 ч. Затем прибавляют 25 мл хлороформа и взбалтыванием переводят осадок в хлороформный слой. Прибавляют 10 мл аммиачного буферного раствора, 100 мл воды и титруют избыток никеля сульфата 0,05 М раствором трилона Б до появления фиолетовой окраски (индикатор – индикаторная смесь мурексида, 0,1 г).

Существует вариант фотометрического титрования тетраэтилтиурамдисульфида на основе его реакции с ионами меди (II) с образованием продукта, поглощающего свет в видимой области спектра ($\lambda_{\text{макс}} = 401\text{--}403$ нм). Эта реакция применена Сичко А.И. и Никоновой А.Г. для количественного определения тетраэтилтиурамдисульфида. Исследования проводили в экспериментально установленных оптимальных условиях прохождения химической реакции тетраэтилтиурамдисульфида с сульфатом меди (II). Готовили 0,002 М водный раствор сульфата меди (II) и 0,001 М этанольный (ацетоновый) раствор тетраэтилтиурамдисульфида. Стандартизацию титрованного раствора осуществляли комплексометрическим методом в нейтральной среде, используя в

качестве индикатора мурексид (переход окраски от желто-оранжевой до красно-фиолетовой). Титрование тетраэтилтиурамдисульфида проводили с помощью фотометрического титратора Т-107 при различных значениях pH, которые создавали 1 М раствором гидроксида натрия (калия). По данным опытов строили кривые титрования в координатах: величина светопропускания, % – объем раствора сульфата меди (II). При введении в испытуемый раствор 2–8 мл 1 М раствора гидроксида натрия кривые титрования имеют прямолинейные ветви с резко выраженными точками эквивалентности при одинаковом значении светопропускания, дальнейшее увеличение концентрации щелочи приводит к уменьшению чувствительности. Поэтому предел концентраций 2–8 мл 1 М раствора гидроксида натрия (калия) принят как оптимальный. Данные исследования позволили рассчитать титр сульфата меди по исследуемому веществу и провести количественное определение тетраэтилтиурамдисульфида в субстанции и лекарственных формах [19, 23].

Для количественного определения тетраэтилтиурамдисульфида был использован полярографический метод. Для изучения полярографического поведения вещества из точных навесок готовят рабочие растворы с концентрациями от $7 \cdot 10^{-5}$ до 10^{-3} моль/л. Полярограммы регистрируют на полярографе РО-4 («Radiometr», Дания) с использованием ртутного каплющего электрода с принудительным отрывом капли ($M = 0,968$ мг/с, $t = 0,32$ с). Анодом служит насыщенный каломельный электрод. Полярографическая ячейка термостатируется (25°C). Кислород из растворов удаляют непосредственно в полярографической ячейке путём продувки их азотом, насыщенным парами фонового раствора [24].

Известна методика определения тетраметилтиурамдисульфида (ТМТД) и трихлорфенолята меди (ТХФМ) в трупном материале методом производной спектрофотометрии. Одновременно производят количественное определение препаратов по калибровочному графику. С этой целью определяют оптическую плотность извлечения после очистки при $\lambda_{\text{макс}}=292$ нм (для ТХФМ) и 390 нм (для ТМТД). Из полученных значений вычитают величину оптической плотности в контрольном опыте. Эти цифровые данные

затем используют для расчета содержания искомого препарата.

Результаты расчетов по второй производной и калибровочному графику не имеют больших расхождений, оба метода количественного определения оказываются почти равноценными. Однако в тех случаях, когда искомый препарат обнаруживают в загнившем материале, дающем значительно загрязненные извлечения, определение по калибровочному графику при отсутствии контрольного опыта приводит к получению завышенных результатов по сравнению с методом производной спектрофотометрии [15, 25-27].

Много работ посвящено разработке новых методик исследования карбаминатных соединений и их метаболитов, с применением современных методов анализа ВЭЖХ, жидкостной (LC) и газовой хроматографии (GC) в комбинации с различными вариантами масс-спектрометрии (MS).

Благодаря высокой точности и чувствительности все большее применение в исследовании карбаматов находит метод масс-спектрометрии с времяпролетным (TOF-MS) или квадрупольным времяпролетным (QqTOF-MS) анализаторами масс [28].

Метод TOF-MS применяется как в сочетании с жидкостной хроматографией так и с ВЭЖХ. Авторы предлагают объединенное использование газовой хроматографии и жидкостной хроматографии ультравысокого давления, оба соединенные с масс-спектрометрией с времяпролетным анализатором масс (TOF MS). В этой работе исследовались случаи отравления пчелы медоносной. Большинство соединений были идентифицированы обоими методами, но UHPLC-(Q)TOFMS показал свою более высокую разрешающую возможность в случае обнаружения метаболитов, поскольку большинство метаболитов были более полярными, чем исходные вещества [29].

Использование потенциала жидкостной хроматографии квадрупольного времяпролетного масс-спектрометрии (LC-QqTOF-MS) позволяет идентифицировать и подтвердить карбосульфид и семь из его главных метаболитов (карбофуран, 3-гидроксикарбофуран, 3-кетокарбофуран, 3-гидрокси-7-фенолкарбофуран, 3-кето-7-фенолкарбофуран, 7-фенолкарбофуран) в следовых количествах в растительных объектах. Разработанный метод состоит из герметичной жидкой экстракции (PLE) и LC-QqTOF-MS (0,05 мг/кг за сумму карбосульфид, карбофуран и 3-

гидроксикарбофуран). Полнота выделения колебалась от 55% до 94% с диапазоном определения от 10 (для карбосульфид, карбофуран, 3-гидроксикарбофуран) до 70 мг/кг (3-кето-7-фенолкарбофуран). Метод точен, с относительными среднеквадратичными отклонениями 5%–11% [30].

Представлены результаты исследований, по разработке методик tandemной масс-спектрометрии (MS/MS) для определения карбаматов в объектах различного природного происхождения [31-33].

Один из примеров применения метода ВЭЖХ в комбинации с масс-спектрометрией с химической ионизацией или фотоионизацией при атмосферном давлении (LG-APCI/APPI-MS или LC-ESI-MS/MS) для количественного определения 11 карбаматов и их метаболитов (сульфоксид алдикарба, сульфид алдикарба, оксамил, метомил, 3-гидроксикарбофуран, карбендазим, алдикарб, пропоксур, карбофуран, карбарил и метиокарб) в детском фруктовом питании. Сбор данных под MS/MS был достигнут, накладывая множественный контроль реакции двух перемещений иона фрагмента, чтобы обеспечить высокую чувствительность и селективность для предварительной идентификации и подтверждения. Пределы чувствительности метода были менее чем 0,2 мкг/кг [34].

* * *

Представленный обзор литературы позволяет судить о недостаточном количестве аналитического инструментария, позволяющего фиксировать сероуглерод при содержании его в каких-либо объектах в незначительных количествах. Учитывая токсичность данного соединения, возможности его попадания в антропогенную среду [35], разработка новых чувствительных и воспроизводимых в условиях различных лабораторий методик является актуальной задачей современной науки.

Список литературы

1. Другов Ю.С., Родин А.А. Газохроматографический анализ загрязненного воздуха: Практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. 528 с.
2. Руководство по контролю вредных веществ в воздухе рабочей зоны: Справ. изд. / С.И. Муравьева, М.И. Буковский, Е.К. Прохорова [и др.]. М.: Химия, 1991. 368 с.
3. Рунов В.К., Качин С.В. Молекулярные сорбционно-спектроскопические методы анализа вод и воздуха // Заводская лаборатория. 1993. Т.59, №7. С. 1-4.
4. Брыкина Г.Д., Марченко Д.Ю., Шпигун О.А. Твердофазная спектрофотометрия // Журнал аналитической химии. 1995. Т. 50, №5. С.484-491.

5. Методы твердофазной спектроскопии в анализе воздуха рабочей зоны / С.В. Качин, Н.А. Козель, С.А. Сагалаков [и др.] // Вестник Красноярского гос. ун-та. Естественные науки. 2003. № 2. С. 115-122.

6. Попов А.А., Рунов В.К. Сорбционно-фотометрическое и сорбционно-люминесцентное определение микрокомпонентов в газах // Концентрирование следов органических соединений. М.: Наука, 1990. С. 143-156.

7. Минздрав СССР. Методические указания на определение вредных веществ в воздухе. Вып. 1–5. М.: ЦРИА «Морфлот», 1981. С. 87.

8. Исследование процесса извлечения сероуглерода из головной фракции сырого бензола [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: <http://masters.donntu.org/2010/feht/kolbasa/diss/index.htm> (дата обращения: 03.12.2015).

9. Глузман Л.Д. Лабораторный контроль коксохимического производства. М.: «Металлургия», 1968. 473 с.

10. Примесь – сероуглерод. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: <http://www.ngpedia.ru/id318465p1.html> (дата обращения: 03.12.2015).

11. Коренман И.М. Фотометрический анализ. Рипол Классик, 2014. 283 с.

12. ФСП–42–0015605804 (таблетки тетурама) (государственный стандарт качества лекарственного средства). ОАО «Татхимфармпрепараты», 2005. 9 с.

13. ФСП–42–0550630805 (тетурам) (государственный стандарт качества лекарственного средства). ОАО «Фармстандарт-Лексредства», 2006. 10 с.

14. Клисенко М.А. Александрова Л.Г. Определение остаточных количеств пестицидов. Киев: Здоров'я, 1983. 248 с.

15. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде / под ред. М.А. Клисенко. М.: Колос, 1992. 566 с.

16. Особенности определения ТМТД в биологическом материале / В.К. Шорманов [и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. 2010. Т. 53, № 2. С. 45-49.

17. Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Дурицын Е.П. Определение фурадана в биологических жидкостях // Судебно-медицинская экспертиза. 2005. Т. 48, № 5. С. 36-39.

18. Cabrera H.A.P., Menezes H.C., Oliveira J.V. Evaluation of Residual Levels of Benomyl, Methyl Parathion, Diuron, and Vamidothion in Pineapple Pulp and Bagasse (Smooth Cayenne) // J. Agric. Food Chem. 2000. Vol. 48, № 11. P. 5750-5753.

19. Farago A. Nachweise und quantitative Bestimmung des Disulfiram in biologischem Material // Archif fur Toxicologie. 1967. Bd. 22. P. 396-399.

20. Sita F., Chmelova-Hlavata V., Chmel K. Chromatografische Analyse von Drogen. [S. 1.]: Berlin, 1975. P. 1-101.

21. Мужановський Э.Б., Фартушний А.Ф., Седов А.І. Визначення тетураму і тіураму в біологічному матеріалі // Фармацевтичний журнал. 1979. № 2. С. 54-57.

22. Мусийчук Ю.И. Врачебная экспертиза при отравлениях химическими веществами. СПб, 2007. 64 с.

23. Сичко А.И., Никонова А.Г. Фотометрическое титрование тетурама // Фармация. 1989. Т.38, № 1. С. 62-64.

24. Повышение селективности полярографического определения тетурама / М.С. Гойзман [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. 1991. Т. 25, № 2. С. 77-81.

25. Зайнутдинов Х.С., Вергейчик Т.Х., Икрамов Л.Т. Определение тетраметилтиурамдисульфида и трихлорфенолата меди в трупном материале методом производной спектрофотометрии // Судебно-медицинская экспертиза. 1990. Т. 33, № 4. С. 27-29.

26. Методы определения микроколичеств пестицидов / под ред. М.А. Клисенко. М.: Медицина, 1984. 256 с.

27. Пимков И.В. Спектрофотометрическое определение диэтилдитиокарбамата натрия // Химия и химическая технология. 2007. Т. 50, вып. 6. С. 111-112.

28. García-Reyes J.F., Hernando M.D., Ferrer C. Large Scale Pesticide Multiresidue Methods in Food Combining Liquid Chromatography– Time-of-Flight Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry // Anal. Chem. 2007. Vol. 79, № 19. P. 7308-7323.

29. Portolos T., Ibez M., Sancho J.V. Combined Use of GC-TOF MS and UHPLC-(Q)TOF MS To Investigate the Presence of Nontarget Pollutants and Their Metabolites in a Case of Honeybee Poisoning // J. Agric. Food Chem. 2009. Vol. 57, № 10. P. 4079-4090.

30. Soler C., Hamilton B., Furey A. Liquid Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry Analysis of Carbosulfan, Carbofuran, 3-Hydroxycarbofuran, and Other Metabolites in Food // Anal. Chem. 2007. Vol. 79, № 4. P. 1492-1501.

31. Inoue T., Nagatomi Yas., Suga K. Fate of Pesticides during Beer Brewing Fate // J. Agric. Food Chem. 2011. Vol. 59, № 8. P. 3857-3868.

32. Nanita S.C., Pentz Anne M., Bramble Frederick Q. High-Throughput Pesticide Residue Quantitative Analysis Achieved by Tandem Mass Spectrometry with Automated Flow Injection // Anal. Chem. 2009. Vol. 81, № 8. P. 3134-3142.

33. Wong J., Hao Ch., Zhang K. Development and Interlaboratory Validation of a QuEChERS-Based Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Method for Multiresidue Pesticide Analysis // J. Agric. Food Chem. 2010. Vol. 58, № 10. P. 5897-5903.

34. Wang J., Cheung W., Grant D. Determination of Pesticides in Apple-Based Infant Foods Using Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry // J. Agric. Food Chem. 2005. Vol. 53, № 3. P. 528-537.

35. Методика определения летучих серосодержащих веществ в препаратах для внутривенного введения / Е.Т. Жилиякова, А.А. Зинченко, О.О. Новиков [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2006. №12. С. 701-703.

References

1. Drugov, Y.S., Rodin, A.A. Gas Chromatographic Analysis of the Air Pollution: A Practical Guide. M.: BINOM. Knowledge Laboratory, 2006. 528 p.

2. Guidelines for the Control of Harmful Substances in the Workplace Air / S.I. Muravyov, M.I. Bukovsky, E.K. Prokhorov [et al.]. M.: Chemistry, 1991. 368 p.
3. Runov, V.K., Kachin, S.V. Molecular Sorption-spectroscopic Methods of Analysis of Water and Air // Factory Laboratory. Т.59, №7. 1993: P. 1-4.
4. Brykina, G.D., Marchenko, D.Y., Shpigun, O.A. Solid Phase Spectrophotometry // Journal of Analytical Chemistry. Vol. 50, №5. 1995: Pp.484-491.
5. Methods of Solid State Spectroscopy in the Analysis of the Workplace Air / S.V. Kachin, N.A. Cosel, S.A. Sagalakov [et al.] // Bulletin of Krasnoyarsk State Univ. Natural Sciences. № 2. 2003: Pp. 115-122.
6. Popov, A.A., Runov, V.K. Sorption-photometric and Sorption-luminescence Determination of Microcomponents in Gases // Concentration of trace organic compounds. M.: Science, 1990. P. 143-156.
7. The USSR Ministry of Health. Guidelines on the Definition of Harmful Substances in the Air. Vol.15. M.: TSRIA «Morflot», 1981. P. 87.
8. Investigation of the Process of Extraction of Carbon Disulfide from the Head Fraction of Crude Benzene [electronic resource]. Access: URL: <http://masters.donntu.org/2010/feht/kolbasa/diss/index.htm> (date of access: December 3, 2015).
9. Gluzman, L.D. Laboratory Control of Coconut Chemical Production. M.: «Metallurgy», 1968. 473 p.
10. Impurity – Carbon Disulfide. [Electronic resource]. Access: URL: <http://www.ngpedia.ru/id318465p1.html> (date of access: December 3, 2015).
11. Korenman I.M. Photometric Analysis. Ripol Classic. 2014. 283 p.
12. FAK-42-0015605804 (tablets of teturam) (National Standard of Quality of the Drug). JSC «Tatkhimpharmpreparaty», 2005. 9 p.
13. FAK-42-0550630805 (teturam) (National Standard of Quality of the Drug). JSC «Pharmstandard-Leksredstva», 2006. 10 p.
14. Klisenko, M.A., Alexandrov, L.G. Determination of Pesticide Residues. Kiev: Health Protection, 1983. 248 p.
15. Methods for Determination of Trace Amounts of Pesticides in Food, Feed and the Environment / ed. M.A. Klisenko. M.: Kolos, 1992. 566 p.
16. Features of TMTD Determination in the Biological Material / V.K. Shormanov [et al.] // Forensic Examination. Vol.53, №2. 2010: Pp. 45-49.
17. Shormanov, V.K., Kovalenko, E.A., Duritsyn, E.P. Determination of Furadan in Biological Fluids // Forensic examination. Vol.48, №5. 2005: Pp. 36-39.
18. Cabrera, H.A.P., Menezes, H.C., Oliveira, J.V. Evaluation of Residual Levels of Benomyl, Methyl Parathion, Diuron, and Vamidothion in Pineapple Pulp and Bagasse (Smooth Cayenne) // J. Agric. Food Chem. Vol. 48, № 11. 2000: P. 5750-5753.
19. Farago, A. Nachweise und quantitative Bestimmung des Disulfiram in biologischem Material // Archif fur Toxicologie. Bd. 22. 1967: P. 396-399.
20. Sita, F., Chmelova-Hlavata, V., Chmel, K. Chromatografische Analyse von Drogen. [S. I.]: Berlin, 1975. P. 1-101.
21. Muzhanovsky, E.B., Fartushny, A.F., Sedov, A.I. Determination of teturam and thiuram in biological material // Pharmaceutical Journal. № 2. 1979: P. 54-57.
22. Musiychuk, Y.I. Medical Examination in Case of Poisoning by Chemicals. St. Petersburg, 2007. 64 p.
23. Sichko, A.I., Nikonov, A.G. Photometric Titration of Teturam // Pharmacy. Т.38, №1. 1989: Pp. 62-64.
24. Increasing the Selectivity of Polarographic Determination of Teturam / M.S. Goyzman [et al.] // Pharmaceutical Chemistry Journal. V. 25, № 2. 1991: Pp. 77-81.
25. Zaynutdinov, H.S., Vyarhejchyk, T.H., Ikramov, L.T. Determination of Tetramethylthiuramdisulphide Trihlorfenolyata and Copper in Human Cadaver by Derivative Spectrophotometry // Forensic Examination. Vol. 33, № 4. 1990: Pp. 27-29.
26. Methods for Determination of Trace Amounts of Pesticides / ed. M.A. Klisenko. M.: Medicine, 1984. 256 p.
27. Pimcov, I.V. Spectrophotometric Determination of Sodium Diethyldithiocarbamate // Chemistry and Chemical Technology. Vol.50, №.6. 2007. Pp. 111-112.
28. Garcia-Reyes, J.F., Hernando, M.D., Ferrer, C. Large Scale Pesticide Multiresidue Methods in Food Combining Liquid Chromatography– Time-of-Flight Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry // Anal. Chem. Vol. 79, № 19. 2007: P. 7308-7323.
29. Portolos, T., Ibez, M., Sancho, J.V. Combined Use of GC-TOF MS and UHPLC-(Q)TOF MS To Investigate the Presence of Nontarget Pollutants and Their Metabolites in a Case of Honeybee Poisoning // J. Agric. Food Chem. Vol. 57, № 10. 2009: P. 4079-4090.
30. Soler, C., Hamilton, B., Furey, A. Liquid Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry Analysis of Carbosulfan, Carbofuran, 3-Hydroxycarbofuran, and Other Metabolites in Food) // Anal. Chem. Vol. 79, № 4. 2007: P. 1492-1501.
31. Inoue, T., Nagatomi, Yas., Suga, K. Fate of Pesticides during Beer Brewing Fate // J. Agric. Food Chem. Vol. 59, № 8. 2011: P. 3857-3868.
32. Nanita, S.C., Pentz, Anne M., Bramble, Frederick Q. High-Throughput Pesticide Residue Quantitative Analysis Achieved by Tandem Mass Spectrometry with Automated Flow Injection // Anal. Chem. Vol. 81, № 8. 2009: P. 3134-3142.
33. Wong, J., Hao, Ch., Zhang, K. Development and Interlaboratory Validation of a QuEChERS-Based Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Method for Multiresidue Pesticide Analysis // J. Agric. Food Chem. Vol. 58, № 10. 2010: P. 5897-5903.
34. Wang, J., Cheung, W., Grant, D. Determination of Pesticides in Apple-Based Infant Foods Using Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry // J. Agric. Food Chem. Vol. 53, № 3. 2005: P. 528-537.
35. Methods of Determination of Volatile Sulfur Compounds in the Preparations for Intravenous Administration / E.T. Zhilyakova, A.A. Zinchenko, O.O. Novikov [et al.] // Bul. experimental. biology and medicine. № 12. 2006: P. 701-703.