

с е т е в о й н а у ч н ы й ж у р н а л ISSN 2313-8955

НАУЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

R E S E A R C H R E S U L T

Том 4 | № 1
Volume 4 | 2018

МЕДИЦИНА
И ФАРМАЦИЯ

MEDICINE
AND PHARMACY

Сайт журнала:
rrmedicine.ru

сетевой научный рецензируемый журнал
online scholarly peer-reviewed journal





Том 4, №1. 2018

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2014 г.

ISSN 2313-8955



Volume 4, № 1. 2018

ONLINE SCHOLARLY PEER-REVIEWED JOURNAL

First published online: 2014

ISSN 2313-8955

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: **Куликовский В. Ф.**, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Медицинский институт, Белгород
ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА: **Новиков О. О.**, доктор фармацевтических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Медицинский институт, Белгород
Чурносов М. И., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Медицинский институт, Белгород
РЕДАКТОР АНГЛИЙСКИХ ТЕКСТОВ: **Ляшенко И. В.**, кандидат филологических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Медицинский институт, Белгород
ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ: **Малютин А. Ю.**, кандидат фармацевтических наук, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Медицинский институт, Белгород
ТЕХНИЧЕСКИЙ СЕКРЕТАРЬ: **Цветкова З. Е.**, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Медицинский институт, Белгород

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Гостищев В. К., академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва
Жернакова Н. И., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Медицинский институт, Белгород
Жиликова Е. Т., доктор фармацевтических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Медицинский институт, Белгород
Иллиг Т., профессор, Институт генетики человека, Ганновер, Германия
Куркин В. А., доктор фармацевтических наук, профессор, Самарский государственный медицинский университет, Самара
Малерба Г., кандидат биологических наук, доцент, Веронский университет, Италия
Полоников А. В., доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск
Прощаев К. И., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Медицинский институт, Белгород
Степанов В. А., член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск
Фрейдлин М. Б., доктор биологических наук, Королевский колледж Лондона, Великобритания
Халикова М. А., кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник, Университет Пардубице, Университет Карла в Праге, Чехия
Хуснутдинова Э. К., член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор, Уфимский научный центр Российской академии наук, Уфа
Юров И. Ю., доктор биологических наук, профессор, ФГАОУ ВПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

EDITORIAL TEAM:

EDITOR-IN-CHIEF: **V. F. Kulikovskiy**, Doctor of medicine sciences, Professor, Medical Institute, Belgorod State National Research University, Belgorod
DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF: **O. O. Novikov**, Doctor of pharmacy sciences, Professor, Medical Institute, Belgorod State National Research University, Belgorod
M. I. Churnosov, Doctor of medicine sciences, Professor, Medical Institute, Belgorod State National Research University, Belgorod
ENGLISH TEXT EDITOR: **I. V. Lyashenko**, Ph.D. in Philology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod
EXECUTIVE SECRETARY: **A. Y. Malyutina**, Ph.D. in Pharmacy, Belgorod State National Research University, Belgorod
TECHNICAL SECRETARY: **Z. E. Tsvetkova**, Belgorod State National Research University, Belgorod

EDITORIAL BOARD:

V. K. Gostishchev, Academician of R.A.S. Doctor of medicine sciences, Professor, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow
N. I. Zhernakova, Doctor of medicine sciences, Professor, Medical Institute, Belgorod State National Research University, Belgorod
E. T. Zhilyakova, Doctor of pharmacy sciences, Professor, Medical Institute, Belgorod State National Research University, Belgorod
T. Illig, Professor, Institute of Human Genetics, Hannover, Germany
V. A. Kurkin, Doctor of pharmacy sciences, Professor, Samara State Medical University, Samara
G. Malerba, Ph.D. in Biological Sciences, Associate Professor, University of Verona, Italy
A. V. Polonikov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Kursk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk
K. I. Proshchaev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Medical Institute, Belgorod State National Research University, Belgorod
V. A. Stepanov, Corresponding Member of RAS, Doctor of Biological Sciences, Professor, National Research Tomsk State University, Tomsk
M. B. Freidin, Doctor of Biological Sciences, Royal College of London, UK
M. A. Khalikova, Ph.D. in pharmacy sciences, Postdoc Researcher, University of Pardubice, Charles University Prague, Czech Republic
E. K. Khusnutdinova, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor, Ufa Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa
I. Y. Yurov, Doctor of Biological Sciences, Professor, Russian Medical Academy of Continuing Vocational Education, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

CLINICAL MEDICINE

Джаныбекова И.А. Диагностические возможности различных методов исследования (люмбальная пункция, нейровизуализация) при острой лимфобластной лейкемии и нейрорлейкемии у детей	3	I.A. Dzhanybekova Diagnostic possibilities of different methods of investigation (lumbar puncture, neuroimaging) in acute lymphoblastic leukemia and neuroleukemia in children	3
Ильницкий А.Н., Ивко К.О., Фадеева П.А., Полторацкий А.Н. Оценка когнитивной функции и качества жизни пожилых людей, связанного со здоровьем, под влиянием аэробных и анаэробных тренировок	16	A.N. Ilitsky, K.O. Ivko, P.A. Fadeeva, A.N. Poltoratskiy Assessment of the cognitive function and health-related quality of life in elderly people under the influence of aerobic and anaerobic training	16
Прощаев К.И., Ивко К.О., Фадеева П.А., Полторацкий А.Н. Оценка двигательной активности и состояния мышечной функции у людей пожилого возраста в процессе применения аэробных и анаэробных тренировок	27	K.I. Proshchayev, K.O. Ivko, P.A. Fadeeva, A.N. Poltoratskiy Assessment of motor activity and the state of muscular function in elderly people in the process of aerobic and anaerobic training	27

ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

GENERAL BIOLOGY

Азарова Ю.Э., Клесова Е.Ю., Конопля А.И., Полоников А.В. Роль полиморфизмов генов глутаматцистеинлигазы в развитии сахарного диабета 2 типа у жителей Курской области	39	Yu.E. Azarova, E.Yu. Klyosova, A.I. Konoplya, A.V. Polonikov The role of polymorphisms of glutamate-cysteine ligase in type 2 diabetes mellitus susceptibility in Kursk population	39
Москаленко М.И. Вовлеченность генов матриксных металлопротеиназ в формирование артериальной гипертензии и ее осложнений (обзор)	53	M.I. Moskalenko The involvement of genes of matrix metalloproteinases in the development of arterial hypertension and its complication (review)	53

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

PHARMACEUTICAL SCIENCES

Малютина А.Ю., Шестопалова Н.Н. Изучение полисахаридов травы <i>Acroptilon repens</i> L. флоры Тульской области	70	A.Yu. Malyutina, N.N. Shestopalova Study of polysaccharides of the <i>Acroptilon repens</i> L. herb of the flora of Tula region	70
Панкрушева Т.А., Маравина И.Н., Чекмарёва М.С. Исследования по разработке состава и технологии таблеток для лечения стоматитов	77	M.S. Pankrusheva, I.N. Maravina, T.A. Chekmareva Studies on the development of composition and technology of tablets for treatment of stomatitis	77
Селютин О.А., Новиков О.О. Разработка оригинальной методики определения сероуглерода в инфузионных лекарственных препаратах	88	O.A. Selyutin, O.O. Novikov Development of the original method of determination of carbon disulfide in infusion medicinal drugs	88

**КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА
CLINICAL MEDICINE**

УДК 616.155.392-0.36.1111

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-3-15

Джаныбекова И.А.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ (ЛЮМБАЛЬНАЯ ПУНКЦИЯ, НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИЯ) ПРИ ОСТРОЙ ЛИМФОБЛАСТНОЙ ЛЕЙКЕМИИ И НЕЙРОЛЕЙКЕМИИ У ДЕТЕЙ

Кыргызская Государственная Медицинская Академия
Кыргызстан, 720020, г. Бишкек, ул. Ахунбаева, 92
E-mail: indirad8@mail.ru

Аннотация. Современные методы исследования ЦНС, такие как компьютерная томография, магнитнорезонансная томография и др., обладают хорошей диагностической ценностью, особенно при выявлении опухолей головного мозга. Однако большой процент ложных результатов (30-58%) при острой лимфобластной лейкемии (ОЛЛ), нейролейкемии (НЛ) не дает возможности ориентироваться на современную инструментальную нейровизуализацию (НВ). Поэтому старый рутинный метод диагностики НЛ – люмбальная пункция – приобретает современную практическую значимость, т.к. диагностика НЛ необходима уже с ранних этапов лечения уже на 1 неделю индукционной терапии для выявления такого важного фактора риска как инициальная НЛ (ИНЛ) и определения соответствующего подхода в объеме высокодозовости лечения. Ранняя диагностика ИНЛ определяет показания к краниальному облучению, частоту и кратность лучевой терапии. Своевременно ранняя определенная тактика и стратегия лечения ОЛЛ, НЛ позволяет увеличивать выживаемость больных детей и даже излечивать их от такого недуга. Поэтому ЛР продолжает оставаться единственным диагностическим и лечебным методом при ОЛЛ, НЛ. Поэтому панель биомаркеров ЦСЖ может быть полезна при ОЛЛ, НЛ. Наиболее часто используемые методы нейровизуализации: МРТ, КТ с контрастированием, МР спектроскопия, диффузно-тензорная МРТ, МР венография. Применявшаяся нами методика исследования ЦСЖ оказалась равноценна радиоактивным веществам и нейронспецифическим белкам ЦСЖ. Исследованные показатели (концентрации общего белка-ОБ, альбумина-А и глобулинов-Г, суммарного α -аминоазота-Ам и отдельных нейроактивных аминокислот (глутаминовой кислоты-ГлуК и глутамин-Глу) в ЦСЖ и сыворотке крови при ОЛЛ (статус СТ-ЦНС-1): острый период, ремиссия, костномозговой рецидив и развившаяся НЛ: доклинический и клинический варианты НЛ (СТ-ЦНС-3), инициальной НЛ у детей

(СТ-ЦНС-6). Концентрационные градиенты ЦСЖ/ сыворотка крови для А, Ам, ГлуК и Глу в различные периоды ОЛЛ (СТ-ЦНС-1) и при осложнении НЛ (СТ-ЦНС-3,-6) у детей. Цитоз не всегда соответствовал клинике. Протокольная терапия показала лучшие результаты по выживаемости. ЦСЖ санировалась быстро, встречаемость НЛ составила только 2,4%, как и в оригинальных немецких протоколах. 3-х компонентная интратекальная терапия (ТИТ), усиленная в острый период и консолидации имела лучшие результаты. В ЦСЖ более показательна, достоверна и надежна НАНК. Исследование коэффициентов проницаемости гематоэнцефалического барьера при ОЛЛ и НЛ у детей показал их прогностическую значимость (с исходом в ремиссию, затяжное течение, летальный исход).

Ключевые слова: люмбальная пункция; нейровизуализация; гематоэнцефалический барьер; цереброспинальная жидкость; острая лимфобластная лейкемия; нейролейкемия; дети.

I.A. Dzhanibekova

DIAGNOSTIC POSSIBILITIES OF DIFFERENT METHODS OF INVESTIGATION (LUMBAR PUNCTURE, NEUROIMAGING) IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA AND NEUROLEUKEMIA IN CHILDREN

Kyrgyz State Medical Academy
92 Achunbaev St., Bishkek, 720020, Kyrgyzstan
E-mail: indirad8@mail.ru

Abstract. Modern methods of investigation of the central nervous system – computerized tomography, magnetic-resonance imaging tomography – have good diagnostic value, especially for revealing brain tumors. However, a high proportion of false results (30-58%) in acute lymphoblastic leukemia (ALL), neuroleukemia (NL) does not allow to focus on modern instrumental neuroimaging (NV). Therefore, the old routine method of NL diagnostics – lumbar puncture – is acquiring a new modern practical value, because diagnostics of NL is necessary in the early stages of treatment, during the 1st week of induction therapy, for revealing such an important risk factor as initial NL and for determining an appropriate approach in the volume of high-dosage therapy. Early diagnostics of initial NL determine the indications for cranial irradiation and rate of radial exposition. Timely selected tactics and strategy for treating ALL and INL contribute to the increase in survival and recovery of ill children. Therefore, lumbar puncture continues to be the only diagnostic and treatment method for ALL and NL. Therefore, the biomarker panel of the CSF can be useful in the treatment of ALL and NL. The most commonly used methods of neuroimaging include: MRI, CT with contrast, MR spectroscopy, diffuse-tensor MRI, phlebography. The CSF method used in the study was equivalent to radioactive isotopes and neurospecific proteins of CSF. The studied indicators

(concentration of total protein, albumin, globulins, α -amino nitrogen, neuroactive amino acids – glutamic acid, glutamine concentrations) in CSF and blood serum in ALL (status CNS-1) were the following: acute period, remission, bone marrow relapse and developed NL: preclinical and clinical variants of NL (CNS-3), initial NL in children (CNS-6). Concentration gradients of CSF/ serum for albumin, amino nitrogen, glutamic acid, glutamine in various periods of ALL and NL, and in the complication of NL (ST-CNS-3, -6) in children were determined. Cytosis was not always consistent with the clinical presentation. Protocol therapy showed the best survival results. CSF was scanned quickly, the incidence of NL was only 2,4%, as in the original German protocols. 3-component intrathecal therapy (TIT), increased in acute period, and consolidation had better outcomes. The study of the permeability coefficients of the blood-brain barrier in ALL and NL in children demonstrated their prognostic significance (remission, prolonged course, lethal outcome).

Keywords: lumbar puncture; neuroimaging; blood-brain barrier; cerebrospinal fluid; acute lymphoblastic leukemia; neuroleukemia; children.

Введение. Острая лимфобластная лейкемия (ОЛЛ) в нашей современности самая часто встречающаяся опухолевая патология системы крови у детей (75% – от всех гемобластозов у детей), которая встречается в 30-40 случаях на 1 млн. населения в год и составляет официально 3.2-4.7 на 100 000 детской популяции [4, 5] Различные причины могут стать триггером ОЛЛ, в том числе радиация [2].

Нейролейкемия (НЛ) наиболее частое осложнение ОЛЛ. Современная терапия дает 90-98% полной ремиссии, 90% 5-летнюю выживаемость у детей, в 2-10% – развивается рецидив: при стандартном и высоком риске рецидив – в костном мозге в 60%, при НЛ-рецидиве – не более 5-6%, сочетанные рецидивы – в 10-14% случаев [6].

Современные методы нейровизуализации (НВ) ЦНС как компьютерная томография, магнитнорезонансная томография и др. дают ложнонегативные результаты в 30-58% случаев при ОЛЛ и НЛ. Люмбальная пункция сохраняет практическую значимость, т.к. общепри-

нята в международных протоколах. Применяется резервуар Оммая при сложных НЛ [13]. Гипотеза оккультной НЛ (ОНЛ) поддерживается многими учеными в мире. Хорошие результаты лечения имеются при доклинических вариантах НЛ (ДНЛ), когда имеется только цитоз в ЦСЖ без клиники, наиболее часто встречаемый в период ремиссии ОЛЛ. Инициальная НЛ (ИНЛ) на сегодня считается наиболее важным фактором риска. Развитие клинической НЛ значительно ухудшает прогноз. Наиболее часто используемые методы НВ: магнитнорезонансная томография, компьютерная томография с контрастированием, магнитнорезонансная спектроскопия, диффузно-тензорная МРТ, МР веннография. Протокольная терапия показала лучшие результаты по выживаемости. ЦСЖ санировалась быстро, встречаемость НЛ составила только 2,4%, в оригинальных немецких и др. Рт. 3-х компонентная интратекальная терапия (ТИТ), усиленная в острый период и консолидации имеет лучшие результаты. Расчет риск-факторов, группы риска, рисков

рецидивов ОЛЛ и НЛ, кумулятивных рисков, в том числе и для нейрорецидивов (cumulative incidence of relapse CIR-NL) является обязательным в современном лечении ОЛЛ и НЛ. [3, 14] Профилактика НЛ на протяжении всей эволюции лечения ОЛЛ, НЛ проводилась интратекальным (ИТ) введением препаратов в спинномозговой канал в остром периоде, консолидации и на протяжении 1 года терапии. Краниальное облучение, имеющее много неблагоприятных последствий, стараются заменить интратекальной терапией (ИТТ) большинство зарубежных и российских авторов. Более чем 80% стала выживаемость детей в России благодаря протокольной терапии (BFM, ALL-MB-2002, 2008 и др.). [11].

Таким образом, люмбальная пункция была и осталась актуальным путем оптимизации лечения и профилактики ОЛЛ, НЛ для повышения выживаемости детей, что и определяет важность исследования ЦСЖ при ОЛЛ, НЛ на современном этапе.

Цель исследования: изучение и оценка состояния гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), ЦСЖ при ОЛЛ и НЛ у детей в динамике наблюдения и лечения и определение их диагностической и прогностической значимости

Задачи исследования:

1. Изучить концентрации общего белка (ОБ), альбумина (А) и глобулинов (Г), суммарного α -аминоазота (Ам) и отдельных нейроактивных аминокислот (глутаминовой кислоты-ГлуК и глутамин-Глу) в ЦСЖ и сыворотке крови при ОЛЛ (статус СТ-ЦНС-1): острый период, ремиссия, костномозговой рецидив) и развившейся НЛ: доклинический ДНЛ и клинический КНЛ варианты НЛ (СТ-

ЦНС-3), ИНЛ – инициальной НЛ у детей (СТ-ЦНС-6).

2. На основании определения концентрационных градиентов (К) ЦСЖ/сыворотка крови для альбумина, суммарного α -аминоазота, глутаминовой кислоты и глутамина в различные периоды ОЛЛ (СТ-ЦНС-1: острый период, ремиссия, рецидив) и при осложнении НЛ (СТ-ЦНС -3: ДНЛ, КНЛ, СТ-ЦНС-6: ИНЛ) у детей:

- оценить проницаемость ГЭБ во временные точки проведения люмбальных пункций согласно протоколу;

- оценить динамику проницаемости ГЭБ в различные периоды ОЛЛ и при осложнении НЛ у пациентов с НЛ с исходом в ремиссию, с затяжным течением НЛ, с летальным исходом НЛ. Оценить значимость этих показателей как предикторов ЦНСЛ в ранней диагностике и прогнозе НЛ;

- сравнить различные варианты НЛ по определявшимся биохимическим показателям;

- сравнить различные цитозы НЛ с определявшимися биохимическими показателями, при различных видах терапии ОЛЛ, эффективность интратекальной терапии (ИТТ).

3. Определить ЦСЖ биохимические величины острого периода, ремиссии ОЛЛ и НЛ в динамике заболевания.

Материалы и методы исследования. В представленной работе обследованы, пролечены, проанализированы 103 пациента с ОЛЛ и НЛ (в возрасте от 3 до 18 лет), которым проведена германская протокольная терапия BFM и стандартные курсы полихимиотерапии (ПХТ) в НЦЗД РАМН. Согласие родителей (опекунов) пациента на лечение в клинике и на настоящее исследование получено.

В качестве групп сравнения были выбраны пациенты с ремиссией ОЛЛ и НЛ. В процессе наблюдения дети переходили из одной группы в другие по мере протекания заболевания. НЛ наблюдалась нами с разделением по вариантам: ИНЛ, ДНЛ, КНЛ. Пациенты на РtBFM-лечении распределялись на три группы риска – 1) стандартного риска (SRG), 2) промежуточного риска (ImRG) и 3. высокого риска (HRG) и по статусу ЦНС: ЦНС-1: острый период, ремиссия, костномозговой рецидив), при НЛ – ЦНС-3: ДНЛ, КНЛ, ЦНС-6: ИНЛ) у детей согласно критериям немецкого оригинального Рt.

Биохимические методы исследования. Были изучены концентрации общего белка, альбумина, глобулинов, α -аминоазота (α -Ам), глутаминовой кислоты и глутамина в ЦСЖ и сыворотке крови, N-ацетилнейраминаовой кислоты в ЦСЖ. Проницаемость ГЭБ оценивалась нами на основании вычисления концентрационных градиентов (К) ЦСЖ/ сыворотка крови для А (КА), К α -Ам, КГлуК и КГлу. Реактивы использовались фирмы Berhinger (ФРГ), Sigma (США). Определения проведены на спектрофотометре “Atom” (Швеция), СФ-15а (Россия).

ЦСЖ брали у больных во время проведения контрольных люмбальных пункций, одновременно интратекально вводили препараты (1 – метотрексат – МТХ или в сочетании 2 – МТХ и цитозин-арабинозид – ага-С, или 3 – плюс преднизолон/дексаметазон) с профилактической и лечебной целью. Венозную кровь брали натошак в день проведения люмбальных пункций из крупных магистральных сосудов или из катетера в подключичной вене перед введением препаратов.

Все определения проводились как минимум в трех параллельных пробах, а средние значения были использованы для статистической обработки результатов. Определение каждого биохимического показателя проведено в динамике заболевания: в разные периоды ОЛЛ от 1 до 5 раз, при осложнении ОЛЛ НЛ – от 1 до 12 раз (1621 образец ЦСЖ, 834 образец сыворотки крови – всего 2455 образца).

Оценка всех полученных результатов проведена в сравнении с группой детей с ОЛЛ, находящихся в Рм, а также с нормативами, принятыми в литературе для здоровых детей. При проведении каждой серии исследований использованы контрольные сыворотки (PrecinormS, PrecinormG, PrecinormU – Berhinger, ФРГ). Все результаты обработаны статистически на компьютере пакетом программ «Statistica».

Результаты исследования и их обсуждение. Были определены биохимические параметры, которые могут характеризовать нейропротективный обмен ЦНС у детей с ОЛЛ, НЛ. Полученные данные представлены в табл.1-7, из которых видно, что спектр выявляемых состояний очень широк. Диагностический диапазон также многообразен. Это может быть констатация колеблющихся состояний ликвора в ответ на обменные, лечебные процессы, также диагностический алгоритм определенных патологических изменений. Хочется отметить, что белковый профиль ЦСЖ играет важную роль в расшифровке определенных процессов ЦНС. БХ палитра ликвора – хороший индикатор состояния биохимического обмена мозга: оно отражает и состояние всех составных частей ГЭБ, и его проницаемость, и ИТС нейроменигеальных структур. Современные мето-

ды НВ как МРТ, КТ и др. имеют большие преимущества в НВ всех внутренних составных частей черепа, вплоть до микроструктур. Однако, видимо, особенность ОЛЛ, НЛ в том, что это всегда микроочаги, выявляемые даже патологоанатомически под микроскопом, чем и можно объяснить большой процент ложнонегативных результатов именно при ОЛЛ, НЛ. Нейровизуализация оказалась полезной только в выявлении вторичных опухолей головного мозга, но это, как правило, поздние отдаленные осложнения и исход ОЛЛ. А так как общепризнана определяющая роль НЛ в этиопатогенезе ОЛЛ, то ранняя диагностика НЛ может играть существенную роль в определении тактики и стратегии терапии, объеме проводимого токсичного лечения и прогнозе. Это позволит таргетно усиливать терапию в определенных моменты, снижать лучевую нагрузку на детский организм, отказаться от излишней высокодозовости, которая неблагоприятно влияет на детей и в настоящее время является одной из основных причин ранних смертей на протокольном лечении.

В отдельных диагностически сложных случаях детям проводилась инструментальная нейровизуализация структур головного мозга – компьютерная томо-

графия, магнитнорезонансная томография, электроэнцефалография, которые не внесли большей ясности у обследованных больных.

С помощью ЦСЖ были выявлены все варианты НЛ – ИНЛ, ДНЛ, КНЛ. Все показатели ЦСЖ были сопоставлены с величинами Ц ЦСЖ. Также нами были исследованы вышеперечисленные параметры ЦСЖ у нескольких больных с резервуаром Оммая – ремиссия НЛ по величинам вентрикулярной жидкости соответствовала показателям ЦСЖ и принятым нормативам [13].

Сравнение результатов в двух возрастных группах: у детей от 2 до 10 лет и от 10 до 15 лет – не нашло достоверной разницы между ними. значительных различий у детей с различными клиническими вариантами НЛ (гипертензионный, менингоэнцефалитический и др.) обнаружено также не было.

Таким образом, анализ зависимости исследованных показателей от возраста и пола, а также от клинических проявлений НЛ, не выявил существенных отличий, что позволило нам рассматривать полученные результаты только в зависимости от периодов заболевания ОЛЛ и отразившейся НЛ. Полученные результаты представлены в таблицах 1-7.

Таблица 1

Концентрация общего белка в ЦСЖ при ОЛЛ¹ и НЛ² у детей*

Table 1

Protein concentration in CSF in ALL, NL in children

Период ОЛЛ		Статус ЦНС ⁹	Период НЛ	Общий белок ЦСЖ (г/л)		Min-max	
				M±m(σ)			
1.	Р ³	ЦНС-1		1.	0.46±0.02(0.15)	1.	0.25-0.74
2.	ОП ⁴	ЦНС-1		2.	0.3±0.01(0.05)	2.	0.21-0.49
3.	КМР ⁵	ЦНС-1		3.	0.57±0.03(0.1)**	3.	0.42-0.77
4.	ДНЛ ⁶	ЦНС-3	о ¹¹ п ¹²	4.	(о) 0.51±0.04(0.15)* (п) 0.47±0.04(0.14)	4.	(о) 0.34-2.8 (п) 0.24-0.73

Период ОЛЛ		Статус ЦНС ⁹	Период НЛ	Общий белок ЦСЖ (г/л)		Min-max	
				M±m(σ)			
			p ¹³		(p) 0.56±0.11(0.31)**		(p) 0.28-0.69
5.	КНЛ ⁷	ЦНС-3	о п р	5.	(о) 0.73±0.05(0.17)*** (п) 0.56±0.07(0.19)** (р) 0.49±0.03(0.15)	5.	(о) 0.55-2.7 (п) 0.40-1.26 (р) 0.32-0.62
6.	ИНЛ ⁸	ЦНС-6	о п р	6.	(о) 1.0±0.05(0.16)** (п) 0.52±0.05(0.1)** (р) 0.41±0.05(0.1)	6.	(о) 0.45-4.36 (п) 0.6-1.35 (р) 0.2-2.2
Здоровые дети (Е. Цветанова, 1986)				<0.45 г/л			

*Обозначения:

1-ОЛЛ – острая лимфобластная лейкемия, 2-НЛ – нейрорлейкемия, 3-Р – ремиссия ОЛЛ, 4-ОП – острый период ОЛЛ, 5-КМР – костномозговой рецидив ОЛЛ, 6-ДНЛ – доклинический вариант НЛ, 7-КНЛ – клинический вариант НЛ, 8-ИНЛ – инициальная нейрорлейкемия; 9-Статус ЦНС1 – нетравматическая люмбальная пункция (LP) без бластов в цитопрепарате СМЖ, Статус ЦНС3 – нетравматическая LP, цитоз от 5 и выше лейкоцитов/мкл ликвора с бластами в цитопрепарате, и/или обнаружение опухолевых масс в ЦНС, и/или парез ЧМН, не объяснимый другими причинами, Статус ЦНС6 – выявление бластов в ЦСЖ в ходе индукционной терапии при инициальном статусе ЦНС1; 11-о – острый период НЛ, 12-п – подострый период НЛ, 13-р – ремиссия НЛ; * p<0.05, ** p<0.01, ***p<0.001.

Таблица 2*

Концентрация альбумина в ЦСЖ при ОЛЛ и НЛ у детей

Table 2*

Albumin concentration in CSF in ALL, NL in children

Период ОЛЛ		Статус ЦНС	Пери од НЛ	Альбумин ЦСЖ (г/л)		Min-max	
				M± m(σ)			
1.	Р	ЦНС-1		1.	0.23±0.005(0.05)	1.	0.13-0.26
2.	ОП	ЦНС-1		2.	0.18±0.007(0.04)	2.	0.11-0.22
3.	КМР	ЦНС-1		3.	0.19±0.01(0.05)	3.	0.17-0.24
4.	ДНЛ	ЦНС-3	о п р	4.	(о) 0.26±0.03(0.09) (п) 0.29±0.03(0.09)** (р) 0.27±0.02(0.05)	4.	(о) 0.19-0.29 (п) 0.16-0.49 (р) 0.17-0.38
5.	КНЛ	ЦНС-3	о п р	5.	(о) 0.31±0.02(0.08)* (п) 0.34±0.02(0.08)** (р) 0.24±0.02(0.06)**	5.	(о) 0.55-2.7 (п) 0.32-0.48 (р) 0.24-0.44
6.	ИНЛ	ЦНС-6	о п р	6.	(о) 0.36±0.02(0.05) (п) 0.39±0.03(0.16)*** (р) 0.3±0.04(0.1)	6.	(о) 0.2-3.28 (п) 0.2-0.95 (р) 0.11-1.46
Здоровые дети (Е. Цветанова, 1986)				<0.35 г/л			

*Обозначения: см. табл. 1.

Таблица 3*

Концентрация глобулинов в ЦСЖ при ОЛЛ и НЛ у детей

Table 3*

Globulin concentration in CSF in ALL, NL in children

Период ОЛЛ		Статус ЦНС	Пери од НЛ	Альбумин ЦСЖ (г/л)		Min-max	
				M±m(σ)			
1.	Р	ЦНС-1		1.	0.23±0.01(0.08)	1.	0.12-0.45
2.	ОП	ЦНС-1		2.	0.12±0.003(0.04)	2.	0.04-0.16
3.	КМР	ЦНС-1		3.	0.38±0.04(0.13)**	3.	0.32-0.56
4.	ДНЛ	ЦНС-3	о п р	4.	(о) 0.25±0.04(0.14) (п) 0.18±0.03(0.09) (р) 0.29±0.07(0.2)**	4.	(о) 0.16-0.32 (п) 0.08-0.24 (р) 0.23-0.31
5.	КНЛ	ЦНС-3	о п р	5.	(о) 0.42±0.05(0.17)** (п) 0.22±0.06(0.18) (р) 0.17±0.02(0.05)	5.	(о) 0.31-0.4 (п) 0.08-0.30 (р) 0.08-0.18
6.	ИНЛ	ЦНС-6	о п р	6.	(о) 0.26±0.03(0.15)* (п) 0.13±0.03(0.09) (р) 0.11±0.02(0.05)	6.	(о) 0.12-0.56 (п) 0.09-0.7 (р) 0.09-0.13
Здоровые дети (Е. Цветанова, 1986)				<0.2 г/л			

*Обозначения: см. табл. 1.

Таблица 4*

Концентрация α-аминоазота в ЦСЖ при ОЛЛ и НЛ у детей

Table.4*

α-Amino nitrogen concentration in CSF in ALL, NL in children

Период ОЛЛ		Статус ЦНС	Пери од НЛ	α-аминоазот ЦСЖ (моль/л)		Min-max	
				M±m(σ)			
1.	Р	ЦНС-1		1.	1.63±0.12(0.9)	1.	0.2-4.8
2.	ОП	ЦНС-1		2.	1.76±0.18(0.7)	2.	0.6-6.0
3.	КМР	ЦНС-1		3.	2.9±0.2(0.6)*	3.	1.01-6.4
4.	ДНЛ	ЦНС-3	о п р	4.	(о) 2.23±0.34(0.8) (п) 2.7±0.5(1.0)** (р) 1.9±0.19(0.5)	4.	(о) 1.2-5.1 (п) 0.24-3.83 (р) 1.0-5.9
5.	КНЛ	ЦНС-3	о п р	5.	(о) 4.4±0.5(1.7)*** (п) 2.8±0.3(0.7)** (р) 2.3±0.2(0.8)	5.	(о) 0.6-7.0 (п) 0.38-1.26 (р) 2.2-5.2
6.	ИНЛ	ЦНС-6	о п р	6.	(о) 1.83±0.2(0.5) (п) 3.1±0.2(0.5)*** (р) 3.7±0.5(1.1)***	6.	(о) 1.7-6.03 (п) 1.6-3.9 (р) 1.1-5.93
Здоровые дети (Е. Цветанова, 1986)				1.5-2.15			

*Обозначения: см. табл. 1.

Таблица 5*

Концентрация глутаминовой кислоты в ЦСЖ при ОЛЛ и НЛ у детей

Table 5*

Glutamic acid concentration in CSF in ALL, NL in children

Период ОЛЛ		Статус ЦНС	Пери од НЛ	Глутаминовая кислота ЦСЖ (мкмоль/л)		Min-max	
				M±m(σ)			
1.	Р	ЦНС-1		1.	56.8±4.44(31.5)	1.	50.0-171.4
2.	ОП	ЦНС-1		2.	60.3±8.26(28.9)	2.	19.0-95.0
3.	КМР	ЦНС-1		3.	57.1±8.2(22.7)	3.	38.1-125.7
4.	ДНЛ	ЦНС-3	о п р	4.	(о) 78.7±8.42(24.7) (п) 62.5±9.2(20.7) (р) 32.1±13.4(23.3)	4.	(о)1.0-190.4 (п) 53.4-82.73 (р) 43.7-143.8
5.	КНЛ	ЦНС-3	о п р	5.	(о) 95.2±12.6(30.4)*** (п) 76.2±9.0(26.9)** (р) 152.32	5.	(о)19.0-114.2 (п) 60.4-103.2
Здоровые дети (Е. Цветанова, 1986)				3.58-61.1			

*Обозначения: см. табл. 1.

Таблица 6*

Концентрация глутамин в ЦСЖ при ОЛЛ и НЛ у детей

Table 6*

Glutamine's concentration of CSF in ALL, NL in children

Период ОЛЛ		Статус ЦНС	Пери од НЛ	Глутамин ЦСЖ (мкмоль/л)		Min-max	
				M±m(σ)			
1.	Р	ЦНС-1		1.	604.9±29.5(252.5)	1.	233.2-1515.7
2.	ОП	ЦНС-1		2.	744.4±66.8(173.8)*	2.	466.4-1516.0
3.	КМР	ЦНС-1		3.	846.0±55.7(184.7)**	3.	571.3-1165.9
4.	ДНЛ	ЦНС-3	о п р	4.	(о) 656.2±9.3(92.3) (п) 600.4±36.4(87.4) (р) 563.5±42.0(72.7)	4.	(о) 629.6-1340.8 (п) 570.4-682.73 (р) 437.2-1130.9
5.	КНЛ	ЦНС-3	о п р	5.	(о) 717.±50.9(160.8)** (п) 632.8±50.7(130.0) (р) 291.5	5.	(о)582.9-816.1 (п) 560.4-783.2
Здоровые дети (Е. Цветанова, 1986)				660.0±200.0		460.0-860.0	

*Обозначения: см. табл. 1.

Таблица 7*

**Концентрация N-ацетилнейраминовой кислоты (НАНК)
в ЦСЖ при ОЛЛ и НЛ у детей**

Table7*

N-acetylneuraminic acid concentration in CSF in ALL, NL in children

Период ОЛЛ статус ЦНС		Цитоз ЦСЖ (кол-во кле- ток/ мм ³)		N-ацетилнейраминовая кислота ЦСЖ мг/л					
				Min		max		M±m(σ)	
1.	Р ЦНС-1	1.	0 – 5	1.	12.7	1.	46.0	1.	31.6±2.5(8.5)
2.	ОП ЦНС-1	2.	0 – 5	2.	19.6	2.	66.0	2.	36.6±6.0(19.9)
3.	КМР ЦНС-1	3.	0 – 7	3.	29.6	3.	84.0	3.	54.8±10.2(25.2)
4.	ДНЛ ЦНС-3	4.	(о)6-318 (п)0-137 (р)0-23	4.	(о) 22.0 (п) 44.0 (р) 8.0	4.	(о) 78.0 (п) 60.0 (р) 82.0	4.	(о)66.2±5.2(11.7)** (п) 50.4±2.5(4.9) (р) 40.3±3.5(6.1)
5.	КНЛ ЦНС-3	5.	(о)1-672 (п)0-158 (р)0-13	5.	(о) 31.2 (п) 22.8 (р) 41.9	5.	(о) 180.0 (п) 100.0 (р) 121.8	5.	(о)111.5±13.1(22.7)*** (п) 55.3±16.2(32.4) (р) 52.5±1.2(2.0)
6.	ИНЛ ЦНС-6	6.	(о)9-26 (п)0-10 (р)0-8	6.	(о) 167.2 (п) 43.4 (р) 36.0	6.	(о) 180.0 (п) 85.2 (р) 98.0	6.	(о) 173.6±6.4(9.0)*** (п) 64.3±20.9(36.2) (р) 67.0±31.0(43.8)
7.	N		0-5		5.4		19.8		12.6 ±7.2

*Обозначения: см. табл. 1.

Для нейровизуализации при ОЛЛ, НЛ применяются в настоящее время компьютерная томография, магнитнорезонансная томография, магнитнорезонансная венография, диффузно-взвешенная магнитнорезонансная томография, магнитнорезонансная спектроскопия [1].

Доказано, что магнитнорезонансная томография, компьютерная томография с контрастированием дают высокую ча-

стоту ложнонегативных (ЛН) показателей 30-58%. Так, по данным литературы, магнитнорезонансная венография может облегчить диагностику местоположения тромба в синусе, компьютерная томография даже с контрастированием в 10-40% дает ложнонегативные результаты.

Сейчас различают НЛ по области поражения, когда происходит вовлечение вещества торможения головного

мозга, оболочек, спинного мозга и черепно-мозговых нервов (ЧМН), которые подтверждены патоморфологически. Наиболее распространенными неврологическими симптомами НЛ, которые согласуются с литературой, являются головная боль, психические изменения по типу неврозов, снижение когнитивных способностей, судорожный синдром.

КНЛ проявляется обычно симптомами менингита, пареза ЧМН (V, I пар), оптической нейропатии (1/2 сторонней) – которая часто является 1-м симптомом (в современных условиях лазерная терапия сохраняет зрение), невропатии нижней ветви ЧМН V в виде онемения подбородка. Краниальная невропатия может встречаться и нечасто – по типу поражения глазодвигательных, лицевых, возвратных ЧМН, которые проявляются птозом, диплопией, парезом мимических мышц или голосовых связок.

Самым информационным методом диагностики НЛ является люмбальная пункция, цитология [8, 9].

Таким образом, большой процент ложнонегативных результатов (30-58% – почти половина случаев) не позволяет рекомендовать МРТ и КТ к широкому использованию в практике при НЛ. Магнитнорезонансная томография, компьютерная томография в данном контексте можно использовать как инструментальные методы визуализации в случаях КНЛ, но более информативно при вторичных опухолях [6].

ЭЭГ хорошо регистрирует изменения в процессах возбуждения и торможения головного мозга, но не выявляет НЛ. В настоящее время самым чувствительным подходом в выявлении отдаленных последствий химиотерапии признается метод магнитнорезонансной спектроскопии [12].

Люмбальная пункция выявляет ИНЛ на ранних стадиях ОЛЛ, ДНЛ на доклиническом этапе, когда клинические признаки отсутствуют, подтверждает КНЛ, но пока не диагностирует оккультную НЛ (ОНЛ), хотя всеми исследователями признается наличие ОНЛ у всех больных, в связи с чем этот момент учитывается при планировании протокольной терапии у каждого пациента [10].

На современном этапе ОНЛ не диагностируется. Нам представилась интересная работа по сиаловой кислоте ЦСЖ при ОЛЛ, НЛ [7]. Было выявлено статистически достоверное увеличение ее величины при НЛ, что позволяет рекомендовать ее использование во все периоды заболевания, но особенно в инициальный/индукционный период для раннего выявления ИНЛ еще без плеоцитоза или ИНЛ на самых ранних стадиях ОЛЛ.

Выводы

1. Общий белок, N-ацетилнейраминовая кислота, α -аминоазот ЦСЖ при ОЛЛ, НЛ отражали течение заболевания, значительно повышаясь в ОП и снижаясь при наступлении ремиссии на фоне проводимого лечения.

2. Концентрационные градиенты соответствовали 3 вариантам течения НЛ: с исходом в ремиссию, с затяжным течением, с летальным исходом, показывая свою значимость как предикторов НЛ. Различные варианты НЛ показали разную степень и динамику величин повышения и снижения ИП. Так, максимальное увеличение величин наблюдалось при ИНЛ. Также при ИНЛ происходило быстрое уменьшение ИП, однако не до контрольных значений. ИНЛ по активности полученных величин даже превосходит КНЛ, несмотря на незначительный плеоцитоз (меньше 10 кл). ИНЛ – фактор риска ОЛЛ, согласно всем международным протоколам.

3. Обследованные величины быстро снижаются на фоне протокольной терапии. ТГТ эффективна. ТГТ можно обозначить как тройной эффект, как «золотой стандарт» ИТТ.

ДНЛ по активности вышеуказанных величин может быть равноценным КНЛ. Снижения до первоначальных значений не происходит.

4. КНЛ не всегда сопровождается высоким плеоцитозом, но практически всегда имел высокие величины определявшихся показателей. Возможно, это свидетельствует о глубокой лейкемизации ЦНС в веществе головного мозга (не только оболочки).

Различные варианты КНЛ имели увеличенные значения величин. Степень повышения зависела от остроты и распространенности процесса.

5. ЦСЖ-данные острого периода ОЛЛ были равноценны костномозговому рецидиву ОЛЛ.

6. Общий белок ЦСЖ с удлинением ремиссии повышается за счет реакции нейроменингеальных структур.

7. Ремиссионные величины НЛ могут иметь повышенные значения при полной ремиссии ОЛЛ.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Вильчевская Е.В. Поздние осложнения профилактики нейролейкемии у детей с острым лимфобластным лейкозом // Укр. журнал гематол. трансфуз. 2002. №4. С.25-29.
2. Лушников Е.Ф. 20-лет морфологических исследований медицинских последствий Чернобыльской аварии // Архив патологии. 2006. Т.2, №68. С.3-7.
3. Рогачева Е.Р. Оптимизация ЦНС-направленной терапии в программном лечении острого лимфобластного лейкоза у де-

тей: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М., 2007.

4. Румянцев А.Г. Эволюция лечения острого лимфобластного лейкоза у детей: эмпирические, биологические и организационные аспекты // Вопросы гематологии/онкологии и иммунологии в педиатрии. 2015. №2. С.5-15.

5. Румянцева Ю.В. Риск-адаптированная терапия острого лимфобластного лейкоза у детей и подростков в исследовании ALL-MB-2002: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М.; 2011

6. Шугарева Л.М., Бойченко Э.Г. Неврологические осложнения у детей с острым лимфобластным лейкозом // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2012. Т.2, №112. С.80-84.

7. Asami T., Tanaka A., Asami K., Sakai K. Use of cerebrospinal fluid sialic acid to diagnose and monitor CNS leukemia // Acta med. Etbiol. 1986. 3. Pp. 85-92.

8. Chamberlain M.C. Leukemia and the nervous system. Medicine Current Oncology Reports // Cancer Neurology In Clinical Practice. 2008.7. Pp.555-565

9. Ficek K., Blamek S., Sygula D., Miszczyk L., Santa-Jakimczyk D., Tarnawski R. Evaluation of the late effects of CNS prophylactic treatment in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) using magnetic resonance spectroscopy // Acta Neurochir. 2010. 106. 195. Pp.7.

10. Goldman A., Hain R., Liben S. Oxford textbook of palliative care for children. 2nd edition. Oxford university press. 2012.

11. Karachunsiy A., Romiantseva J., Lagoiko S., Buhner C., Tallen G., Aleinikova "O. Efficacy and toxicity of dexamethasone vs methylprednisolone long-term results in more than 1000 patients from the Russian randomized multicentric trial ALL-MB-2002." *Leukemia*. 2015. 10.1038. Pp.63-66.

12. Laningham F.H., Kun L.E., Wilburn R.E. Childhood central nervous system leukemia: historical perspectives, current therapy, and acute neurological sequelae // *Neuroradiology*. 2007. 49.11. Pp.873-888.

13. Sandberg D.I., Bilsky M.H., Souweidane M.M., Bzdil J., Gutin P.H. Ommaya reservoirs for the treatment of leptomeningeal metastases // *Neurosurgery*. 2000. 47.1. Pp.49-54.

14. Shrappe M. Evolution of BFM trials for childhood acute lymphoblastic leukemia // *Ann. Hematol.* 2004. 83.1. Pp. 121-123.

References

1. Vilchevskaya, E.V. (2002), "Pozdniye oslozhneniya profilaktiki neyroleykemii u detey s ostrym limfoblastnym leykozom" [Late complications of prevention of neuroleukaemia in children with acute lymphoblastic leucosis], *Ukr. Jurnal hematoltransfuz*, 4, 25-29. Russian.

2. Lushnikov, E.F. (2006), "20-let morfologicheskikh issledovaniy meditsinskikh posledstviy Chernobyl'skoy avarii" [20-years of morphological research of medical consequences of Chernobyl accident], *Archiv patologii*, 2 (68), 3-7. Russian.

3. Rogacheva, E.R. (2007), *Optimizatsiya TSNS-napravlennoy terapii v programnom lechenii ostrogo limfoblastnogo leykoza u detey*. M. [Optimization of CNS-target therapy in acute lymphoblastic leukemia in children] Abstract of doctoral thesis in med. sciences. Moscow, 44. Russian.

4. Rumyantsev, A.G. (2015), "Evolutsiya lecheniya ostrogo limfoblastnogo leykoza u detey: empiricheskiye, biologicheskiye i organizatsionnyye aspekty" [Evolution of treatment of acute lymphoblastic leukemia in children; empiric, biological and organization aspects], *Voprosi gematologii/oncologii i immunologii v pediatrii*, 2, 5-15. Russian.

5. Rumyantseva, J.V. (2011), *Risk-adaptirovannaya terapiya ostrogo limfoblastnogo leykoza u detey i podrostkov v issledovanii ALL-MV-2002*: Abstract of PhD thesis in med. sciences. M.; [Risk-adapting therapy of acute lymphoblastic leukemia in children and teenagers in research ALL-MB-2002]. Abstract of doctoral thesis in med. sciences. Moscow, 44. Russian.

6. Shugareva, L.M., Boichenko, A.G. (2012), "Nevrologicheskiye oslozhneniya u detey s ostrym limfoblastnym leykozom" [Neuro-

logic complications in children with acute lymphoblastic leukemia], *Zhurnal nevropatologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2 (112), 80-84. Russian.

7. Asami, T., Tanaka, A., Asami, K., Sakai, K. (1986), "Use of cerebrospinal fluid sialic acid to diagnose and monitor CNS leukemia", *Acta med. etbiol*, 34 (3), 85-92.

8. Chamberlain, M.C. (2008), "Leukemia and the nervous system. Medicine Current Oncology Reports", *Cancer Neurology In Clinical Practice*, 7, 555-565.

9. Ficek, K., Blamek, S., Sygula, D., Mischczyk, L., Santa-Jakimczyk, D., Tarnawski, R. (2010), "Evaluation of the late effects of CNS prophylactic treatment in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) using magnetic resonance spectroscopy", *Acta Neurochir*, 106, 195-197.

10. Goldman, A., Hain, R., Liben, S. (2012), *Oxford textbook of palliative care for children*. 2nd edition. Oxford university press.

11. Karachunsiy, A., Romiantseva, J., Lagoiko, S., Buhrer, C., Tallen, G., Aleinikova, O. (2015), "Efficacy and toxicity of dexamethasone vs methylprednisolone long-term results in more than 1000 patients from the Russian randomized multicentric trial ALL-MB-2002", *Leukemia*, 10 (1038), 63-66.

12. Laningham, F.H., Kun, L.E., Wilburn, R.E. (2007), "Childhood central nervous system leukemia: historical perspectives, current therapy, and acute neurological sequelae", *Neuroradiology*, 49 (11), 873-888.

13. Sandberg, D.I., Bilsky, M.H., Souweidane, M.M., Bzdil, J., Gutin, P.H. (2000), "Ommaya reservoirs for the treatment of leptomeningeal metastases", *Neurosurgery*, 47 (1), 49-54.

14. Shrappe, M. (2004), "Evolution of BFM trials for childhood acute lymphoblastic leukemia", *Ann.Hematol*, 83 (1), 121-123.

Джаныбекова Индира Алтынбековна, старший преподаватель, кандидат медицинских наук

Dzhanybekova Indira Altynbekovna, Senior Lecturer, PhD in Medicine

УДК 612.76:615.825

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-16-26

Ильницкий А.Н.¹,
Ивко К.О.²,
Фадеева П.А.³,
Полторацкий А.Н.²

**ОЦЕНКА КОГНИТИВНОЙ ФУНКЦИИ И КАЧЕСТВА
ЖИЗНИ ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ, СВЯЗАННОГО
СО ЗДОРОВЬЕМ, ПОД ВЛИЯНИЕМ АЭРОБНЫХ
И АНАЭРОБНЫХ ТРЕНИРОВОК**

¹ Белорусское республиканское геронтологическое общественное объединение,
210022, проспект Строителей, 11 А, Витебск, Республика Беларусь

² Автономная научная некоммерческая организация высшего образования
«Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции
и геронтологии», 197110 Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, дом 3

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, 197022, Российская Федерация,
г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
E-mail: a-ilnitski@yandex.ru

Аннотация. Авторами проведено уникальное исследование роли сочетанных аэробных и анаэробных тренировок в обеспечении степени функционирования и качества жизни пожилых людей, связанного со здоровьем. Актуальность настоящего исследования обусловлена недостаточным количеством доказательных исследований в области разработки немедикаментозных методов профилактики гериатрических синдромов, к которым относятся физические тренировки. *Целью исследования* явилось изучение когнитивной функции и качества жизни пожилых людей, связанного со здоровьем, под влиянием аэробных и анаэробных тренировок. *Материалы и методы.* Исследование проводилось на базе комплексных центров социального обслуживания населения г. Санкт-Петербурга. В исследование были включены 218 людей пожилого возраста и разделены в зависимости от предлагаемого варианта физической активности на три группы. Продолжительность наблюдения составила 6 месяцев. Для оценки когнитивных функций была использована русскоязычная версия шкалы MMSE (Mini Mental State Examination). Для оценки параметров качества жизни, связанного со здоровьем, был использован универсальный опросник SF-36. *Результаты.* Дана научная оценка применения сочетанных аэробных и анаэробных тренировок в пожилом возрасте на состояние когнитивных функций. Показано, что достоверные позитивные изменения согласно данным шкалы «Краткая оценка психического статуса» отмечаются уже через три месяца от начала тренировок, чего не наблюдается при изолированном применении аэробных тренировок. Так же, в статье приведены результаты, показывающие, что улучшение параметров качества жизни, свя-

занного со здоровьем происходит за счет улучшения показателей ролевого, эмоционального, социального функционирования, психологического благополучия и снижения зависимости от боли. **Заключение.** Программы расширенных двигательных нагрузок и сочетание аэробных и анаэробных тренировок в виде скандинавской ходьбы и силовых нагрузок в равной степени в течение шести месяцев достоверно улучшают показатели когнитивного статуса лиц пожилого возраста в среднем на 10,7%, $p < 0,05$. Профилактические мероприятия на основе сочетания скандинавской ходьбы с режимом занятий два раза в неделю по 60 минут и силовых тренировок два раза в неделю по 30 минут приводят к достоверному повышению показателей качества жизни в 1,5 раза в части общего здоровья и физического функционирования у людей пожилого возраста, $p < 0,05$.

Ключевые слова: аэробные и анаэробные тренировки; качество жизни; пожилой возраст; когнитивные функции.

A.N. Ilnitsky¹,
K.O. Ivko²,
P.A. Fadeeva³,
A.N. Poltoratskiy²

ASSESSMENT OF THE COGNITIVE FUNCTION
AND HEALTH-RELATED QUALITY OF LIFE IN ELDERLY
PEOPLE UNDER THE INFLUENCE OF AEROBIC
AND ANAEROBIC TRAINING

¹ Belarusian Republican Gerontological Public Association,
11A Stroiteley Ave., Vitebsk, Republic of Belarus, 210022

² Autonomous Nonprofit Scientific Organization of Higher Education "Research Centre
"Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology",
3 Dynamo Ave., Saint Petersburg, Russia, 197110

³ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6-8 L.
Tolstoy St., Saint Petersburg, Russia 197022

E-mail: a-ilnitski@yandex.ru

Abstract. The authors conducted a unique study of the role of combined aerobic and anaerobic training in ensuring the degree of functioning and health-related quality of life of elderly people. The study is relevant due to the lack of evidence-based research in the development of non-drug methods for the prevention of geriatric syndromes, which include physical exercise. The aim of the study was to study the cognitive function and health-related quality of life of elderly people under the influence of aerobic and anaerobic training. *Materials and methods* the study was conducted on the basis of complex social services centers for the residents of St. Petersburg. The study included 218 elderly people aged between 60 and 69 years. They were divided into three groups according to the proposed variant of physical activity. The duration of the follow-up was 6 months. For the evaluation of cognitive functions, the Russian version of the MMSE scale (Mini Mental State Examination) was used. The generic SF-36 questionnaire was used to estimate the parameters of the health-related quality

of life. *Results.* The scientific evaluation of the application of combined aerobic and anaerobic training in elderly people to the state of cognitive functions is given. It was shown that significant positive changes, according to the scale of the "Mini Mental State Examination" scale, are observed three months after the start of training, and that is not observed with the isolated use of aerobic training. Besides, the article shows the results reflecting that the improvement of health-related quality of life is due to the improvement in the role of emotional, social functioning, psychological well-being and reduction of dependence on pain. *The conclusion.* The extended motor load programs and the combination of aerobic and anaerobic training in the form of Nordic walking and strength training, both improve significantly the cognitive status of elderly people by an average of 10.7%, $p < 0.05$ for six months. Preventive measures based on the combination of Nordic walking with the mode of training twice a week for 60 minutes and strength training twice a week for 30 minutes lead to a significant increase in the quality of life by 1.5 times in terms of overall health and physical functioning in elderly people, $p < 0.05$.

Keywords: aerobic and anaerobic training; quality of life; elderly age; cognitive functions.

Введение. Старческая астения – это особое состояние, характерное именно для пожилого и старческого возраста, ведущее к ограничению жизнедеятельности, зависимости от окружающих и повышению риска смерти [1, 2]. Средние значения распространенности старческой астении составляют 12,9%, старческой преастении – 48,9%. Считается, что при отсутствии адекватных мер лечения и реабилитации преастения переходит в развернутую форму в течение 4-5 лет [3, 8, 10].

Основными гериатрическими синдромами, ассоциированными со старческой астенией, являются: саркопения (возрастное снижение мышечной массы и силы), мальнутриция (дефицит питания и потеря массы тела), когнитивные расстройства, синдром гипомобильности (ограничения передвижения), синдром вынужденного длительного пребывания в постели, синдром падений, синдром нарушений сна и др. [2, 4, 5].

Важными средствами направленного воздействия на физическое развитие и на

предотвращение преждевременного старения являются немедикаментозные методы профилактики, к которым относятся физические тренировки [6, 7].

Дефицит доказательных исследований в области разработки профилактических программ двигательных тренировок для профилактики развития основных гериатрических синдромов, имеющих важное биосоциальное значение, определили актуальность изложенного исследования [1, 6, 9].

Цель исследования – изучение когнитивной функции и качества жизни пожилых людей, связанного со здоровьем, под влиянием аэробных и анаэробных тренировок.

Материалы и методы. Работа выполнена на базе комплексных центров социального обслуживания населения г. Санкт-Петербурга.

Всего в исследование было включено 218 людей пожилого возраста в возрасте от 60 до 69 лет, средний возраст $64,2 \pm 2,2$ года, мужчин – 89 чел.,

женщин – 119 чел. Пациенты молодого и среднего возраста не включались в исследование, т.к. в отношении их не рассматривают гериатрические синдромы. Пациенты старше 70 лет не включались в исследование, т.к. их гериатрический статус был заведомо более тяжелым и в отношении их требуется отдельное исследование.

Все пациенты в зависимости от предлагаемого варианта физической активности были разделены на три группы: 1-ая группа (контрольная): пациенты получали стандартные рекомендации врача по режиму физической активности (ежедневные прогулки продолжительностью не менее 30 минут), в эту группу было включено 61 человек пожилого возраста в возрасте от 60 до 69 лет, средний возраст $64,0 \pm 3,1$ года, мужчин – 26 чел., женщин – 35 чел.; 2-ая группа: дополнительно к стандартным рекомендациям пациенты были зачислены в группу занятий аэробными видами тренировок в виде скандинавской ходьбы с режимом занятия два раза в неделю по 60 минут под руководством инструктора. В эту группу было включено 69 человек пожилого возраста в возрасте от 60 до 69 лет, средний возраст $66,0 \pm 2,8$ года, мужчин – 24 чел., женщин – 35 чел.; 3-я группа: дополнительно к стандартным рекомендациям пациенты были зачислены в группу занятий сочетанными аэробными видами тренировок в виде скандинавской ходьбы с режимом занятия два раза в неделю по 60 минут + анаэробными силовыми нагрузками с гантелями и на тренажерах в щадящем и щадяще-тренирующем режимах с частотой занятий два раза в неделю по 30 минут под руководством инструктора. В эту группу было включено 88 человек пожилого возраста в возрасте от 60 до 69 лет, средний возраст $64,1 \pm 2,7$ года, мужчин –

39 чел., женщин – 49 чел. Продолжительность наблюдения составила 6 месяцев. До начала занятий, через 3 и 6 месяцев после занятий всем пациентам, включенным в исследование, для оценки когнитивных функций была использована русскоязычная версия шкалы MMSE (Mini Mental State Examination), для оценки параметров качества жизни, связанного со здоровьем, был использован универсальный опросник SF-36.

Результаты исследования и их обсуждение. Оценка когнитивной функции у людей пожилого возраста в процессе применения аэробных и анаэробных тренировок. Одной из задач исследования было проведение оценки эффективности различных режимов физических тренировок путем определения когнитивных функций у лиц пожилого возраста. Для этого применялся опросник «Mini Mental State Examination» (таблица 1).

Как показали результаты исследования, в первой группе наблюдения, в которой проводились стандартные программы двигательной реабилитации, показатели когнитивных функций не имели достоверной разницы в начале эксперимента, через три месяца и через полгода.

Достоверные различия регистрировались во второй группе, где реализовывались тренировки с применением скандинавской ходьбы. Отмечалось достоверное увеличение показателей когнитивных функций с $25,8 \pm 0,01$ баллов до $28,4 \pm 0,03$ баллов после трех месяцев; до $28,7 \pm 0,05$ баллов через полгода. В третьей группе эксперимента, где проводились сочетанные тренировки, динамика показателей была сходной: $25,7 \pm 0,04$ баллов в начале эксперимента, через три месяца – $28,5 \pm 0,07$ баллов, $28,8 \pm 0,13$ баллов через полгода.

Таблица 1

**Оценка когнитивных функций по опроснику
«Mini Mental State Examination» (в баллах)**

Table 1

**Evaluation of cognitive functions in the questionnaire
"Mini Mental State Examination" (in points)**

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
1-я	25,6±0,18	25,9±0,09	26,0±0,11
2-я	25,8±0,01	28,4±0,03 ^{*,1-2}	28,7±0,05 ^{*,1-2}
3-я	25,7±0,04	28,5±0,07 ^{*,1-3}	28,8±0,13 ^{*,1-3}

^{*} $p < 0,05$ по сравнению с показателем до начала тренировок;

¹⁻² $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и второй групп;

¹⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и третьей групп.

Достоверная разница была между группой с применением стандартных программ и группами, где реализовывались расширенные программы на основе скандинавской ходьбы и сочетанных тренировок, $p < 0,05$.

Таким образом, для профилактики развития когнитивных нарушений у лиц пожилого возраста целесообразным и достоверно эффективным является применение программ расширенных двигательных нагрузок и сочетание аэробных и анаэробных тренировок.

Оценка качества жизни пожилых людей, связанного со здоровьем, под влиянием аэробных и анаэробных тренировок. Нами была проведена оценка качества жизни в группах наблюдения до реализации профилактических программ и после. В разделе «общее здоровье» показатели достоверно увеличились в каждой группе уже через три месяца, достигая максимума через полгода. При этом лучшие результаты были при комбинированной системе двигательных тренировок в третьей группе (таблица 2).

Таблица 2

**Сравнительный возрастной анализ качества жизни людей
пожилого среднего возраста**

Table 2

Comparative age analysis of middle-aged people's life quality

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
Общее здоровье			
1-я	54,1±2,2	61,6±0,3 [*]	66,1±1,1 ^{*,**}
2-я	55,2±2,1	68,2±1,4 ^{*,1-2}	74,0±0,7 ^{*,**,1-2}
3-я	54,8±1,6	75,0±1,1 ^{*,1-3,2-3}	83,4±1,4 ^{*,**,1-3,2-3}
Ролевое физическое функционирование			
1-я	52,1±1,0	62,2±2,1 [*]	63,1±1,5 [*]
2-я	53,3±1,4	64,4±1,8 [*]	78,3±1,8 ^{*,**,1-2}
3-я	53,1±1,8	65,2±2,4 [*]	80,2±3,1 ^{*,**,1-3}
Показатель зависимости от боли			
1-я	75,4±2,3	77,6±2,8	77,2±2,8
2-я	75,2±3,1	84,1±1,1 ^{*,1-2}	85,1±0,3 ^{*,1-2}

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
3-я	73,3 $\pm$ 2,1	85,2 $\pm$ 1,2 ^{*,1-3}	85,0 $\pm$ 1,3 ^{*,1-3}
Физическое функционирование			
1-я	54,2 $\pm$ 1,3	62,3 $\pm$ 2,0 [*]	63,4 $\pm$ 1,1 [*]
2-я	53,8 $\pm$ 1,8	64,2 $\pm$ 1,7 [*]	70,1 $\pm$ 1,6 ^{*,**,1-2}
3-я	53,6 $\pm$ 1,5	64,9 $\pm$ 2,0 [*]	79,9 $\pm$ 2,2 ^{*,**,1-3,2-3}
Жизненная активность			
1-я	57,4 $\pm$ 2,1	66,2 $\pm$ 1,1 [*]	65,3 $\pm$ 1,8 [*]
2-я	57,8 $\pm$ 2,0	84,2 $\pm$ 1,1 ^{*,1-2}	82,1 $\pm$ 3,4 ^{*,1-2}
3-я	56,8 $\pm$ 1,6	83,1 $\pm$ 2,9 ^{*,1-3}	85,2 $\pm$ 3,8 ^{*,1-3}
Психологическое здоровье			
1-я	67,3 $\pm$ 2,0	66,3 $\pm$ 1,4	68,2 $\pm$ 1,7
2-я	70,1 $\pm$ 2,4	90,2 $\pm$ 2,4 ^{*,1-2}	89,2 $\pm$ 2,8 ^{*,1-2}
3-я	68,1 $\pm$ 1,2	89,2 $\pm$ 2,5 ^{*,1-3}	90,1 $\pm$ 3,9 ^{*,1-3}
Ролевое эмоциональное функционирование			
1-я	64,2 $\pm$ 1,8	65,2 $\pm$ 1,9	67,8 $\pm$ 2,0
2-я	68,2 $\pm$ 2,5	88,4 $\pm$ 3,4 ^{*,1-2}	88,0 $\pm$ 2,7 ^{*,1-2}
3-я	66,2 $\pm$ 3,0	89,4 $\pm$ 2,1 ^{*,1-3}	89,2 $\pm$ 2,8 ^{*,1-3}
Социальное функционирование			
1-я	60,3 $\pm$ 2,1	61,4 $\pm$ 1,8	63,1 $\pm$ 2,8
2-я	58,2 $\pm$ 2,2	69,4 $\pm$ 1,2 ^{*,1-2}	81,6 $\pm$ 3,0 ^{*,**,1-2}
3-я	59,1 $\pm$ 0,8	69,9 $\pm$ 2,0 ^{*,1-3}	83,5 $\pm$ 2,8 ^{*,**,1-3}

^{*} $p < 0,05$ по сравнению с показателем до начала тренировок;

^{**} $p < 0,05$ по сравнению с показателем в 3 мес. от начала тренировок;

¹⁻² $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и второй групп;

²⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем второй и третьей групп;

¹⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и третьей групп.

Как видно из таблицы, ролевое физическое функционирование также улучшилось в каждой группе, при этом достоверные значимые результаты отмечались в группе, где применялись сочетанные нагрузки: 53,1 $\pm$ 1,8 до начала тренировок; 65,2 $\pm$ 2,4 – через три месяца и 80,2 $\pm$ 3,1 через полгода.

Оценка зависимости от боли показала значимые результаты только во второй группе, где использовалась скандинавская ходьба: до начала тренировок – 75,2 $\pm$ 3,1; через три месяца занятий – 84,1 $\pm$ 1,1; через полгода – 85,1 $\pm$ 0,3. Показатели были достоверно выше, чем в

первой группе, где применялись стандартные программы профилактики, $p < 0,05$.

Максимально значимые показатели в сравнении с первой группой были у лиц пожилого возраста после сочетанных тренировок: до эксперимента – 73,3 $\pm$ 2,1; через три месяца – 85,2 $\pm$ 1,2; через полгода – 85,0 $\pm$ 1,3. Таким образом, сочетанные тренировки достоверно повышали качество жизни в части переносимости боли.

Следующим анализируемым разделом опросника были показатели физического функционирования. Улучшение

качества жизни отмечалось во всех группах наблюдения, достигая наиболее значимых результатов при сочетанных тренировках: $53,6 \pm 1,5$; $64,9 \pm 2,0$ и $79,9 \pm 2,2$ в анализируемые периоды соответственно. При этом разница между группами была достоверна, $p < 0,05$.

Жизненная активность также повышалась при всех системах тренировок, но наиболее существенные показатели были зарегистрированы в третьей группе при сочетанной тренирующей программе и составляли соответственно: $56,8 \pm 1,6$; $83,1 \pm 2,9$ и $85,2 \pm 3,8$. Достоверной разница была между первой и третьей группами, $p < 0,05$. Иными словами, адекватной альтернативой стандартным программам двигательной реабилитации может стать скандинавская ходьба или сочетанные тренировки, применяемые в третьей группе.

Показатели психологического здоровья достоверно выше были у лиц, занимающихся скандинавской ходьбой по сравнению с первой группой, где проводились прогулки на свежем воздухе: до эксперимента – $70,1 \pm 2,4$ через три месяца – $90,2 \pm 2,4$, через полгода – $89,2 \pm 2,8$, $p < 0,05$.

Наиболее значимая разница, достоверно сравнимая с первой группой, была у лиц, где использовались сочетанные тренировки: скандинавская ходьба и занятия в тренажерном зале: до тренировок – $68,1 \pm 1,2$; через три месяца – $89,2 \pm 2,5$; после шести месяцев показатели составляли $90,1 \pm 3,9$, $p < 0,05$.

Ролевое эмоциональное функционирование повышалось больше после занятий скандинавской ходьбой: $68,2 \pm 2,5$; $88,4 \pm 3,4$ и $88,0 \pm 2,7$ соответственно, что было достоверно значимо в сравнении с первой группой, где занятия проводились по стандартной системе.

При сочетанных тренировках показатели ролевого эмоционального функционирования составляли $66,2 \pm 3,0$; $89,4 \pm 2,1$ и $89,2 \pm 2,8$ в разные периоды наблюдения и отличались наибольшей разницей при сравнении с первой группой, $p < 0,05$. Достоверно значимых отличий между программами, включающими только скандинавскую ходьбу, и сочетанными тренировками не отмечалось.

Оценка социального функционирования выявила достоверно значимые результаты у лиц второй группы при сравнении их с первой группой, где применялась стандартная схема профилактики: до тренировок – $58,2 \pm 2,2$; через три месяца – $69,4 \pm 1,2$; через полгода – $81,6 \pm 3,0$, $p < 0,05$.

Оценка тех же показателей у лиц третьей группы, где проводились сочетанные тренировки, показала достоверно значимую разницу при сравнении с первой группой: $59,1 \pm 0,8$; $69,9 \pm 2,0$ и $83,5 \pm 2,8$, $p < 0,05$. Достоверной разницы в эффективности тренировок между второй и третьей группами наблюдения получено не было.

Следовательно, достоверно значимым было влияние сочетанных тренировок на общее здоровье и физическое функционирование. В других разделах шкалы качества жизни существенной разницы при реализации программ, основанных только на скандинавской ходьбе или сочетании ходьбы с занятиями в тренажерном зале, выявлено не было. Это позволило нам рекомендовать расширение стереотипных программ профилактики и дополнение их скандинавской ходьбой и/или тренировками в тренажерном зале под руководством инструктора, т.к. отмечалось достоверное повышение качества жизни по большин-

ству показателей: ролевое физическое функционирование; показатель зависимости от боли; жизненная активность; психологическое здоровье; ролевое эмоциональное функционирование; социальное функционирование.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют также рекомендовать нам сочетанные тренировки для повышения качества жизни лиц пожилого возраста, а именно, показателей общего здоровья и физического функционирования в 1,5 раза (рисунок).



Рис. Биосоциальные эффекты аэробных и анаэробных нагрузок в пожилом возрасте
Fig. Biosocial effects of aerobic and anaerobic exercises in old age

Заключение. Таким образом, программы расширенных двигательных нагрузок и сочетание аэробных и анаэробных тренировок в виде скандинавской ходьбы и силовых нагрузок в равной степени в течение шести месяцев достоверно улучшают показатели когнитивного статуса лиц пожилого возраста в среднем на 10,7%, $p < 0,05$. Так же, важно отметить тот факт, что профилактические мероприятия на основе сочетания скандинавской ходьбы с режимом занятий два раза в неделю по 60 минут и силовых тренировок два раза в неделю по 30 минут приводят к достоверному повышению показателей качества жизни в 1,5 раза в части общего здоровья и физического функционирования у людей пожилого возраста, $p < 0,05$.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Костно-мышечная система как орган-мишень процессов старческой астении / И.А. Злобина, А.Н. Кривцунов, К.И. Прощаев [и др.] // Успехи геронтологии. 2015. Т. 28. 4. С. 725-728.
2. Прощаев К.И., Ильницкий А.Н., Жернакова Н.И. Основные гериатрические синдромы: учебное пособие / К. И. Прощаев, А. Н. Ильницкий, Н. И. Жернакова; Автономная некоммерческая орг. "Науч.-исслед. мед. центр "Геронтология". Белгород. 2012.
3. Прощаев К.И., Ильницкий А.Н. Старческая астения (frailty) как концепция современной гериатрии // В сборнике: Проблемы возрастной патологии в Арктическом регионе: биологические, клинические и социальные аспекты сборник тезисов, статей российской научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 93-103.

4. Пузанова О.Г. Доказательная профилактика в здравоохранении: акцент на здоровье пожилых // Геронтологический журнал им. В.Ф. Купревича. 2012.1-2. С. 88-89.

5. Шабалин В.Н., Романов Ю.А., Алимский А.В., Серова Л.Д., Малыгина Н.А., Артемьева О.В., Терешина Е.В., Юрина Т.М., Семенов В.Ф., Мирошниченко И.В., Столпникова В.Н., Левашова Т.В., Чулок Т.А., Шатохина С.Н., Нетудыхатко А.Н., Борисова А.М., Филатова М.Г., Митина З.С., Мандрыгина Е.Л., Водолагина Н.Н. и др. Руководство по геронтологии: рук. для системы послевуз. образования врачей / Под ред. академика РАМН, проф. В.Н. Шабалина. Москва. 2005.

6. Gilardi F., Scarcella P., Proietti M.G., Capobianco G., Rocco G., Capanna A., Mancinelli S., Marazzi M.C., Palombi L., Liotta G. Frailty as a predictor of mortality and hospital services use in older adults: a cluster analysis in a cohort study // Eur J Public Health. 2018.

7. Malaguarnera M., Vacante M., Frazzetto P.M., Motta M. What is the frailty in elderly? Value and significance of the multidimensional assessments // Arch Gerontol Geriatr. 2013. 56. Pp. 23-26.

8. Mitnitski A.B., Rutenberg A.D., Farrell S., Rockwood K. Aging, frailty and complex networks // Biogerontology. 2017. 18. Pp. 433-446.

9. Searle S.D., Mitnitski A., Gahbauer E.A. et al. A standard procedure for creating a frailty index // BMC Geriatr. 2008. 8. Pp. 24.

10. Tinetti M.E. Performance-oriented assessment of mobility problems in elderly patients // J Am Geriatr Soc. 1986. 34 (2). Pp. 119-126.

References

1. Zlobina, I.A., Krivtsunov, A.N., Proshchaev, K.I. [i dr.] (2015), "Kostno-myshechnaya sistema kak organ-mishen' protsessov starcheskoy astenii" [Musculoskeletal system as a target organ of a frailty process], *Uspehi gerontologii*, 28 (4), 725-728. Russian.
2. Proshchaev, K.I., Il'nitskiy, A.N., Zhernakova N.I. (2012), "Osnovnye geriatricheskie

sindromy: uchebnoe posobie" [The main geriatric syndromes: a tutorial], *Avtonomnaja nekommercheskaja org. "Nauch.-issled. med. centr "Gerontologiya".* Belgorod, Russia. Russian.

3. Proshchayev, K.I., Il'nitskiy, A.N. (2016), "Starcheskaya asteniya (Frailty) kak kontseptsiya sovremennoy geriatrii" [Frailty as a concept of modern geriatrics], *Problemy vozrastnov patologii v Arkticheskom regione: biologicheskie, klinicheskie i social'nye aspekty: sb. tez., st. ros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem., Yakutsk, 07-08 apr. 2016 g. / Evrop. otd. mezhdunar. assoc. gerontologii i geriatrii, Gerontol. o-vo pri RAN, Yakutskiy nauch. centr kompleksnyh med. problem [i dr.], 7-8 apr. 2016, Yakutsk, 93-103. Russian.*

4. Puzanova, O.G. (2012), "Dokazatel'naya profilaktika v zdravookhraneni: aktsent na zdorov'e pozhilykh" [Evidence-based prevention in health care: an emphasis on the health of elderly people], *Gerontologicheskij zhurnal im. V.F. Kuprevicha.* 1-2. 88-89. Russian.

5. Shabalin, V.N., Romanov, Yu.A., Alimskiy, A.V., Serova, L.D., Malygina, N.A., Artemeva, O.V., Tereshina, E.V., Jurina, T.M., Semenov, V.F., Miroshnichenko, I.V., Stolpnikova, V.N., Levashova, T.V., Chulok, T.A., Shatokhina, S.N., Netudykhatko, A.N., Borisova, A.M., Filatova, M.G., Mitina, Z.S., Mandrygina, E.L., Vodolagina, N.N. i dr (2005), "Rukovodstvo po gerontologii: ruk. dlya sistemy poslevuz. obrazovaniya vrachey Pod red. akademika RAMN, prof. V.N. Shabalina" [Gerontology manual: a guide to the post-graduate system. medical education / Ed. Academician of RAMS, prof. V.N. Shabalin]. Moscow. Russian.

6. Gilardi, F., Scarcella, P., Proietti, M.G., Capobianco, G., Rocco, G., Capanna, A., Mancinelli, S., Marazzi, M.C., Palombi, L., Liotta, G. (2018), "Frailty as a predictor of mortality and hospital services use in older adults: a cluster analysis in a cohort study", *Eur J Public Health*, available at: <https://doi.org/10.1093/eurpub/cky006>

7. Malaguarnera, M., Vacante, M., Frazzetto, P.M., Motta, M. (2013), "What is the

frailty in elderly? Value and significance of the multidimensional assessments", *Arch Gerontol Geriatr*, 56, 23-26.

8. Mitnitski, A.B., Rutenberg, A.D., Farrell, S., Rockwood, K. (2017), "Aging, frailty and complex networks", *Biogerontology*, 18, 433-446.

9. Searle, S.D., Mitnitski, A., Gahbauer, E.A. et al. (2008), "A standard procedure for creating a frailty index", *BMC Geriatr*, 8, 24.

10. Tinetti, M.E. (1986), "Performance-oriented assessment of mobility problems in elderly patients", *J Am Geriatr Soc*, 34 (2), 119-126.

Ильницкий Андрей Николаевич – доктор медицинских наук, доцент, председатель Белорусского республиканского геронтологического общественного объединения, Минск, Беларусь.

Ивко Ксения Олеговна – Автономная научная некоммерческая организация высшего образования «Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»), 197110 Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, дом 3.

Фадеева Полина Андреевна – научный сотрудник, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8.

Полторацкий Артем Николаевич – кандидат медицинских наук, Автономная научная некоммерческая организация высшего образования «Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»), 197110 Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, дом 3.

Ilnitsky Andrey Nikolaevich – Head of the Belarusian Republican Gerontological Public Association, Holder of Habilitation Degree in Medicine, Professor.

Ivko Kseniya Olegovna – Researcher of the Autonomous Nonprofit Scientific Organization of Higher Education “Research Centre “Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology”.

Fadeeva Polina Andreevna – 6-year Student, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Poltoratskiy Artem Nikolaevich – Candidate of Medical Sciences, Researcher of the Autonomous Nonprofit Scientific Organization of Higher Education “Research Centre “Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology”.

УДК 616.74:612.76:615.825

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-27-38

Прощаев К.И.¹,
Ивко К.О.²,
Фадеева П.А.³,
Полторацкий А.Н.²

**ОЦЕНКА ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
И СОСТОЯНИЯ МЫШЕЧНОЙ ФУНКЦИИ У ЛЮДЕЙ
ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА В ПРОЦЕССЕ ПРИМЕНЕНИЯ
АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ ТРЕНИРОВОК**

¹ Открытый институт человека и природы, Вильнюс, Литва,
Laisves pr. 60-1107, LT-05120

² Автономная научная некоммерческая организация высшего образования
«Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции
и геронтологии», 197110 Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, дом 3

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, 197022, Российская Федерация,
г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
E-mail: prashchayeu@yandex.ru

Аннотация. Авторами в данном исследовании впервые проведен анализ роли сочетанных аэробных и анаэробных тренировок в профилактике синдрома гипомобильности. Актуальность исследования обусловлена тем, что в настоящее время имеет место дефицит доказательных исследований в области разработки профилактических программ двигательных тренировок для профилактики развития основных гериатрических синдромов, имеющих важное биосоциальное значение. *Целью исследования* являлось проведение анализа двигательной активности и состояния мышечной функции у людей пожилого возраста в процессе аэробных и анаэробных тренировок. *Материалы и методы.* В исследование были включены 218 людей пожилого возраста и разделены в зависимости от предлагаемого варианта физической активности на три группы. Продолжительность наблюдения составила 6 месяцев. Для оценки параметров передвижения, устойчивости и баланса у всех пациентов была применена шкала «Оценка двигательной активности у пожилых» (Functional mobility assessment in elderly patients). Для оценки выраженности синдрома саркопении применяли кистевую динамометрию на обеих руках динамометром «Мегеон 34090». *Результаты.* Показано, что сочетанные тренировки на основе скандинавской ходьбы (аэробные нагрузки) и анаэробных силовых нагрузок приводят к достоверному повышению двигательной активности лиц пожилого возраста в 1,4 раза через полгода от начала занятий. Также достоверно доказана возможность применения сочетанных аэробных и анаэробных тренировок в профилактике синдрома саркопении, что подтверждается достоверным увеличением силы в течение шести месяцев тренировок по данным кистевой динамометрии у мужчин с 25 до 36 кг, а у

женщин с 23 до 33 кг. **Заключение.** Таким образом, применение расширенных программ тренировок играет значимую биосоциальную роль. В частности, скандинавскую ходьбу как самостоятельный вид тренировки, так и в сочетании с тренировками с гантелями и на тренажерах, можно использовать для повышения двигательной активности (по результатам исследования в 1,4 раза) за счет улучшения показателей походки. Кроме, того, сочетанные тренировки способствуют профилактике синдрома падений, что достигается улучшением показателей устойчивости в большей мере, чем при изолированном применении скандинавской ходьбы.

Ключевые слова: двигательная активность; мышечная функция; пожилой возраст; аэробные и анаэробные тренировки.

K.I. Proshchayev¹,
K.O. Ivko²,
P.A. Fadeeva³,
A.N. Poltoratskiy²

ASSESSMENT OF MOTOR ACTIVITY AND THE STATE OF MUSCULAR FUNCTION IN ELDERLY PEOPLE IN THE PROCESS OF AEROBIC AND ANAEROBIC TRAINING

¹ Open Institute of Human and Nature, 60-1107 Laisves Ave., LT-05120, Vilnius, Republic of Lithuania.

² Autonomous Nonprofit Scientific Organization of Higher Education "Research Centre "Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology", 3 Dynamo Ave., Saint Petersburg, 197110, Russia

³ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6-8 L. Tolstoy St., Saint Petersburg, 197022, Russia
E-mail: prashchayeu@yandex.ru

Abstract. The authors in this study for the first time analyzed the role of combined aerobic and anaerobic training in the prevention of hypomobility syndrome. The study is relevant due to the fact that currently there is a lack of evidence-based research in the development of preventive programs of motor training to prevent the development of geriatric syndromes, which are of significant biosocial importance. *The aim of the research.* The aim of the study was to analyze the motor activity and the state of muscular function in elderly people in the process of aerobic and anaerobic training. *Materials and methods.* The study included 218 elderly people, who were divided into three groups according to the proposed variant of physical activity. The duration of the follow-up was 6 months. To assess the parameters of movement, stability and balance in all patients, "The functional mobility assessment in elderly patients" Scale was used. To assess the severity of the syndrome of sarcopenia we applied the carpal dynamometry "Megeon 34090" in both hands. *Results.* It is shown that combined trainings on the basis of Nordic walking (aerobic exercise) and anaerobic power exercises lead to a significant increase in the motor activity of elderly people 1.4 times in six months from the beginning of the training. Besides, the possibility of using combined aerobic and anaerobic training in the prevention of sarco-

penia syndrome was reliably proven, which is confirmed by a significant increase in strength during six months of training according to carpal dynamometry data in men from 25 to 36 kg, and in women from 23 to 33 kg. *The conclusion.* Thus, the use of advanced training programs plays a significant biosocial role. In particular, Nordic (Scandinavian) walking as an independent type of training, and in combination of training with dumbbells and exercise machines, it can increase motor activity (according to the results of the study 1.4 times) by improving the performance of gait. In addition, combined exercises contribute to the prevention of the syndrome of falls, which is achieved by improving the indicators of stability to a greater extent than with the isolated use of Nordic walking.

Key words: motor activity; muscular function; elderly age; aerobic and anaerobic training.

Введение. В настоящее время основной гериатрической помощи является концепция предупреждения старческой астении и борьба с ее последствиями [1, 2, 3]. Для российской медицины данная концепция является новой. С 2016 г. она закреплена в следующих нормативных документах: «Стратегия действий в интересах граждан старшего поколения в Российской Федерации до 2025 года», утвержденная Распоряжением Правительства Российской Федерации от 5 февраля 2016 г. № 164-р., Приказ Минздрава РФ «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «Гериатрия» от 29 января 2016 г., № 38 н. В этих документах подчеркивается приоритетность данной концепции, а также то обстоятельство, что методами оказания гериатрической помощи должны владеть не только врачи-гериатры, но и другие специалисты медицинского и немедицинского профиля, которые оказывают медицинскую и социальную помощь лицам пожилого и старческого возраста [4, 5, 6].

В научной практике большее внимание традиционно уделяют системе тренировок у детей и лиц молодого возраста. К сожалению, исследований в обла-

сти разработки и реализации программ профилактики в гериатрической практике недостаточно, особенно, что касается ходьбы и силовых занятий как общедоступного и универсального вида физической культуры [8,9,10]. Имеющиеся научные данные, касающиеся других возрастных категорий, показывают, что физические тренировки на основе ходьбы являются эффективным профилактическим средством заболеваний, основным компонентом медико-социальной реабилитации и спортивных тренировок [4, 5, 7].

Цель исследования. Провести оценку двигательной активности и состояния мышечной функции у людей пожилого возраста в процессе аэробных и анаэробных тренировок.

Материалы и методы. В исследование были включены 218 людей пожилого возраста в возрасте от 60 до 69 лет, средний возраст $64,2 \pm 2,2$ года, мужчин – 89 чел., женщин – 119 чел. и разделены в зависимости от предлагаемого варианта физической активности на три группы:

1-ая группа (контрольная): пациенты получали стандартные рекомендации врача по режиму физической активности (ежедневные прогулки продолжительно-

стью не менее 30 минут), в эту группу было включено 61 человек пожилого возраста в возрасте от 60 до 69 лет, средний возраст $64,0 \pm 3,1$ года, мужчин – 26 чел., женщин – 35 чел;

2-ая группа: дополнительно к стандартным рекомендациям пациенты были зачислены в группу занятий аэробными видами тренировок в виде скандинавской ходьбы с режимом занятия два раза в неделю по 60 минут под руководством инструктора. В эту группу было включено 69 человек пожилого возраста в возрасте от 60 до 69 лет, средний возраст $66,0 \pm 2,8$ года, мужчин – 24 чел., женщин – 35 чел;

3-я группа: дополнительно к стандартным рекомендациям пациенты были зачислены в группу занятий сочетанными аэробными видами тренировок в виде скандинавской ходьбы с режимом занятия два раза в неделю по 60 минут + анаэробными силовыми нагрузками с гантелями и на тренажерах в щадящем и щадяще-тренирующем режимах с частотой занятий два раза в неделю по 30 минут под руководством инструктора. В эту группу было включено 88 человек пожилого возраста в возрасте от 60 до 69 лет, средний возраст $64,1 \pm 2,7$ года, мужчин – 39 чел., женщин – 49 чел.

Продолжительность наблюдения составила 6 месяцев. До начала занятий, через 3 и 6 месяцев после занятий всем пациентам, включенным в исследование, для оценки гериатрического статуса проводили оценку двигательной активности и оценку состояния мышечной функции в процессе аэробных и анаэробных тренировок.

Результаты и их обсуждение. Все пациенты состояли на диспансерном учете у участковых терапевтов или врачей общей практики в поликлиниках по

месту жительства по поводу хронической соматической патологии низких функциональных классов в стадии компенсации (артериальная гипертензия, неосложненный сахарный диабет второго типа, хроническая обструктивная болезнь легких, хроническая гастроинтестинальная патология), которая не была противопоказанием к выполнению физических тренировок. Обследование с целью уточнения диагнозов и допуск к тренировкам проводился лечащими врачами.

Оценка двигательной активности у людей пожилого возраста в процессе применения аэробных и анаэробных тренировок. В ходе исследования проведен анализ двигательной активности лиц пожилого возраста до и после применения программ анаэробных и аэробных тренировок. Для оценки параметров передвижения, устойчивости и баланса у всех пациентов была применена шкала «Оценка двигательной активности у пожилых» (Functional mobility assessment in elderly patients) [10].

В начале эксперимента исходный уровень двигательной активности лиц пожилого возраста в группах наблюдения достоверной разницы не имел.

После применения программ профилактики в первой группе наблюдения, где проводились ежедневные прогулки продолжительностью не менее 30 минут, достоверной разницы через три месяца не отмечалось, достоверно значимые результаты были только через шесть месяцев – $34,3 \pm 0,6$ балла.

Достоверное повышение двигательной активности было у лиц второй группы с применением скандинавской ходьбы с режимом занятия два раза в неделю по 60 минут под руководством инструктора; а также в третьей группе наблюде-

ния, где применялись сочетанные виды тренировок в виде скандинавской ходьбы с режимом занятия два раза в неделю по 60 минут + анаэробные силовые нагрузки с гантелями и на тренажерах с частотой занятий два раза в неделю по 30 минут.

Так, через три месяца наблюдения характеристики двигательной активности достоверно повысились во второй группе с $29,9 \pm 1,5$ баллов до $37,3 \pm 1,2$, по-

сле шести месяцев до $38,0 \pm 2,1$ баллов. В третьей группе наблюдения показатели достоверно повысились с $30,2 \pm 1,7$ баллов в начале эксперимента до $37,0 \pm 1,1$ через три месяца, и до $43,8 \pm 1,2$ баллов через шесть месяцев от начала наблюдения, $p < 0,05$ (таблица 1). При этом большие показатели отмечались в группе, где применялись сочетанные аэробные и анаэробные виды тренировок. Разница показателей также была достоверна.

Таблица 1

Оценка общей двигательной активности (в баллах)

Table 1

Evaluation of total motor activity (in points)

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
1-я	$29,6 \pm 0,2$	$30,1 \pm 0,8$	$34,3 \pm 0,6^*$
2-я	$29,9 \pm 1,5$	$37,3 \pm 1,2^{*,1-2}$	$38,0 \pm 2,1^{*,1-2}$
3-я	$30,2 \pm 1,7$	$37,0 \pm 1,1^{*,1-3}$	$43,8 \pm 1,2^{*,**,1-3,2-3}$

* $p < 0,05$ по сравнению с показателем до начала тренировок;

** $p < 0,05$ по сравнению с показателем в 3 мес. от начала тренировок;

¹⁻² $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и второй групп;

²⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем второй и третьей групп;

¹⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и третьей групп.

Оценка показателей устойчивости достоверной разницы в первой группе наблюдения с применением ежедневных прогулок на свежем воздухе не показала. Достоверное увеличение характеристик было у лиц пожилого возраста, которые занимались скандинавской ходьбой: с $15,0 \pm 1,4$ баллов в начале эксперимента до $19,2 \pm 0,3$ через три месяца и $23,2 \pm 2,1$ через шесть месяцев после применения программ профилактики, $p < 0,05$.

В группе, где применялись сочетанные нагрузки, отмечался достоверный рост характеристик устойчивости с $14,7 \pm 1,1$ баллов в начале наблюдения до $19,9 \pm 1,0$ баллов через три месяца и до $26,3 \pm 0,6$ баллов – через полгода. При

этом после применения программ сочетанных тренировок регистрировались достоверно большие показатели в отдаленном периоде, $p < 0,05$ (таблица 2).

Так же, в нашем исследовании была проведена оценка показателей походки у лиц пожилого возраста, использующих разные виды физических тренировок. Достоверной разницы в показателях походки в первой группе наблюдения не было. Во второй группе лиц, занимавшихся скандинавской ходьбой, отмечалось достоверное увеличение показателей походки через три месяца с $14,2 \pm 0,7$ баллов до $19,4 \pm 0,2$ баллов, до $20,0 \pm 1,1$ баллов через шесть месяцев.

Таблица 2

Оценка показателей устойчивости (в баллах)

Table 2

Assessment of sustainability indicators (in points)

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
1-я	14,1 $\pm$ 1,8	14,2 $\pm$ 0,9	18,1 $\pm$ 1,1
2-я	15,0 $\pm$ 1,4	19,2 $\pm$ 0,3 ^{*,1-2}	23,2 $\pm$ 2,1 ^{*,**,1-2}
3-я	14,7 $\pm$ 1,1	19,9 $\pm$ 1,0 ^{*,1-3}	26,3 $\pm$ 0,6 ^{*,**,1-3,2-3}

^{*} $p < 0,05$ по сравнению с показателем до начала тренировок;

^{**} $p < 0,05$ по сравнению с показателем в 3 мес. от начала тренировок;

¹⁻² $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и второй групп;

²⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем второй и третьей групп;

¹⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и третьей групп.

Наибольшие характеристики походки были у лиц третьей группы наблюдения и составляли 19,8 $\pm$ 0,9 баллов через три месяца и 20,2 $\pm$ 0,4 баллов через полгода, разница была достоверна по сравнению с уровнем до тренировок а

14,1 $\pm$ 0,5 баллов, $p < 0,05$. При этом достоверно значимой разницы в показателях походки выявлено не было после применения одного вида нагрузки и сочетания разного вида тренировок (таблица 3).

Таблица 3

Оценка показателей походки (в баллах)

Table 3

Evaluation of gait performance (in points)

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
1-я	14,0 $\pm$ 0,3	14,9 $\pm$ 0,6	15,2 $\pm$ 1,1
2-я	14,2 $\pm$ 0,7	19,4 $\pm$ 0,2 ^{*,1-2}	20,0 $\pm$ 1,1 ^{*,1-2}
3-я	14,1 $\pm$ 0,5	19,8 $\pm$ 0,9 ^{*,1-3}	20,2 $\pm$ 0,4 ^{*,1-3}

^{*} $p < 0,05$ по сравнению с показателем до начала тренировок;

¹⁻² $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и второй групп;

¹⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и третьей групп.

Таким образом, при проведении анализа показателей походки нами была выявлена эффективность применения программ сочетанных тренировок с применением скандинавской ходьбы и анаэробных+аэробных тренировок. Было отмечено достоверное увеличение показателей устойчивости, двигательной активности и показателей походки через три месяца, а также в отдаленном периоде.

Оценка состояния мышечной функции у людей пожилого возраста в процессе аэробных и анаэробных тренировок. В ходе работы проводилась оценка состояния мышечной системы у людей пожилого возраста путем определения силы кистей с помощью динамометра «Мегеон 34090». Измерения проводились на разных руках с учетом гендерной разницы. У мужчин ($n=89$) были

получены следующие характеристики кистевой динамометрии: на правой руке показатели в первой группе наблюдения не имели достоверной разницы до и после применения стандартных программ двигательной реабилитации. Во второй группе после тренировок достоверное повышение показателей отмечалось

только после шести месяцев занятий: $24,6 \pm 1,1$ до тренировок; $25,2 \pm 2,1$ через три месяца и $30,1 \pm 1,6$ через полгода. При этом по сравнению с первой группой отмечалась достоверная разница в сторону увеличения силы кистей, $p < 0,05$ (таблица 4).

Таблица 4

Оценка показателей кистевой динамометрии у мужчин (правая рука), кг

Table 4

Evaluation of carpal dynamometry in men (right hand), kg

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
1-я	$24,2 \pm 1,3$	$24,4 \pm 1,8$	$25,0 \pm 1,2$
2-я	$24,6 \pm 1,1$	$25,2 \pm 2,1$	$30,1 \pm 1,6^{*,**1-2}$
3-я	$25,4 \pm 1,2$	$30,2 \pm 1,5^{*,1-3,2-3}$	$36,8 \pm 1,3^{*,**1-3,2-3}$

* $p < 0,05$ по сравнению с показателем до начала тренировок;

** $p < 0,05$ по сравнению с показателем в 3 мес. от начала тренировок;

¹⁻² $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и второй групп;

²⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем второй и третьей групп;

¹⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и третьей групп.

В третьей группе, где реализовывались сочетанные тренировки, регистрировалось повышение показателей уже через три месяца занятий, большие результаты отмечались в раннем отдаленном периоде: до исследования – $25,4 \pm 1,2$ кг; после трех месяцев – $30,2 \pm 1,5$ кг; после полугодия сила кистей составляла $36,8 \pm 1,3$ кг. Разница показателей в динамике была достоверна. При сравнительном анализе между группами с разной программой тренировок максимальное увеличение характеристик было в третьей группе, где применялись сочетанные тренировки, $p < 0,05$.

Анализ показателей кистевой динамометрии у мужчин на левой руке показал следующие результаты: в первой группе показатели существенно не изменились.

Во второй группе, где люди пожилого возраста занимались скандинавской

ходьбой, показатели динамометрии достоверно увеличивались после полугодия тренировок: до проведения эксперимента – $22,4 \pm 1,3$ кг; через три месяца – $22,8 \pm 1,4$ кг; через полгода занятий – $27,2 \pm 1,2$ кг. При этом отмечалась достоверная разница между группами, с максимальным увеличением показателей мышечной силы при сочетанных тренировках, $p < 0,05$ (таблица 5).

Таким образом, сочетанные аэробные и анаэробные тренировки были достоверно более эффективными для сохранения мышечной массы у мужчин пожилого возраста. Это позволило нам предложить вышеназванные тренировочные программы для профилактики развития саркопении у лиц пожилого возраста.

Оценка показателей кистевой динамометрии у женщин на правой руке выявила следующие результаты (табл. 6).

Таблица 5

Оценка показателей кистевой динамометрии мужчин (левая рука), кг

Table 5

Evaluation of carpal dynamometry in men (left hand), kg

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
1-я	22,1 $\pm$ 1,2	23,2 $\pm$ 1,4	23,0 $\pm$ 1,4
2-я	22,4 $\pm$ 1,3	22,8 $\pm$ 1,4	27,2 $\pm$ 1,2 ^{*,**,1-2}
3-я	23,0 $\pm$ 1,8	27,4 $\pm$ 1,1 ^{*,1-3,2-3}	33,2 $\pm$ 2,1 ^{*,**,1-3,2-3}

^{*} $p < 0,05$ по сравнению с показателем до начала тренировок;

^{**} $p < 0,05$ по сравнению с показателем в 3 мес. от начала тренировок;

¹⁻² $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и второй групп;

²⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем второй и третьей групп;

¹⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и третьей групп.

Таблица 6

Оценка показателей кистевой динамометрии у женщин (правая рука), кг

Table 6

Evaluation of carpal dynamometry in women (right arm), kg

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
1-я	18,3 $\pm$ 1,4	19,4 $\pm$ 1,7	20,0 $\pm$ 2,1
2-я	18,2 $\pm$ 2,0	19,2 $\pm$ 1,6	25,2 $\pm$ 1,0 ^{*,**,1-2}
3-я	19,0 $\pm$ 1,8	24,1 $\pm$ 1,9 ^{*,1-3,2-3}	31,1 $\pm$ 1,1 ^{*,**,1-3,2-3}

^{*} $p < 0,05$ по сравнению с показателем до начала тренировок;

^{**} $p < 0,05$ по сравнению с показателем в 3 мес. от начала тренировок;

¹⁻² $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и второй групп;

²⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем второй и третьей групп;

¹⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и третьей групп.

В первой группе показатели существенно не изменялись, достоверной разницы выявлено не было. Во второй группе после трех месяцев занятий скандинавской ходьбой достоверной разницы в показателях не отмечалось, повышение характеристик динамометрии было через полгода тренировок, так же, как и в группе женщин: до начала занятий – 17,7 $\pm$ 1,7 кг; через три месяца –

22,3 $\pm$ 1,0 кг; через полгода – 28,1 $\pm$ 1,2 кг, $p < 0,05$ (таблица 7).

При этом достоверное увеличение показателей кистевой динамометрии при сравнительном анализе между группами отмечалось также при сочетанных тренировках.

Анализ показателей динамометрии у женщин на левой руке при стандартных тренировках достоверных различий в показателях не выявил.

Таблица 7
Table 7

Оценка показателей кистевой динамометрии у женщин (левая рука), кг
Evaluation of carpal dynamometry in women (left hand), kg

Группа	Период наблюдения		
	До тренировок	Через 3 мес.	Через 6 мес.
1-я	17,2±1,1	17,6±1,2	17,5±1,4
2-я	17,8±2,4	17,8±1,5	23,1±0,8 ^{*,**,1-2}
3-я	17,7±1,7	22,3±1,0 ^{*,1-3,2-3}	28,1±1,2 ^{*,**,1-3,2-3}

^{*} $p < 0,05$ по сравнению с показателем до начала тренировок;

^{**} $p < 0,05$ по сравнению с показателем в 3 мес. от начала тренировок;

¹⁻² $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и второй групп;

²⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем второй и третьей групп;

¹⁻³ $p < 0,05$ достоверные различия между показателем первой и третьей групп.

Во второй группе наблюдения показатели увеличились только после полугода занятий: до эксперимента – 17,8±2,4 кг; через три месяца – 17,8±1,5 кг; через шесть месяцев – 23,1±0,8 кг, $p < 0,05$.

В третьей группе результаты были следующими: до эксперимента – 17,7±1,7 кг; через три месяца – 22,3±1,0 кг; через шесть месяцев – 28,1±1,2 кг. Достоверное увеличение показателей мышечной силы при сочетанных тренировках отмечалось уже через три месяца, достигая максимальных значений через полгода, $p < 0,05$.

Таким образом, сочетанное использование аэробных и анаэробных занятий под контролем инструктора давало достоверно значимые результаты в увеличении мышечной силы у женщин, также как и у мужчин. Прирост мышечной силы у мужчин при такой системе тренировок составлял 1,4 раза от исходной величины, у женщин разница составляла 1,6 раза.

Следовательно, для профилактики саркопенических возрастных изменений можно рекомендовать достоверно результативную систему сочетанных дви-

гательных тренировок в виде скандинавской ходьбы с режимом занятия два раза в неделю по 60 минут и анаэробными силовыми нагрузками с гантелями и на тренажерах в щадящем режиме с частотой занятий два раза в неделю по 30 минут.

Таким образом, применение расширенных программ тренировок играет значимую биосоциальную роль. В частности, скандинавскую ходьбу как самостоятельный вид тренировки, так и в сочетании с тренировками с гантелями и на тренажерах, можно использовать для повышения двигательной активности (по результатам исследования в 1,4 раза) за счет улучшения показателей походки. Кроме того, сочетанные тренировки способствуют профилактике синдрома падений, что достигается улучшением показателей устойчивости в большей мере, чем при изолированном применении скандинавской ходьбы.

Заключение. Биосоциальный эффект сочетанных тренировок на основе скандинавской ходьбы и анаэробных силовых нагрузок заключается в достоверном повышении двигательной активности лиц пожилого возраста в 1,2 раза че-

рез три месяца после начала тренировок и в 1,4 раза через полгода от начала занятий, $p < 0,05$.

Показатели устойчивости у лиц пожилого возраста через 3 месяца от начала тренировок – при режиме аэробных тренировок на 4,2 балла и при режиме сочетанные аэробно-анаэробных тренировок на 5,2 балла и достигают максимума через 6 месяцев, причем через 6 месяцев влияние аэробно-анаэробных тренировок становится достоверно ($p < 0,05$) более значимым, чем анаэробных: в режиме аэробных тренировок происходит увеличение показателей устойчивости на 8,2 балла с 15,0 до 23,2 баллов, а при режиме сочетанных тренировок – на 11,6 баллов с 14,7 до 26,3 баллов. Применение аэробных и анаэробных тренировок повышает динамометрические характеристики силы кистей в 1,4 раза у мужчин и в 1,6 раза у женщин на обеих руках, что способствует профилактике развития саркопенических изменений у лиц пожилого возраста, $p < 0,05$. Достоверно значимые изменения походки (увеличение показателей в 1,4 раза) у лиц пожилого возраста наблюдаются при дополнительных занятиях на основе аэробных видов тренировок с режимом занятий два раза в неделю по 60 минут и/или сочетания скандинавской ходьбы с силовыми нагрузками два раза в неделю по 30 минут.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Анисимов В.Н., Баранов В.С., Хавинсон В.Х., Козлов Л.В., Козлов К.Л., Рыжак Г.А., Кветной И.М., Кветная Т.В., Малинин В.В. Программа «Профилактика возрастной патологии и ускоренного старения, снижение преждевременной смертности от биоло-

гических причин и продление трудоспособного периода жизни населения»: Методические рекомендации / Санкт-Петербург, 2008, 36 с.

2. Прощаев К.И., Ильницкий А., Бочарова К.А., Герасименко А.В. Ассоциация саркопении с синдромом падений // Остеопороз и остеопатии. 2016, № 2. С. 109-110.

3. Прощаев, К.И. Старческая астения (Frailty) как концепция современной гериатрии / К.И. Прощаев, А.Н. Ильницкий // Проблемы возрастной патологии в Арктическом регионе: биологические, клинические и социальные аспекты : сб. тез., ст. рос. науч.-практ. конф. с междунар. участием., Якутск, 07-08 апр. 2016 г. / Европ. отд. междунар. ассоц. геронтологии и гериатрии, Геронтол. о-во при РАН, Якутский науч. центр комплексных мед. проблем [и др.] ; отв. ред. М.И. Томский, Якутск, 2016., С. 93-103.

4. Синдром старческой астении (frailty): клиника, диагностика, лечение, профилактика / А. Ильницкий, К. Прощаев, Л. Варавина [и др.] // Врач. 2014. № 6. С. 3-5.

5. Adebusoye L.A, Ogunbode A.M, Olowookere O.O, Ajayi S.A, Ladipo M.M. Factors associated with sarcopenia among older patients attending a geriatric clinic in Nigeria // Niger J Clin Pract. 2018. 21(4). Pp. 443-450.

6. Dent E., Kowal P., Hoogendijk O. Frailty measurement in research and clinical practice: a review // Eur J Intern Med. 2016. 31. Pp. 3-10.

7. Hayflick L. The future of ageing // Nature. 408. Pp. 267-269.

8. Khavinson V.Kh., Mikhailova O.N. Health and aging in Russia // Global health and global aging / (ed. by Mary Robinson et al.); foreword by Robert Butler. 1st ed. 2007. Pp. 226-237.

9. Searle S.D., Mitnitski A., Gahbauer E.A. et al. A standard procedure for creating a frailty index // BMC Geriatr. 2008. 8. 24 p.

10. Tinetti M.E. Performance-oriented assessment of mobility problems in elderly patients // J Am Geriatr Soc. 1986. 34 (2). Pp.119-26.

References

1. Anisimov, V.N., Baranov, V.S., Havinson, V.H., Kozlov, L.V., Kozlov, K.L., Ryzhak, G.A., Kvetnoy, I.M., Kvetnaya, T.V., Malinin, V.V. (2008), "Programma «Profilaktika vozrastnoy patologii i uskorennoy smertnosti ot biologicheskikh prichin i prodlenie trudosposobnogo perioda zhizni naseleniya»: Metodicheskie rekomendatsii" [Prevention of age-related pathology and accelerated aging, reduction of premature mortality from biological causes and prolongation of working life": Guidelines], Saint-Petersburg, 36. Russian.

2. Proshchayev, K.I., Il'nitskiy, A.N., Bocharova, K.A., Gerasimenko, A.V. (2016), "Assotsiatsiya sarkopenii s sindromom padeniy" [Association of sarcopenia with the syndrome of falls], *Osteoporoz i osteopatii*, 2, 109-110. Russian.

3. Proshchayev, K.I., Il'nitskiy, A.N. (2016), "Starcheskaya asteniya (Frailty) kak kontseptsiya sovremennoy geriatrii" [Frailty as a concept of modern geriatrics], *Problemy vozrastnoy patologii v Arkticheskom regione: biologicheskie, klinicheskie i sotsial'nye aspekty: sb. tez., st. ros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem., Yakutsk, 07-08 apr. 2016 g. / Evrop. otd. mezhdunar. assoc. gerontologii i geriatrii, Gerontol. o-vo pri RAN, Yakutskiy nauch. centr kompleksnyh med. problem [i dr.]*, 7-8 apr. 2016, Yakutsk, 93-103. Russian.

4. Proshchayev, K.I., Il'nitskiy, A.N., Varavina, L. (2014), "Sindrom starcheskoy astenii (frailty): klinika, diagnostika, lechenie, profilaktika" [Senile asthenia (frailty) syndrome: clinical picture, diagnosis, treatment, prevention], *Vrach*, 6, 3-5. Russian.

5. Adebuseye, L.A., Ogunbode, A.M., Olowookere, O.O., Ajayi, S.A., Ladipo, M.M. (2018), "Factors associated with sarcopenia among older patients attending a geriatric clinic in Nigeria", *Niger J Clin Pract*, 21 (4), 443-450.

6. Dent, E., Kowal, P., Hoogendijk, O. (2016), "Frailty measurement in research and clinical practice: a review", *Eur J Intern Med*, 31, 3-10.

7. Hayflick, L. (2000) The future of ageing // *Nature*, Vol.408, 267-269.

8. Khavinson, V.Kh., Mikhailova, O.N. (2007), "Health and aging in Russia", *Global health and global aging* (ed. by Mary Robinson et al.); foreword by Robert Butler. 1st ed., 226-237.

9. Searle, S.D., Mitnitski, A., Gahbauer, E.A. et al. (2008), "A standard procedure for creating a frailty index", *BMC Geriatr*, 8, 24.

10. Tinetti, M.E. (1986), "Performance-oriented assessment of mobility problems in elderly patients", *J Am Geriatr Soc*, 34(2), 119-126.

Прощаев Кирилл Иванович – научный консультант Открытого института человека и природы, Вильнюс, Литва.

Ивко Ксения Олеговна – Автономная научная некоммерческая организация высшего образования «Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»), 197110 Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, дом 3.

Фадеева Полина Андреевна – студентка 6 курса, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8.

Полторацкий Артем Николаевич – кандидат медицинских наук, Автономная научная некоммерческая организация высшего образования «Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»), 197110 Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, дом 3.

Proshchayev Kirill Ivanovich – Scientific Consultant, Open Institute of Human and Nature, Holder of Habilitation Degree in Medicine, Professor.

Ivko Kseniya Olegovna – Researcher of the Autonomous Nonprofit Scientific Organization of Higher Education “Research Centre “Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology”.

Fadeeva Polina Andreevna – 6th year Student, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Poltoratskiy Artem Nikolaevich – Candidate of Medical Sciences, Researcher of the Autonomous Nonprofit Scientific Organization of Higher Education “Research Centre “Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology”.

ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ GENERAL BIOLOGY

УДК 575.174.015.3:616.379-008.64(470.323)

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-39-52

Азарова Ю.Э.,
Клесова Е.Ю.,
Конопля А.И.,
Полоников А.В.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ГЛУТАМАТЦИ- СТЕИНЛИГАЗЫ В РАЗВИТИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА У ЖИТЕЛЕЙ КУРСКОЙ ОБЛАСТИ

ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава России,
кафедра фармацевтической технологии,
улица Карла Маркса, 3, г. Курск, 305041, Россия
E-mail: azzzzar@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность.* Глутаматцистеинлигаза (GCL) является первым ферментом синтеза глутатиона, внутри- и внеклеточного антиоксиданта, нарушение обмена которого играет важную роль в патогенезе сахарного диабета 2 типа (СД2). *Проблема.* Изучены связи полиморфизмов генов *GCLC* (-129 C>T, rs17883901) и *GCLM* (-588 C>T, rs41303970) с риском развития СД2 и про/антиоксидантным статусом жителей Курской области. *Материалы и методы.* В исследование были включены 700 больных СД2 (269 мужчин и 431 женщина) со средним возрастом 59,24±8,77 лет, находившихся на стационарном лечении в эндокринологическом отделении Курской Городской клинической больницы скорой медицинской помощи с ноября 2015 г по май 2017 г. Группу контроля составили 718 практически здоровых добровольцев (311 мужчин и 407 женщин) со средним возрастом 58,61±7,65 лет. Генотипирование полиморфизмов генов *GCLC* (-129 C>T, rs17883901) и *GCLM* (-588 C>T, rs41303970) было выполнено методом ПЦР в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan зондов. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью онлайн программы SNPStats. *Результаты.* Частоты генотипов *GCLC* и *GCLM* между группами пациентов с СД2 и контроля не отличались ($p>0,05$). При раздельном сравнении больных СД2 мужчин и женщин со здоровыми лицами оказалось, что генотип Т/Т гена *GCLC* ассоциирован с повышенным риском развития заболевания исключительно в подгруппе мужчин (OR 1,65, 95%CI 1,05-2,61, $p=0,03$) и особенно среди курящих пациентов (OR 2,36, 95%CI 1,19-4,65, $p=0,01$); у них же обнаружено и более частое по сравнению со здоровыми носительство аллеля Т гена *GCLC* (OR 1,69, 95%CI 1,11-2,58, $p=0,02$), а также более высокое содержание окисленного глутатиона GSSG и перекиси водорода в плазме крови ($p<0,05$).

Выводы. Курение и носительство редкого аллеля Т гена *GCLC* (rs17883901) увеличивают риск развития СД2 у мужчин, что может способствовать формированию дисбаланса в про- и антиоксидантной системе.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа; однонуклеотидный полиморфизм; *GCLC*; *GCLM*; генетическая предрасположенность.

Yu.E. Azarova,
E.Yu. Klyosova,
A.I. Konoplya,
A.V. Polonikov

THE ROLE OF POLYMORPHISMS OF GLUTAMATE-CYSTEINE LIGASE IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS SUSCEPTIBILITY IN KURSK POPULATION

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
“Kursk State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation,
3 Karl Marks St., Kursk, 305041
E-mail: azzzzar@yandex.ru

Abstract. Relevance. Glutamate-cysteine ligase (GCL) is the first enzyme of the glutathione cycle, intra- and extracellular antioxidant, whose impaired metabolism plays an important role in type 2 diabetes (T2D) pathogenesis. **Problem.** The authors study associations of the *GCLC* (-129 C>T, rs17883901) and *GCLM* (-588 C>T, rs41303970) polymorphisms with the risk of T2D development and pro/antioxidant status in the population of Kursk region. **Materials and methods.** The study groups included 700 T2D patients (269 males and 431 females) of mean age 59,24±8,77 who were admitted to the endocrinological department of Kursk Emergency Hospital from November 2015 to May 2017, and 718 healthy subjects (311 males and 407 females) of mean age 58,61±7,65. Genotyping of *GCLC* (-129 C>T, rs17883901) and *GCLM* (-588 C>T, rs41303970) polymorphisms was performed by PDAF, PCR, real-time discrimination of alleles using TaqMan probes. Statistical analysis was performed with the use of the on-line software SNPStats. **Results.** There was no difference in genotype distribution among type 2 DM and control subjects in *GCLC* and *GCLM* genes ($p>0,05$). Sex-stratified analysis revealed association of T/T genotype of *GCLC* gene with an increased risk of T2D development exclusively in males (OR 1,65, 95%CI 1,05-2,61, $p=0,03$) and particularly in a subgroup of smokers (OR 2,36, 95%CI 1,19-4,65, $p=0,01$); they also showed an increased frequency of rare allele T of *GCLC* gene (OR 1,69, 95%CI 1,11-2,58, $p=0,02$), and elevated plasma levels of oxidized glutathione GSSG and hydrogen peroxide. **Conclusions.** Smoking and rare allele T of the *GCLC* gene (rs17883901) increase susceptibility to T2D in males and contribute to formation of imbalance in pro- and antioxidant systems.

Keywords: type 2 diabetes mellitus; single nucleotide polymorphism; *GCLC*; *GCLM*; genetic predisposition.

Введение. Сахарный диабет – это серьезное хроническое заболевание, которое развивается, когда поджелудочная железа не вырабатывает достаточно инсулина или когда организм не способен эффективно использовать выработанный им инсулин [4]. В настоящее время каждый одиннадцатый житель планеты страдает диабетом, что в общем составляет 425 млн человек, три четверти которых – это люди трудоспособного возраста [12]. По предварительным оценкам исследования NATION, в нашей стране более 6 млн. больных, подавляющее большинство которых имеют диабет 2 типа [2]. Помимо стремительных темпов роста заболеваемости СД2, его характерными особенностями являются тенденция к омоложению возраста дебюта, относительно поздняя диагностика заболевания в связи с длительным бессимптомным течением и полиморбидность, особенно в сочетании с сердечно-сосудистыми заболеваниями и ожирением [3]. К моменту диагностики СД 2 типа у половины пациентов уже присутствуют осложнения, приводящие к снижению качества жизни, ранней инвалидизации и преждевременной смерти. СД 2 типа – это ведущая причина потери зрения, нетравматических ампутаций и развития терминальных стадий почечной недостаточности [1].

Сахарный диабет 2 типа (СД2) входит в группу мультифакториальной патологии и развивается в результате сочетанного действия генетических и средовых факторов. Согласно базе данных GeneCards, 564 гена ассоциированы с различными фенотипами СД2, такими как дисфункция бета-клеток поджелудочной железы и инсулинорезистентность периферических тканей. В результате пятидесяти трех полногеномных ис-

следований, установлено 720 однонуклеотидных вариантов, ассоциированных с заболеванием. Тем не менее, эта информация не дает полного представления о функциональной значимости обнаруженных полиморфизмов и их вклада в формирование того отрицательного метаболического фундамента, на фоне которого происходит манифестация заболевания.

Очень важным и широко обсуждаемым в литературе звеном патогенеза СД2 является нарушение работы антиоксидантной системы, главным представителем которой как внутри, так и вне клеток служит трипептид гамма-глутамилцистеинилглицин, или глутатион. Первым и единственным регуляторным ферментом глутатионового цикла выступает глутаматцистеинлигаза, состоящая из двух субъединиц – каталитической (GCLC) и модифицирующей (GCLM). Гены, кодирующие эти белки, полиморфны и вовлечены в патогенез таких заболеваний, как инфаркт миокарда и бронхиальная астма. Данные о возможном вкладе этих генов в развитии СД2 отсутствуют.

Целью настоящего исследования стало изучение связи полиморфизмов генов GCLC (-129 C>T, rs17883901) и GCLM (-588 C>T, rs41303970) с риском развития СД2 и про/антиоксидантным статусом жителей Курской области.

Материал и методы. На основе письменного информированного согласия в исследование включено 700 больных СД2 (269 мужчин и 431 женщина со средним возрастом 59,24±8,77 лет), получавших стационарное лечение в эндокринологическом отделении Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи с ноября 2015 по май 2017 года. Группу контроля со-

ставили 718 практически здоровых добровольцев (311 мужчин и 407 женщин со средним возрастом $58,61 \pm 7,65$ лет). Диагноз СД2 устанавливался на основании обнаружения гипергликемии $\geq 7,1$ ммоль/л натощак, или гипергликемии $\geq 11,1$ ммоль/л в любое время суток независимо от приема пищи, и/или уровня гликированного гемоглобина $\geq 6,5\%$ [4]. Лица контрольной группы имели нормальные показатели углеводного обмена. Все обследованные были уроженцами преимущественно Курской области и были неродственны друг другу. Протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете.

У всех обследуемых производили забор 6 мл венозной крови натощак в вакуумные пробирки с ЭДТА. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции [14]. Генотипирование полиморфизмов генов *GCLC* и *GCLM* проводили с помощью полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени с дискриминацией аллелей TaqMan зондами согласно протоколам, описанным в литературе [9, 11].

Для биохимических исследований, 6 мл венозной крови забирали в вакуумные пробирки с гепарином лития в качестве антикоагулянта и сразу же центрифугировали 10 минут при 3500 об./мин. с охлаждением до 4°C . Плазму для детекции перекиси водорода аликвотировали по 200 мкл и замораживали при -80°C . Плазму для определения содержания глутатиона предварительно депротеинизировали ледяным раствором 5%-ой метафосфорной кислоты и центрифугировали 10 минут при 12000 об./мин. Надо-

сачную жидкость аликвотировали по 100 мкл и замораживали при -80°C . Непосредственно перед анализом образцы разбавляли десятикратно для снижения концентрации метафосфорной кислоты до 0,5%. Концентрацию H_2O_2 измеряли флуориметрическим методом с использованием набора реагентов ROS/RNS OxiSelect Cell Biolabs. Уровень GSSG оценивали колориметрически с помощью набора Total Glutathione Cell Biolabs. Абсорбцию и флуоресценцию измеряли на микропланшетном ридере Varioscan Flash (Thermo Fisher Scientific).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью онлайн программы SNPStats. Различия рассматривали как значимые при $p \leq 0,05$. Поправку на множественное тестирование вводили с использованием онлайн софта FDR Calculator при уровне значимости $Q \leq 0,2$ [6].

Результаты и обсуждение. В таблице 1 приведены данные по сравнительному анализу частот генотипов и аллелей изучаемых генов у больных СД2 и здоровых лиц. Частоты генотипов *GCLC* и *GCLM* между группами пациентов с СД2 и контроля не отличались ($p > 0,05$). При раздельном сравнении больных мужчин и женщин с контролем было выявлено, что генотипы С/Т и Т/Т гена *GCLC* ассоциированы с повышенным риском развития заболевания только в подгруппе мужчин (OR 1,65, 95CI 1,05-2,61, $p = 0,03$) с учетом коррекции по полу, возрасту и индексу массы тела; также в группе больных СД2 мужчин обнаружено и более частое (10,4%) по сравнению со здоровыми (6,4%) носительство редкого аллеля Т гена *GCLC* (OR 1,69, 95CI 1,11-2,58, $p = 0,02$).

Таблица 1
Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей изучаемых генов
Table 1

Comparative analysis of frequencies of the studied gene genotypes and alleles

Ген	Генотип/ аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		п	%	п	%				
Общие выборки									
GCLC, -129 C>T (rs17883 901)	C/C	596	85,1	580	86,6	0,43	0,56	1,00	-
	C/T	93	13,3	84	12,5			1,09	0,79-1,50
	T/T	11	1,6	6	0,9			1,84	0,67-5,02
	C/T+T/T	104	14,9	90	13,4	0,40	0,56	1,14	0,84-1,55
	T	-	8,2	-	7,2	0,34	0,56	1,16	0,87-1,54
GCLM, -588 C>T (rs41303 970)	C/C	477	68,3	442	66,3	0,12	0,39	1,00	-
	C/T	193	27,6	182	27,3			0,98	0,77-1,25
	T/T	28	4,0	43	6,4			0,60	0,36-0,98
	C/T+T/T	221	31,7	225	33,7	0,39	0,56	0,91	0,72-1,14
	T	-	17,8	-	20,1	0,13	0,39	0,86	0,71-1,05
Мужчины									
GCLC, -129 C>T (rs17883 901)	C/C	218	81	268	87,6	0,07	0,36	1,00	-
	C/T	46	17,1	36	11,8			1,57	0,98-2,52
	T/T	5	1,9	2	0,6			3,08	0,59-16,03
	C/T+T/T	51	19,0	38	12,4	0,03	0,27	1,65	1,05-2,61
	T	-	10,4	-	6,4	0,02	0,27	1,69	1,11-2,58
GCLM, -588 C>T (rs41303 970)	C/C	180	66,9	204	67,3	0,50	0,56	1,00	-
	C/T	79	29,4	82	27,1			1,09	0,76-1,58
	T/T	10	3,7	17	5,6			0,67	0,30-1,49
	C/T+T/T	89	33,1	99	32,7	0,92	0,92	1,02	0,72-1,45
	T	-	18,4	-	19,0	0,80	0,85	0,96	0,71-1,29
Женщины									
GCLC, -129 C>T (rs17883 901)	C/C	378	87,7	312	85,7	0,50	0,56	1,00	-
	C/T	47	10,9	48	13,2			0,79	0,51-1,22
	T/T	6	1,4	4	1,1			1,33	0,37-4,80
	C/T+T/T	53	12,3	52	14,3	0,38	0,56	0,83	0,55-1,25
	T	-	6,8	-	7,8	0,47	0,56	0,87	0,59-1,27
GCLM, -588 C>T (rs41303 970)	C/C	297	69,2	238	65,4	0,16	0,41	1,00	-
	C/T	114	26,6	100	27,5			0,90	0,65-1,24
	T/T	18	4,2	26	7,1			0,55	0,30-1,04
	C/T+T/T	132	30,8	126	34,6	0,22	0,50	0,83	0,61-1,12
	T	-	17,5	-	21,0	0,08	0,36	0,80	0,62-1,02

Учитывая мультифакториальную природу СД2, нам представлялось важным оценить вклад курения как фактора риска в предрасположенность к развитию заболевания. Оказалось, что ассоциация генотипов С/Т и Т/Т гена *GCLC* с риском развития СД2 есть только в под-

группе больных диабетом курящих мужчин (OR 2,36, 95CI 1,19-4,65, $p=0,01$, таблица 2) и отсутствует у некурящих (таблица 3). Эта ассоциация осталась значимой и после поправки на множественное тестирование ($Q=0,12$).

Таблица 2

Сравнительный анализ частот генотипов изучаемых генов среди курящих

Table 2

Comparative analysis of frequencies of the studied gene genotypes and alleles in smokers

Ген	Генотип /аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		n	%	n	%				
Все курящие									
GCLC, -129 C>T (rs17883 901)	C/C	198	81,5	194	87,4	0,15	0,45	1,00	-
	C/T	39	16,1	26	11,7			1,52	0,88-2,60
	T/T	6	2,5	2	0,9			2,78	0,55-14,10
	C/T+T/T	45	18,5	28	12,6	0,068	0,27	1,61	0,96-2,70
GCLM, -588 C>T (rs41303 970)	C/C	162	66,9	148	67,3	0,31	0,62	1,00	-
	C/T	72	29,8	58	26,4			1,17	0,77-1,78
	T/T	8	3,3	14	6,4			0,57	0,23-1,42
	C/T+T/T	80	33,1	72	32,7	0,78	0,85	1,06	0,71-1,57
Курящие мужчины									
GCLC, -129 C>T (rs17883 901)	C/C	148	80,9	130	90,9	0,03	0,18	1,00	-
	C/T	30	16,4	12	8,4			2,19	1,08-4,45
	T/T	5	2,7	1	0,7			4,36	0,50-37,83
	C/T+T/T	35	19,1	13	9,1	0,01	0,12	2,36	1,19-4,65
GCLM, -588 C>T (rs41303 970)	C/C	122	66,7	99	70,2	0,71	0,85	1,00	-
	C/T	55	30,1	37	26,2			1,23	0,74-2,02
	T/T	6	3,3	5	3,5			0,96	0,27-3,23
	C/T+T/T	61	33,3	42	29,8	0,47	0,81	0,19	0,74-1,92
Курящие женщины									
GCLC, -129 C>T (rs17883 901)	C/C	50	83,3	64	81	0,88	0,88	1,00	
	C/T	9	15	14	17,7			0,79	0,31-2,00
	T/T	1	1,7	1	1,3			0,88	0,05-15,38
	C/T+T/T	10	16,7	15	19	0,62	0,82	0,80	0,33-1,96

Ген	Генотип /аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		n	%	n	%				
GCLM, -588 C>T (rs41303 970)	C/C	40	67,8	49	62	0,22	0,53	1,00	
	C/T	17	28,8	21	26,6			1,03	0,48-2,22
	T/T	2	3,4	9	11,4			0,28	0,06-1,40
	C/T+T/T	19	32,2	30	38	0,56	0,83	0,81	0,39-1,65

Таблица 3

Сравнительный анализ частот генотипов изучаемых генов среди некурящих

Table 3

**Comparative analysis of frequencies of the studied gene genotypes
and alleles in non-smokers**

Ген	Гено-тип/ аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		n	%	n	%				
Все некурящие									
GCLC, -129 C>T (rs1788 3901)	C/C	398	87,1	386	86,2	0,96	0,96	1,00	-
	C/T	54	11,8	58	12,9			0,95	0,63-1,43
	T/T	5	1,1	4	0,9			1,07	0,28-4,11
	C/T+T/ T	59	12,9	62	13,8	0,83	0,91	0,96	0,65-1,42
GCLM, -588 C>T (rs4130 3970)	C/C	315	69,1	294	65,8	0,4	0,86	1,00	-
	C/T	121	26,5	124	27,7			0,92	0,68-1,24
	T/T	20	4,4	29	6,5			0,67	0,37-1,23
	C/T+T/T	141	30,9	153	34,2	0,35	0,86	0,87	0,65-1,16
Некурящие мужчины									
GCLC, -129 C>T (rs1788 3901)	C/C	70	81,4	143	85,1	0,47	0,86	1,00	-
	C/T	16	18,6	24	14,3			1,35	0,68-2,71
	T/T	0	0	1	0,6			0	-
	C/T+T/T	16	18,6	25	14,9	0,46	0,86	1,30	0,65-2,59
GCLM, -588 C>T (rs4130 3970)	C/C	58	67,4	109	65,3	0,73	0,91	1,00	-
	C/T	24	27,9	46	27,5			1,00	0,56-1,81
	T/T	4	4,7	12	7,2			0,63	0,19-2,05
	C/T+T/T	28	32,6	58	34,7	0,78	0,91	0,93	0,53-1,61
Некурящие женщины									
GCLC, -129 C>T	C/C	328	88,4	243	86,8	0,6	0,90	1,00	
	C/T	38	10,2	34	12,1			0,79	0,48-1,30
	T/T	5	1,4	3	1,1			1,28	0,30-5,42

Ген	Гено-тип/ аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		n	%	n	%				
(rs17883901)	C/T+T/T	43	11,6	37	13,2	0,43	0,86	0,83	0,52-1,33
GCLM, -588 C>T (rs41303970)	C/C	257	69,5	185	66,1	0,5	0,86	1,00	-
	C/T	97	26,2	78	27,9			0,88	0,62-1,26
	T/T	16	4,3	17	6,1			0,69	0,34-1,40
	C/T+T/T	113	30,5	95	33,9	0,33	0,86	0,85	0,61-1,18

Анализ биохимических показателей редокс-статуса обследуемых показал, что уровни перекиси водорода и окисленного глутатиона значимо выше в группе пациентов с СД2 ($p=0,024$ и $0,004$, соответственно) по сравнению с контролем (таблица 4). Это же характерно и для подгруппы больных СД2 муж-

чин. Стратификационный анализ концентрации H_2O_2 и GSSG по курению выявил значимо более высокие уровни этих показателей у всех курящих в общем и курящих мужчин в частности (таблица 5); в группе некурящих различий по содержанию H_2O_2 и GSSG обнаружено не было (таблица 6).

Таблица 4

Концентрации H_2O_2 и GSSG в плазме больных СД2 и здоровых лиц

Table 4

H ₂ O ₂ and GSSG plasma levels in T2D patients and healthy subjects						
Группа больных			Контрольная группа			
Параметр, мкмоль/л	Ср.±ст.ош.	n	Ср.±ст.ош.	n	P	Q
Общая выборка						
H ₂ O ₂	3,23±1,35	214	2,76±1,21	50	0,024	0,036
GSSG	2,28±1,69	208	1,45±1,43	40	0,004	0,012
Мужчины						
H ₂ O ₂	3,12±1,15	68	2,27±1,07	20	0,004	0,012
GSSG	2,41±1,71	67	1,16±0,92	15	0,008	0,016
Женщины						
H ₂ O ₂	3,28±1,43	146	3,08±1,20	30	0,48	0,48
GSSG	2,23±1,68	141	1,62±1,66	25	0,10	0,12

Таблица 5

Концентрации H_2O_2 и GSSG в плазме курящих больных СД2 и здоровых лиц

Table 5

Группа больных			Контрольная группа			
Параметр, мкмоль/л	Ср.±ст.ош.	n	Ср.±ст.ош.	n	P	Q
Все курящие						
H_2O_2	3,23±1,14	62	2,51±1,20	15	0,03	0,06
GSSG	2,24±1,73	60	0,92±0,98	11	0,007	0,04
Курящие мужчины						
H_2O_2	3,17±1,05	42	2,36±1,03	11	0,03	0,06
GSSG	2,41±1,71	39	1,03±1,25	7	0,049	0,57
Курящие женщины						
H_2O_2	3,36±1,31	20	2,93±1,71	4	0,57	0,57
GSSG	2,44±1,81	21	0,73±0,11	4	0,08	0,12

Таблица 6

Концентрации H_2O_2 и GSSG в плазме некурящих больных СД2 и здоровых лиц

Table 6

Группа больных			Контрольная группа			
Параметр, мкмоль/л	Ср.±ст.ош.	n	Ср.±ст.ош.	n	P	Q
Все некурящие						
H_2O_2	3,23±1,43	152	2,86±1,22	35	0,16	0,24
GSSG	2,23±1,67	148	1,64±1,54	29	0,08	0,16
Некурящие мужчины						
H_2O_2	3,04±1,32	26	2,15±1,19	9	0,08	0,16
GSSG	2,40±1,75	28	1,27±0,56	8	0,08	0,16
Некурящие женщины						
H_2O_2	3,27±1,46	126	3,11±1,15	26	0,60	0,60
GSSG	2,19±1,66	120	1,78±1,77	21	0,31	0,37

Результаты нашего исследования впервые наглядно демонстрируют значимую ассоциацию генотипа Т/Т гена *GCLC* с повышенным риском развития СД2 у мужчин. Эта ассоциация обнаружена и в подгруппе курящих мужчин, больных СД2. Уровень окисленного глутатиона нами был использован как маркер прооксидантной составляющей редокс-статуса обследуемых лиц.

Роль полиморфизмов *GCLC* и *GCLM* в патогенезе СД2 связана со снижением активности промоторов изучаемых генов у носителей аллелей Т по сравнению с носителями диких аллелей С при воздействии активных форм кислорода, что было убедительно показано в работах японских исследовательских групп [13, 15]. Снижение экспрессии регуляторного фермента глутаматцистеинлигазы при-

водит к снижению синтеза глутатиона, способствуя формированию окислительного стресса и, как следствие, повышению чувствительности клеток к различным повреждающим факторам, таким как свободные радикалы, перекисные соединения и токсичные компоненты табачного дыма. Бета-клетки островков Лангерганса поджелудочной железы более других страдают в этих условиях ввиду исходно низкого содержания антиоксидантов [20]. Накопление активных форм кислорода оказывает ингибирующее влияние на экспрессию гена инсулина путем репрессии двух ключевых транскрипционных факторов, Maf A и PDX-1, [8, 10] а также запускает апоптоз путем активации киназ ASK-1 и JNK [17, 19, 21]. Усиление апоптоза приводит к необратимому снижению массы функционирующих β -клеток [22] и нарастанию хронической гипергликемии, классического диагностического признака СД2.

Важным дополнительным по отношению к описанным выше механизмом действия свободнорадикальных соединений является активация экспрессии эндотелина I и ангиотензина II, которые связываются с рецепторами протеинкиназы C, увеличивая таким образом фосфорилирование сериновых и треониновых остатков β -субъединиц инсулинового рецептора с последующим торможением фосфорилирования тирозиновых остатков субстрата инсулинового рецептора 1 (СИР-1) и угнетением ферментативной активности фосфатидилинозитол-3-киназы, продуцирующей фосфатидилинозитолтрифосфат [7]. В результате отсутствия этого вторичного посредника рецепции инсулина, первичные эффекты действия гормона (активация глюкозных транспортеров ГЛЮТ и де-

фосфорилирование ключевых ферментов межучасточного обмена) на пострецепторном уровне не реализуются, что приводит к развитию феномена инсулинорезистентности периферических тканей, ограничению потребления глюкозы скелетными миоцитами и адипоцитами и усугублению гипергликемии.

Выявленная нами ассоциация генотипа T/T гена *GCLC* с предрасположенностью к СД2 в подгруппе мужчин была установлена у курящих больных и отсутствовала у некурящих пациентов. Аналогичным образом вели себя и биохимические показатели редокс-статуса обследуемых: окисленный глутатион и перекись водорода были значительно повышены в группе больных СД2 мужчин и подгруппе больных мужчин-курильщиков. Следует отметить, что доля курящих среди мужчин составила 75,3%, а среди женщин – 8,9%. Курение является известным фактором риска развития СД2 [5] из-за стимуляции генерации чрезвычайно реакционноспособных радикалов и прямого токсического действия на клетки поджелудочной железы и другие ткани, метаболические нарушения которых патогенетически связаны с заболеванием [18]. Повышение концентрации активных форм кислорода при СД2 было установлено и в других исследованиях [16, 23], но ни в одном из них не проводился анализ их содержания отдельно у мужчин и женщин.

Выводы:

1. Полиморфный локус гена *GCLC* (rs17883901) ассоциирован с повышенным риском развития СД2 у мужчин Курской области.

2. Редокс статус больных СД2 мужчин характеризуется повышенным содержанием перекиси водорода H_2O_2 в плазме крови и накоплением димера окисленного глутатиона GSSG.

3. Курение и носительство редкого аллеля Т гена *GCLC* (rs17883901) увеличивают риск развития СД2 у мужчин и способствуют формированию дисбаланса в про- и антиоксидантной системе.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Аметов А.С., Соловьева О.Л. Окислительный стресс при сахарном диабете 2-го типа и пути его коррекции // Проблемы эндокринологии. 2011. Т. 57, № 6. С. 52-56.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION) // Сахарный диабет. 2016. Т. 19, № 2. С. 104-112.
3. Инициация и интенсификация сахароснижающей терапии у больных сахарным диабетом 2 типа: обновление консенсуса совета экспертов Российской ассоциации эндокринологов (2015 г.) / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, А.С. Аметов, М.Б. Анциферов, Г.Р. Галстян, А.Ю. Майоров, А.М. Мкртумян, Н.А. Петунина, О.Ю. Сухарева // Сахарный диабет. 2015. Т. 18, №. 1. С. 5-23.
4. Alberti K.G.M.M., Zimmet P.F. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation // Diabetic medicine. 1998. 15(7). Pp. 539-553.
5. American Diabetes Association. Smoking and diabetes // Diabetes Care. 2003. 26(1). Pp. 89-91.
6. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological). 1995. Pp. 289-300.
7. Chang Y.C., Chuang L.M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to Clinical implication // Am J Transl Res. 2010. 2(3). Pp. 316-331.
8. Guo S., Dai C., Guo M. Inactivation of specific в cell transcription factors in type 2 diabetes // The Journal of clinical investigation. 2013. 123(8). Pp. 3305-3316.
9. Hanzawa R., Ohnuma T., Nagai Y., Shibata N., Maeshima H., Baba H., Arai H. No association between glutathione-synthesis-related genes and Japanese schizophrenia // Psychiatry and clinical neurosciences. 2011. 65(1). Pp. 39-46.
10. Harmon J.S., Stein R., Robertson R.P. Oxidative stress-mediated, post- translational loss of MafA protein as a contributing mechanism to loss of insulin gene expression in glucotoxic beta cells // J Biol Chem. 2005. 280. Pp. 11107-11113.
11. Hashemi M., Hoseini H., Yaghmaei P., Moazeni-Roodi A., Bahari A., Hashemzahi, N., Shafieipour S. Association of polymorphisms in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit and microsomal triglyceride transfer protein genes with nonalcoholic fatty liver disease // DNA and cell biology. 2011. 30(8). Pp. 569-575.
12. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 8th Edition Brussels, Belgium. idf.org. 2017. Pp. 1-4.
13. Koide S.I., Kugiyama K., Sugiyama S., Nakamura S.I., Fukushima H., Honda O., Ogawa H. Association of polymorphism in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit gene with coronary vasomotor dysfunction and myocardial infarction // Journal of the American College of Cardiology. 2003. 41(4). Pp. 539-545.
14. Maniatis T. Molecular cloning // A Laboratory Manual, 1982.
15. Nakamura S.I., Kugiyama K., Sugiyama S., Miyamoto S., Koide S.I., Fukushima H., Ogawa H. Polymorphism in the 5'-flanking region of human glutamate-cysteine ligase modifier subunit gene is associated with myocardial infarction // Circulation. 2002. 105(25). Pp. 2968-2973.
16. Nourooz-Zadeh J., Tajaddini-Sarmadi J., McCarthy S., Betteridge D.J., Wolff S.P. Elevated levels of authentic plasma hydroper-

oxides in NIDDM // *Diabetes*. 1995. 44. Pp. 1054-1058.

17. Palit S., Kar S., Sharma G., Das P.K. Hesperetin induces apoptosis in breast carcinoma by triggering accumulation of ROS and activation of ASK1/JNK pathway // *Journal of cellular physiology*. 2015. 230(8). Pp. 1729-1739.

18. Pan A., Wang Y., Talaei M., Hu F.B., Wu T. Relation of active, passive, and quitting smoking with incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis // *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2015. 3(12). Pp. 958-967.

19. Shiizaki S., Naguro I., Ichijo H. Activation mechanisms of ASK1 in response to various stresses and its significance in intracellular signaling // *Advances in biological regulation*. 2013. 53(1). Pp. 135-144.

20. Tiedge M., Lortz S., Drinkgern J. Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidant defense status of insulin-producing cells // *Diabetes*. 1997. 46(11). Pp. 1733-1742.

21. Watanabe T., Sekine S., Naguro I., Sekine Y., Ichijo H. Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-p38 pathway-dependent cytoplasmic translocation of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for oxidative stress-induced necrosis // *Journal of Biological Chemistry*. 2015. 290(17). Pp. 10791-10803.

22. Wright E., Scism-Bacon J.L., Glass L.C. Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia // *Int. J. Clin. Pract.* 2006. 60(3). Pp. 308-314.

23. Yoshida K., Hirokawa J., Tagami S., Kawakami Y., Urata Y., Kondo T. Weakened cellular scavenging activity against oxidative stress in diabetes mellitus: regulation of glutathione synthesis and efflux // *Diabetologia*. 1995. 38. Pp. 201-210.

References

1. Ametov, A.S., Solovieva, O.L. (2011), "Okislitel'niy stress pri sakharnom diabete 2-go tipa i puti yego korrektsii" [Oxidative stress in type 2 diabetes mellitus and ways of its correc-

tion], *Problemy endokrinologii*, 57(6), 52-56. *Russian*.

2. Dedov, I.I., Shestakova, M.V., Galstyan, G.R. (2016), "Rasprostranennost' sakharnogo diabeta 2 tipa u vzroslogo nasele-niya Rossii (issledovaniye NATION)" [The prevalence of type 2 diabetes mellitus in the adult population of Russia (NATION study)], *Sakharnyy diabet*, 19(2), 104-112. *Russian*.

3. Dedov, I.I., Shestakova, M.V., Ametov, A.S., Antsiferov, M.B., Galstyan, G.R., Mayorov, A.Yu., Mkrtumyan, A.M., Petunina, N.A., Sukhareva, O.Yu. (2015), "Initsiatsiya i intensifikatsiya sakharnozhizhayushchey terapii u bol'nykh sakharnym diabetom 2 tipa: ob-novleniye konsensusa soveta ekspertov Ros-siyskoy assotsiatsii endokrinologov (2015 g.)" [Initiation and intensification of antihyperglycemic therapy in type 2 diabetes mellitus: Up-date of the Russian Association of Endocrinol-ogists expert consensus document (2015)], *Sakharnyy diabet*, 18(1), 5-23. *Russian*.

4. Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P.F. (1998), "Definition, diagnosis and classifica-tion of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consul-tation", *Diabetic medicine*, 15(7), 539-553.

5. American Diabetes Association. *Smok-ing and diabetes*, *Diabetes Care*. (2003), 26(1), 89-91.

6. Benjamini, Y., Hochberg, Y. (1995), "Controlling the false discovery rate: a practi-cal and powerful approach to multiple test-ing", *Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological)*, 289-300.

7. Chang, Y.C., Chuang, L.M. (2010) "The role of oxidative stress in the pathogene-sis of type 2 diabetes: from molecular mecha-nism to Clinical implication", *Am J Transl Res*, 2(3), 316-331.

8. Guo, S., Dai, C., Guo M. (2013), "Inac-tivation of specific β cell transcription factors in type 2 diabetes", *The Journal of clinical in-vestigation*, 123(8), 3305-3316.

9. Hanzawa, R., Ohnuma, T., Nagai, Y., Shibata, N., Maeshima, H., Baba, H., Arai, H. (2011), "No association between glutathi-

one-synthesis-related genes and Japanese schizophrenia”, *Psychiatry and clinical neurosciences*, 65(1), 39-46.

10. Harmon, J.S., Stein, R., Robertson, R.P. (2005), “Oxidative stress-mediated, post-translational loss of MafA protein as a contributing mechanism to loss of insulin gene expression in glucotoxic beta cells”, *J Biol Chem*, 280, 11107-11113.

11. Hashemi, M., Hoseini, H., Yaghmaei, P., Moazeni-Roodi, A., Bahari, A., Hashemzahi, N., Shafieipour, S. (2011), “Association of polymorphisms in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit and microsomal triglyceride transfer protein genes with nonalcoholic fatty liver disease”, *DNA and cell biology*, 30(8), 569-575.

12. *International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 8th Edition* (2017). Brussels: Belgium. idf.org, 1-4.

13. Koide, S.I., Kugiyama, K., Sugiyama, S., Nakamura, S.I., Fukushima, H., Honda, O., Ogawa, H. (2003), “Association of polymorphism in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit gene with coronary vasomotor dysfunction and myocardial infarction”, *Journal of the American College of Cardiology*, 41(4), 539-545.

14. Maniatis T. (1982), “Molecular cloning”, *A Laboratory Manual*.

15. Nakamura, S.I., Kugiyama, K., Sugiyama, S., Miyamoto, S., Koide, S.I., Fukushima, H., Ogawa, H. (2002), “Polymorphism in the 5'-flanking region of human glutamate-cysteine ligase modifier subunit gene is associated with myocardial infarction”, *Circulation*, 105(25), 2968-2973.

16. Nourooz-Zadeh, J., Tajaddini-Sarmadi, J., McCarthy, S., Betteridge, D.J., Wolff, S.P. (1995), “Elevated levels of authentic plasma hydroperoxides in NIDDM”, *Diabetes*, 44, 1054-1058.

17. Palit, S., Kar, S., Sharma, G., Das, P.K. (2015), “Hesperetin induces apoptosis in breast carcinoma by triggering accumulation of ROS and activation of ASK1/JNK pathway”, *Journal of cellular physiology*, 230(8), 1729-1739.

18. Pan, A., Wang, Y., Talaei, M., Hu, F.B., Wu, T. (2015), “Relation of active, passive, and quitting smoking with incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis”, *The lancet Diabetes & endocrinology*, 3(12), 958-967.

19. Shiizaki, S., Naguro, I., Ichijo, H. (2013), “Activation mechanisms of ASK1 in response to various stresses and its significance in intracellular signaling”, *Advances in biological regulation*, 53(1), 135-144.

20. Tiedge, M., Lortz, S., Drinkgern, J. (1997), “Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidant defense status of insulin-producing cells”, *Diabetes*. 46(11), 1733-1742.

21. Watanabe, T., Sekine, S., Naguro, I., Sekine, Y., Ichijo, H. (2015), “Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-p38 pathway-dependent cytoplasmic translocation of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for oxidative stress-induced necrosis”, *Journal of Biological Chemistry*, 290(17), 10791-10803.

22. Wright, E., Scism-Bacon, J.L., Glass, L.C. (2006), “Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia”, *Int. J. Clin. Pract*, 60(3), 308-314.

23. Yoshida, K., Hirokawa, J., Tagami, S., Kawakami, Y., Urata, Y., Kondo, T. (1995), “Weakened cellular scavenging activity against oxidative stress in diabetes mellitus: regulation of glutathione synthesis and efflux”, *Diabetologia*, 38, 201-210.

Азарова Юлия Эдуардовна – доцент кафедры биологической химии КГМУ; заведующая лабораторией биохимической генетики и метаболомики НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ, кандидат медицинских наук.

Клесова Елена Юрьевна – инженер-биотехнолог НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ.

Конопля Александр Иванович – заведующий кафедрой биологической химии КГМУ, доктор медицинских наук, профессор.

Полоников Алексей Валерьевич – профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии КГМУ; заведующий лабораторией статистической генетики и биоинформатики НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ; директор НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ, доктор медицинских наук, профессор.

Azarova Yuliya Eduardovna – Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Kursk State Medical University; Head of the Laboratory of Biochemical Genetics and Metabolomics, Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, PhD in Medicine.

Klyosova Elena Yurevna – Engineer-biotechnologist, Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University.

Konoplya Alexander Ivanovich – Head of the Department of Biological Chemistry, Kursk State Medical University, Holder of Habilitation Degree in Medicine, Professor.

Polonikov Alexey Valerievich – Professor, Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk State Medical University; Head of the Laboratory of Statistical Genetics and Bioinformatics, Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University; Director of the Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, Holder of Habilitation Degree in Medicine, Professor.

УДК 616-02

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-53-69

Москаленко М.И.

**ВОВЛЕЧЕННОСТЬ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ
МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В ФОРМИРОВАНИЕ
АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И ЕЕ
ОСЛОЖНЕНИЙ (ОБЗОР)**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), ул. Победы, 85, г. Белгород, 308015, Россия
E-mail: mariam31011989@yandex.ru

Аннотация. Сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смертности и инвалидизации в России и в мире, а артериальная гипертензия считается независимым предрасполагающим фактором таких осложнений, как инфаркт миокарда, мозговой инсульт, хроническая почечная недостаточность, аневризма. Изучение молекулярно-генетических основ гипертензии является актуальной задачей современной медицины и определяет перспективы ее персонализации. *Целью* данного обзора является обобщение экспериментальных данных о генетических ассоциациях полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ (ММР) с развитием артериальной гипертензии и ее осложнений. *Материалы и методы.* Исследованы литературные данные об ассоциациях полиморфизмов генов *MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12* с развитием АГ и ее осложнений. Поиск и анализ литературных данных проведен по базам PubMed-NCBI (<https://preview.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). *Результаты исследования и заключение.* Металлопротеиназы – группа протеолитических ферментов с широким спектром биологических функций, которые отвечают за гидролиз всех компонентов внеклеточного матрикса. В сосудистой стенке ММР оказывают влияние на миграцию, пролиферацию и апоптоз гладкомышечных, эндотелиальных и воспалительных клеток, тем самым определяя формирование интимы и артериальное ремоделирование, что подтверждается клиническими и трансгенными исследованиями. Данные о роли полиморфных маркеров *MMP* в развитии артериальной гипертензии и ее осложнений не всегда согласуются между собой и отличаются в разных популяциях, что может объясняться различиями в этническом составе исследуемых групп, дизайне исследования и размерах выборок. **Ключевые слова:** артериальная гипертензия; однонуклеотидный полиморфизм; матриксные металлопротеиназы.

M.I. Moskalenko

THE INVOLVEMENT OF GENES OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN THE DEVELOPMENT OF ARTEIAL HYPERTENSION AND ITS COMPLICATION (REVIEW)

Belgorod State National Research University
85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
E-mail: mariam31011989@yandex.ru

Abstract. Cardiovascular diseases are the leading cause of death and disability in Russia and in the world, and hypertension is considered to be an independent predisposing factor in such complications as myocardial infarction, cerebral stroke, chronic renal failure and aneurysm. The study of the molecular genetic basis of hypertension is an important task of modern medicine and determines the prospects for its personalization. *The aim of this review is to generalize the experimental data on genetic associations of matrix metalloproteinases (MMP) gene polymorphisms with the development of arterial hypertension and its complications. Materials and methods.* The paper reviews the data on associations of polymorphisms of *MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12* with development of hypertension and its complications. The search and analysis of the literature data was carried out using the PubMed-NCBI databases (<https://preview.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). *Results of the study and conclusion.* According to the latest data, the genes of matrix metalloproteinases (MMP) are involved in the etiopathogenesis of hypertension. This group of proteolytic enzymes with a wide range of biological functions, which are responsible for the hydrolysis of all components of the extracellular matrix. In the vascular wall, MMPs affect the migration, proliferation and apoptosis of smooth muscle, endothelial and inflammatory cells, thereby determining the formation of intima and arterial remodeling, as evidenced by clinical and transgenic studies. The facts about the role of MMP polymorphic markers in the development of arterial hypertension do not always agree with each other and differ in different populations, which can be explained by differences in the ethnic composition and size of the study groups and the design of the study.

Key words: arterial hypertension; single nucleotide polymorphism (SNP); matrix metalloproteinases.

Введение. Артериальная гипертензия (АГ) имеет колоссальное значение среди сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) по распространенности, влиянию на здоровье, продолжительность жизни и трудоспособность [16, 20, 39, 47]. В

докладе Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) указано, что более 7,6 млн. преждевременных смертей в год (13,5% от общемирового значения) вызваны повышенным (115 мм.рт.ст. и выше) систолическим

артериальным давлением (САД). Существенный вклад в показатели заболеваемости и смертности населения вносят такие осложнения АГ, как инфаркт миокарда, мозговой инсульт, атеросклероз, аневризма аорты и др. [39, 47]. Многочисленными эпидемиологическими исследованиями доказано, что 20-55% всех случаев артериальной гипертензии обусловлены вкладом генетической детерминанты [5, 15, 25, 27, 51]. Спектр генов-кандидатов, потенциально вовлеченных в формирование АГ и ее осложнений, постоянно расширяется, на данный момент их известно более 150 [3, 6, 30]. Согласно исследованиям последних лет, несомненный вклад в формирование артериальной гипертензии вносят гены матриксных металлопротеиназ (ММР) [38, 40, 41]. Это группа ферментов с широким спектром биологических функций, которые отвечают за гидролиз всех компонентов внеклеточного матрикса и участвуют во всех патологических событиях сердечно-сосудистого континуума [10, 12, 14, 22]. Наибольший интерес, с точки зрения вовлеченности в развитие артериальной гипертензии и ее осложнений, представляют полиморфизмы генов *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-3*, *MMP-7*, *MMP-8*, *MMP-9*, *MMP-12* [17, 33, 46, 50].

Цель исследования. Целью данного обзора является обобщение экспериментальных данных о генетических ассоциациях полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ с развитием артериальной гипертензии и ее осложнений.

Материалы и методы исследования. Исследованы литературные данные об ассоциациях полиморфизмов генов *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-3*, *MMP-7*,

MMP-8, *MMP-9*, *MMP-12* с развитием артериальной гипертензии и ее осложнений. Поиск и анализ литературных данных проведен по базам PubMed-NCBI

(<https://preview.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>).

Результаты исследования и их обсуждение. Среди полиморфных локусов *MMP-1*, вовлеченных в развитие артериальной гипертензии, наиболее изученным является генетический маркер rs1799750 [31, 37, 48, 45]. При изучении связи данного однонуклеотидного полиморфизма с атеросклерозом сонных артерий сербскими учеными установлен дозозависимый эффект: даже один аллель -1607 2G увеличивает у носителей риск возникновения атеросклеротического поражения сосудов (OR=3,49, 95% CI=1,67-7,30, p=0,0009) [37]. Эти данные не согласуются с результатами, полученными при исследовании австралийской популяции. Morris D.R. et al. изучали связь генетического маркера -1607 1G/2G *MMP-1* (rs1799750) с формированием артериальной гипертензии и атеросклероза, работая с базами данных Medline и Embase. Проведенный мета-анализ не выявил ассоциаций rs1799750 с развитием атеросклероза и АГ у населения Австралии [48].

В исследовании Velho F.M. et al. было показано, что генетический вариант -1607 2G полиморфизма -1607 1G/2G *MMP-1* вовлечен в развитие инфаркта миокарда у больных АГ в бразильской популяции (OR=0,47, 95% CI=0,27-0,82, p=0,008) [42]. Эти данные не согласуются с результатами, полученными при исследовании мексиканской когорты, где учеными не было выявлено значимых отличий в частотах аллелей и генотипов по локусу rs1799750 между

группой больных с инфарктом на фоне АГ и контрольной группой ($p < 0,05$) [45].

Таким образом, имеющиеся в печати данные свидетельствуют о вовлеченности полиморфизма -1607 1G/2G *MMP-1* (rs1799750) в развитие сердечно-сосудистой патологии в сербской, китайской, бразильской популяциях. Полученные результаты могут объясняться низкой транскрипционной активностью соответствующего гена у носителей генотипа 1G/1G *MMP-1* (по сравнению с носителями генотипов 1G/2G и 2G/2G), что ведет к накоплению внеклеточного матрикса и патологическому стенозу артерий. Носительство генотипа 2G/2G, напротив, ведет к увеличению транскрипционной активности этого гена, что потенциально приводит к повышению скорости распада коллагена [31].

На данный момент активно исследуется вклад в формирование АГ и ее осложнений гена *MMP-2* и его полиморфизмов rs243866, rs243865 и rs243847 [18, 24, 34, 36, 43]. При исследовании полиморфизма -1575 A/G *MMP-2* (rs243866) иранскими учеными было установлено, что у носителей аллеля -1575 А наблюдаются более высокие уровни неоптерина, общего холестерина и триглицеридов и низкие уровни ЛПВП (OR=1,78, 95% CI=1,23-2,06, $p=0,029$). Основываясь на полученных данных, авторы делают заключение, что аллель -1575 А *MMP-2* ассоциирован с развитием артериальной гипертензии и других сердечно-сосудистых заболеваний у его носителей [34].

Бразильскими исследователями была изучена вовлеченность полиморфизма -1306 СТ *MMP-2* (rs243865) в развитие артериальной гипертензии и ремодели-

рование сосудов левого желудочка. Metzger I.F. et al. в ходе мета-анализа не было выявлено ассоциаций между данным полиморфизмом и возникновением артериальной гипертензии [24], однако, Lacchini R. установлено, что генотип -1306 СС *MMP-2* (rs243865) ассоциирован со снижением индекса массы левого желудочка ($p=0,043$) у бразильского населения [18]. Ученые центра генома человека (г. Токио) проанализировали вовлеченность полиморфизма *MMP-2* (rs243865) в формирование внутричерепной аневризмы у пациентов с артериальной гипертензией. Показано, что вариант -1306 С *MMP-2* является фактором риска ($p=0,00090$) развития сердечно-сосудистой патологии в японской популяции [28]. Вовлеченность данного SNP в формирование осложнений АГ не подтверждается при изучении китайской популяции. Nao Y. et al. проведен многофакторный логистический регрессионный анализ, который не выявил ассоциаций между полиморфным маркером rs243865 и развитием ишемического инсульта у больных с АГ [9]. Другой группой китайских ученых установлено, что аллель -735 С *MMP-2* (rs2285053) является фактором риска возникновения нестабильных атеросклеротических бляшек у индивидуумов популяции Ханьцы (OR=1,438, 95% CI=1,089-1,519, $p=0,004$) [26].

Представленные данные свидетельствуют, что полиморфизмы гена *MMP-2* ассоциированы с возникновением дистрофии левого желудочка, аневризмы и атеросклеротического поражения сосудов.

Несколько работ зарубежных исследователей посвящено изучению вклада в развитие сердечно-сосудистой патоло-

гии полиморфизмов гена *MMP-3*. Наибольшее внимание уделяется rs35068180 и rs3025058 [9, 19, 23, 48]. Исследовательская группа Мельбурнского университета (Австралия) определяла риск возникновения сердечно-сосудистой патологии с учетом генотипа по локусу -1171 5A/6A *MMP-3* (rs35068180). Установлено, что уровень экспрессии гена у гетерозигот 5A/6A *MMP-3* оптимален для ремоделирования и поддержания эластичности сосудов, что снижает риск возникновения АГ и ее осложнений в группе носителей данного генотипа [35]. Канадскими исследователями проведено исследование, в ходе которого установлено, что больные с АГ, гомозиготные по аллелю -1171 6A *MMP-3* характеризуются более быстрым прогрессированием атеросклероза коронарных сосудов по сравнению с пациентами с генотипами 5A/5A и 5A/6A [44].

Многофакторный логистический регрессионный анализ показал отсутствие корреляции между полиморфизмом -1612 5A/6A *MMP-3* (rs3025058) и возникновением АГ в китайской популяции [9]. Однако в печати имеются данные об ассоциации данного SNP с рядом других сердечно-сосудистых заболеваний. Проспективное исследование связи полиморфизма *MMP-3* rs3025058 с аневризмой аорты на фоне артериальной гипертензии, проведенное группой австралийских ученых, показало, что полиморфный маркер -1612 6A ассоциирован с разрывом аорты у больных с АГ (OR=1,48; 95% CI=1,23-1,78, $p=3,95 \times 10^{-5}$) [48]. В исследовании случай-контроль Sakowicz A. et al. установлено, что вариант -1612 6A *MMP-3* коррелирует с прогрессированием сужения просвета и

ассоциируется с острым инфарктом миокарда у больных с АГ в польской популяции (OR=1,568, 95% CI=1,201-2,048, $p=0,008$) [46]. Учеными американского общества клинической патологии было показано, что у пациентов с артериальной гипертензией с генотипом 5A/5A по локусу -1612 5A/6A *MMP-3* (rs3025058) риск развития осложнений после острого инфаркта миокарда в пять раз выше, чем у носителей генотипа 6A/6A [19]. Однако, в работе Rodriguez-Perez J.M. et al. не было установлено ассоциаций полиморфизма rs3025058 *MMP-3* с развитием инфаркта миокарда у пациентов с артериальной гипертензией в мексиканской популяции [45].

Зарубежными исследователями проводится анализ вовлеченности гена *MMP-7* в развитие АГ, однако данные по разным популяциям не согласуются между собой [4, 13, 29]. В работе швейцарских ученых показано, что носители генотипа GG по локусу -181 A/G *MMP-7* (rs11568818) и носители генотипа TT по локусу -153 C/T *MMP-7* (rs11568819) предрасположены к возникновению сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, к артериальной гипертензии и атеросклеротическому поражению сосудов [4]. При этом анализ ассоциаций между полиморфизмом -181 A/G *MMP-7* и возникновением артериальной гипертензии, проведенный Mishra A. et al. (Индия), не выявил достоверной разницы между группой больных и контрольной группой ($p<0,05$) [13]. Исследование мексиканской популяции показало, что данный локус также не ассоциирован с генетической предрасположенностью к инфаркту миокарда у больных с АГ [49].

Представляют интерес полиморфизмы rs11225395 и rs1320632 гена *MMP-8*, однако исследования их вовлеченности в патогенез АГ и ее осложнений немногочисленны [7, 21, 37]. Исследование связи генетического полиморфизма rs11225395 *MMP-8* с артериальной гипертензией и аневризмой аорты у пациентов с АГ в китайской популяции показало, что аллель -799 Т ассоциирован с развитием данной патологии. Авторы объясняют это повышенной активностью промоторного участка, несущего мутантный аллель -799 Т гена *MMP-8* по сравнению с промотором, содержащим аллель дикого типа -799 С [7]. При исследовании связи данного полиморфизма с риском развития атеросклероза у больных с метаболическим синдромом, учеными Тегеранского университета было выявлено, что мутантный аллель -799Т является предиктором развития сердечно-сосудистой патологии в иранской популяции [21].

Исследования группы сербских ученых показали, что полиморфизмы -381A/G и -799C/T *MMP-8* являются факторами риска возникновения атеросклероза сонных артерий у больных с повышенными значениями АД. Установлено, что в сербской популяции частота аллеля -381G значительно выше в группе больных с атеросклерозом, чем в контрольной группе (OR=1,7, 95% CI=1,1-2,9, p=0,001); встречаемость аллеля -799Т также достоверно выше в группе больных по сравнению с контрольной группой (OR=1,58, 95% CI=0,9-2,7, p=0,003) [37].

Несколькими исследовательскими группами изучаются ассоциации гена *MMP-9* с формированием артериальной

гипертензии, особое внимание уделяется вкладу полиморфных маркеров rs17576 и rs3918242 [11, 12, 24, 46].

Yang W. и Lu J. проведен мета-анализ вовлеченности полиморфизма -1562C/T *MMP-9* в развитие артериальной гипертензии в китайской популяции. Установлено достоверное различие в частотах аллелей (OR=1,36, 95% CI=1,17-1,59, p=0,0001) и генотипов (OR=1,30, 95% CI=1,10-1,54, p=0,002) в группе больных и контрольной группе, что свидетельствует об ассоциации данного SNP с развитием АГ [12]. Аналогичные результаты получены при исследовании мексиканской популяции. Rodriguez-Perez J.M. et al. показано, что генетический вариант -1562 Т гена *MMP-9* (rs3918242) ассоциирован с формированием предрасположенности к сердечно-сосудистой патологии (OR=2,88, 95% CI=1,68-3,92, p<0,01) [45].

Несколько работ посвящено оценке вклада полиморфных маркеров гена *MMP-9* в развитие осложнений АГ, так в исследовании Sakowicz A. et al. показано, что аллель Т по локусу -1562 C/T *MMP-9* коррелирует с высоким риском развития инфаркта миокарда у польского населения. Риск инфаркта миокарда среди больных артериальной гипертензией с генотипами ТТ и СТ почти в 1,5 раза выше, чем у индивидуумов с генотипом СС (OR=1,14, 95% CI=1,02-1,27; p=0,02) [8, 46]. Индийскими исследователями доказана вовлеченность генетического полиморфизма -1562 C/T *MMP-9* (rs17576) в развитие дисфункции левого желудочка на фоне артериальной гипертензии (OR=3,82, 95% CI=2,11-4,8 p=0,009) [13]. Группой исследователей под руководством Нао У. установлено, что данный полиморфизм ассоциирован

с риском развития ишемического инсульта в китайской популяции (OR=1,54, 95% CI=1,16-2,04, $p=0,005$) [9].

Вероятно, наблюдаемые ассоциации объясняются более высокой активностью промоторного участка гена у носителей мутантных аллелей (-1562 T и -836 G соответственно) по сравнению с носителями диких аллелей вследствие связывания репрессора транскрипции, что ведет к избыточному накоплению ферментов и избыточной деградации внеклеточного матрикса в сосудистой стенке [24].

Работы, посвященные изучению вклада в формирование артериальной гипертензии и ее осложнений полиморфизмов гена *MMP-12* немногочисленны [32, 40, 48]. В работе R.M. Tanner и его коллег показано, что полиморфный вариант -82 G *MMP-12* (rs2276109) ассоциирован с высоким риском развития инфаркта миокарда у населения США (OR=1,395, 95% CI=1,049-1,956, $p=0,02$) [40].

Исследование риска возникновения аневризмы сосудов головного мозга у больных с высокими значениями АД, проведенное учеными Института невропатологии г. Мюнстер (Германия), показало, что в этот патологический процесс вовлечен полиморфизм гена *MMP-12* (rs2276109). Зафиксированы ассоциации между носительством аллеля -82 G и восприимчивостью к аневризме (OR=1,26, 95% CI 1,07-1,89, $p=0,011$). Эти данные не согласуются с результатами изучения австралийской популяции – мета-анализ, проведенный учеными исследовательского центра Квинсленда, не выявил ассоциаций между полиморфизмом rs2276109 и возникновением аневризмы ($p>0,05$) [48].

Наблюдаемые ассоциации полиморфизмов *MMP* с развитием сердечно-сосудистой патологии могут объясняться тем, что изменение экспрессии соответствующего гена приводит к повреждению эндотелия сосудов, воспалительному процессу и дефектному ремоделированию сосудов, что играет важную роль в патогенезе артериальной гипертензии и ее осложнений [32].

Лишь единичные исследования вовлеченности генов матричных металлопротеиназ в формирование предрасположенности к АГ и ее осложнений проведены в России [1, 2]. Учеными института биологии Карельского научного центра РАН изучена связь маркера -1612 5A/6A *MMP-3* (rs3025058) с развитием артериальной гипертензии. Показано, что частоты аллелей и генотипов по исследуемому локусу достоверно не отличаются в группе больных и контрольной группе ($p>0,05$), однако обнаружены ассоциации генетического варианта 5A/5A *MMP-3* с высоким уровнем триглицеридов и глюкозы у карельского населения [1].

Исследователями Северо-западного федерального медицинского исследовательского центра (г. Санкт-Петербург) выявлена ассоциация генотипа CC генетического маркера *MMP-2* (rs2285053) с возникновением аневризмы восходящего отдела аорты ($p=0,03$). Этой же исследовательской группой проанализирована вовлеченность полиморфизмов rs11697325, rs2274755, rs17577 *MMP-9* в формирование аневризмы восходящей части аорты. Показано, что частота генотипа AA *MMP-9* (rs11697325) в группе больных достоверно превышает

аналогичный показатель в контрольной группе ($p=0,01$). Для полиморфных маркеров rs2274755 и rs17577 MMP-9 ассоциаций выявлено не было ($p>0,05$) [2].

Сводные данные по вовлеченности полиморфных маркеров генов MMP в развитие артериальной гипертензии и ее осложнений в различных популяциях приведены в таблице.

Таблица

Результаты анализа ассоциаций генетических полиморфизмов матриксных металлопротеиназ с формированием АГ и ее осложнений

Table

Results of the analysis of associations of genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases with the formation of hypertension and its complications

Популяция	Объем выборки (больные/контроль)	Результат/ заключение
Россия, Санкт-Петербург	287/227	Генотип CC генетического маркера MMP-2 (rs2285053) и генотип AA MMP-9 (rs11697325) ассоциированы с возникновением аневризмы восходящего отдела аорты на фоне АГ [2]
	287/227	Нет ассоциаций rs2274755 и rs17577 MMP-9 с аневризмой аорты у больных с АГ [2]
Россия, Карелия	174/198	Генотип 5A/5A MMP-3 rs3025058 коррелирует с высоким уровнем триглицеридов и глюкозы [1]
Германия	187/212	Аллель -82 G полиморфизма MMP-12 (rs2276109) ассоциирован с возникновением церебральной аневризмы [32]
Сербия	428/274	Атеросклеротическое поражение сосудов у носителей варианта -1607 2G MMP-1 (rs1799750) [37]
	428/274	Варианты -381G (-381A/G) и -799T (-799C/T) MMP-8 ассоциированы с атеросклерозом сонных артерий [37]
Польша	271/141	Вариант -1612 6A MMP-3 (rs3025058) коррелирует с прогрессированием сужения просвета и ассоциируется с острым инфарктом миокарда у больных с АГ [46]
	271/141	Аллель T по локусу -1562 C/T MMP-9 ассоциирован с артериальной гипертензией и высоким риском развития инфаркта миокарда [46]
Швейцария	350	Генотип GG по локусу -181A/G MMP-7 (rs11568818) и генотип TT по локусу -153 C/T MMP-7 (rs11568819) ассоциированы с артериальной гипертензией и атеросклеротическим поражением сосудов [4]

Популяция	Объем выборки (больные/ контроль)	Результат/ заключение
США	112/140 577/600	Генотип 5А/5А по локусу -1612 5А/6А <i>MMP-3</i> (rs3025058) ассоциирован с осложнениями после острого инфаркта миокарда [19] Вариант -82 G <i>MMP-12</i> (rs2276109) ассоциирован с высоким риском развития инфаркта [40]
Мексика	236/285 236/285	Нет ассоциаций полиморфизмов -1607 1G/2G <i>MMP-1</i> (rs1799750), rs3025058 <i>MMP-3</i> , -181 A/G <i>MMP-7</i> (rs11568818) с инфарктом миокарда на фоне АГ [45] Генетический вариант -1562 Т гена <i>MMP-9</i> (rs3918242) ассоциирован с развитием инфаркта миокарда у больных с АГ [45]
Бразилия	313/367 160/ 123 189/190 189/190	Ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда на фоне АГ у носителей варианта -1607 2G <i>MMP-1</i> (rs1799750) [42] Снижение индекса массы левого желудочка на фоне АГ при генотипе СС по локусу -1306 С/Т <i>MMP-2</i> (rs243865) [18] Нет ассоциаций полиморфизма -1306 С/Т <i>MMP-2</i> (rs243865) с АГ [24] Генетические варианты 1562 Т (rs3918242) и -836 G (rs17576) <i>MMP-9</i> ассоциированы с АГ [24]
Иран	109/101 87/93	Повышенные значения холестерина и триглицеридов, низкий уровень ЛПВП у носителей варианта -1575 А <i>MMP-2</i> (rs243866) [34] Аллель -799 Т полиморфизма <i>MMP-8</i> (rs11225395) ассоциирован с атеросклерозом [21]
Австралия	141-2191/ 340-2013 1258/1406 141-2191/ 340-2013	Нет ассоциаций полиморфизма -1607 1G/2G <i>MMP-1</i> (rs1799750) с атеросклерозом [48] Вариант -1612 6А <i>MMP-3</i> (rs3025058) ассоциирован с повышенным АД и разрывом аорты у больных с АГ [48] Нет ассоциаций генетического маркера -82 А>G <i>MMP-12</i> с развитием аневризмы аорты [48]
Канада	116/121	Генотип -1171 6А/6А <i>MMP-3</i> ассоциирован с прогрессированием атеросклероза коронарных сосудов [44]
Япония	2050/1835	Полиморфизмы - 998 С/Т <i>MMP-2</i> (rs243847) и -1306 С>Т <i>MMP-2</i> (rs243865) ассоциированы с внутричерепной аневризмой на фоне АГ [28]

Популяция	Объем выборки (больные/ контроль)	Результат/ заключение
Индия	100/150	Аллель G полиморфизма -181 A/G <i>MMP</i> -7 и T аллель полиморфизма -153 C/T <i>MMP</i> -7 коррелируют с размером коронарной артерии у пациентов с АГ [29]
	310/230	Нет ассоциации полиморфизма -181 A/G <i>MMP</i> -7 с возникновением артериальной гипертензии [13]
	310/230	Полиморфизм rs17576 <i>MMP</i> -9 ассоциирован с дисфункцией левого желудочка [13]
Китай	170/ 426	Патологический стеноз артерий при генотипе 1G/1G по локусу -1607 <i>MMP</i> -1 [31]
	221/ 243	Нестабильные атеросклеротические бляшки у носителей варианта -735 C <i>MMP</i> -2 (rs22850053) [26]
	317/317	Нет ассоциации -1612 5A/6A <i>MMP</i> -3 rs3025058 с развитием артериальной гипертензии [9]
	152/ 147	Аллель -799 T полиморфизма rs11225395 <i>MMP</i> -8 ассоциирован с артериальной гипертензией и аневризмой аорты [7]
	2243/1359	Полиморфизм -1562C/T <i>MMP</i> -9 ассоциирован с развитием артериальной гипертензии [18]
	589/ 494	Полиморфизм -1562 C/T <i>MMP</i> -9 ассоциирован с возникновением инсульта [8]

Заключение. Таким образом, в доступной печати достаточно работ, посвященных изучению вклада генов матричных металлопротеиназ в формирование артериальной гипертензии и ее осложнений. Следует отметить, что подавляющее большинство этих исследований выполнено за рубежом. При этом полученные результаты не всегда согласуются между собой и отличаются в разных популяциях, что может объясняться различиями в этническом составе исследуемых групп, дизайне исследования и размерах выборок, а также рядом других факторов [17, 33]. В России подобные исследования единичны, фрагментарны

и включают анализ лишь некоторых популяций. Сложность механизмов развития гипертензии и гетерогенность изученных популяций диктуют необходимость проведения дальнейших исследований патогенетической роли локусов *MMP* в формировании АГ и ее осложнений. В перспективе данные о генетическом полиморфизме матричных металлопротеиназ могут стать ценным инструментом для клинической стратификации сердечно-сосудистых больных.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Исследование полиморфных вариантов гена матриксной металлопротеиназы 3 (ММП-3) в качестве маркера риска развития артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца у населения Республики Карелия / Коломейчук С. Н., Корнева В. А., Илюха В. В., Кузнецова А. С., Кузнецова Т. Ю. // Журнал биомедицинских технологий. 2014. № 2. С. 10-16.
2. Полиморфизмы генов матриксных металлопротеиназ 2 и 9 у пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты / Гаврилюк Н.Д., Иртюга О.Б., Дружкова Т.А., Успенский В.Е., Малашичева А.Б., Костарева А.А., Моисеева О.В. // Российский кардиологический журнал. 2015. № 10. С. 65-69.
3. Wang Z., Xu Y., Chen S., Wang L., Ding H., Lu G., Wang D., Zhai Z., Duan J., Zhang W. A common missense single nucleotide polymorphism in the E-selectin gene is significantly associated with essential hypertension in the Han population but only weakly associated in the Uygur population // Hypertens Research. 2012. 35(4). Pp. 413-417
4. Jormsjö S., Whatling C., Walter D. H., Zeiher A. M., Hamsten A., Eriksson P. Allele-Specific Regulation of Matrix Metalloproteinase-7 Promoter Activity Is Associated With Coronary Artery Luminal Dimensions Among Hypercholesterolemic Patients // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2011. 21. Pp. 1834-1839.
5. Anthony D., George P., Eaton C.B. Cardiac risk factors: biomarkers and genetic tests to determine cardiovascular risk // FP Essentials. 2014. 421. Pp. 11-15.
6. Guo S., Chen W., Yang Y., Yang Z., Cao M. Association between 1019C/T polymorphism in the connexin 37 gene and essential hypertension // Heart Lung Circ. 2014. 23(10). Pp. 924-929.
7. Wang X., Sun Q., Huang Y., Hu Y., Tang J., Lin Y., Niu Y., Wang X., Du B. Association between CACNB2 gene polymorphisms and essential hypertension // Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. 2013. 30 (3). Pp. 340-344.
8. Wen D., Du X., Nie S.P., Dong J.Z., Ma C.S. Association between matrix metalloproteinase family gene polymorphisms and ischemic stroke: a meta-analysis // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2014. 28. Pp. 1834-1839.
9. Hao Y., Tian S., Sun M., Zhu Y., Nie Z., Yang S. Association between matrix metalloproteinase gene polymorphisms and development of ischemic stroke // Int J Clin Exp Pathol. 2015. 8(9). Pp. 1647-1652.
10. Saratzis A., Bown M.J., Wild B., Nightingale P., Smith J., Johnson C., Melas N., Kitis G.D. Association between seven single nucleotide polymorphisms involved in inflammation and proteolysis and abdominal aortic aneurysm // J Vasc Surg. 2015. 61(5). Pp. 1120-1128.
11. Wu H.D., Bai X., Chen D.M., Cao H.Y., Qin L. Association of genetic polymorphisms in matrix metalloproteinase-9 and coronary artery disease in the Chinese Han population: a case-control study // Genet Test Mol Biomarkers. 2013. 17(9). Pp. 707-712.
12. Yang W., Lu J., Yang L., Zhang J. Association of Matrix Metalloproteinase-9 Gene -1562C/T Polymorphism with Essential Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis Article // Iran J Public Health. 2015. 44(11). Pp. 1445-1452.
13. Mishra A., Srivastava A., Mittal T., Garg N., Mittal B. Association of matrix metalloproteinases (MMP2, MMP7 and MMP9) genetic variants with left ventricular dysfunction in coronary artery disease patients // Clin Chim Acta. 2012. 413(19-20). Pp. 1668-1674.
14. Bonnans C., Chou J., Werb Z. Bonnans C. Remodelling the extracellular matrix in development and disease // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2014. 15(12). Pp. 786-801.
15. Taljaard M., Tuna M., Bennett C., Perez R., Rosella L., Tu J.V., Sanmartin C., Hennessy D., Tanuseputro P., Lebenbaum M., Manuel D.G. Cardiovascular Disease Population Risk Tool (CVDPORT): predictive algorithm for assessing CVD risk in the community setting // BMJ Open. 2014. 4(10). Pp. 213-219.

16. Chen Z.R., Huang B., Fan X.H., Lu H.S., Zhao Z.H., Hui R.T., Yang Y.M., Zhu J., Zhang S. Clinical characteristics and outcomes of patients with acute aortic dissection: impact of hypertension // *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2016. 44(3). Pp. 220-225.
17. Miao S., Zhou S.Y., Han C.S., Zhang L.N., Sun H.B., Yang B. Clinicopathological significance of matrix metalloproteinase-7 protein expression in esophageal cancer: a meta-analysis // *Drug Des Devel Ther*. 2015. 9. Pp. 3729-3740.
18. Lacchini R., Jacob-Ferreira A.L., Luizon M.R., Gasparini S., Ferreira-Sae M.C., Schreiber R., Nadruz W. Jr., Tanus-Santos J.E. Common matrix metalloproteinase 2 gene haplotypes may modulate left ventricular remodelling in hypertensive patients // *J Hum Hypertens*. 2012. 26(3). Pp. 171-177
19. El-Aziz T.A., Mohamed R.H. Matrix Metalloproteinase 3 Gene Polymorphism and Its Level Predict Morbidity After Acute Myocardial Infarction // *Am J Clin Pathol*. 2016. 145(1). Pp. 134-139.
20. Perk J., De Backer G., Gohlke H., Graham I., Reiner Z., Verschuren M. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR) // *Eur Heart J*. 2012. 33. Pp. 1635-1701.
21. Hoseini S.M., Kalantari A., Afarideh M., Noshad S., Behdadnia A., Nakhjavani M., Esteghamati A. Evaluation of plasma MMP-8, MMP-9 and TIMP-1 identifies candidate cardiometabolic risk marker in metabolic syndrome: results from double-blinded nested case-control study // *Metabolism*. 2015. 64(4). Pp. 527-538.
22. Fields G.B., Stawikowski M.J. Imaging Matrix Metalloproteinase Activity Implicated in Breast Cancer Progression // *Methods Mol Biol*. 2016. 1406. P. 303-329.
23. Qintao C., Yan L., Changhong D., Xiaoliang G., Xiaochen L. Genetic polymorphism of matrix metalloproteinase-1 and coronary artery disease susceptibility: a case-control study in a Han Chinese population // *Genet Test Mol Biomarkers*. 2014. 18(12). Pp. 826-831.
24. Metzger I.F., Luizon M.R., Lacchini R., Tanus-Santos J.E. Genetic variants in matrix metalloproteinase-9 gene modify metalloproteinase-9 levels in black subjects // *DNA Cell Biol*. 2012. 31(4). Pp. 504-510.
25. Chang T.J., Wang W.C., Hsiung C.A., He C.T., Lin M.W., Sheu W.H., Chang Y.C., Quertermous T., Chen I., Rotter J., Chuang L.M. Genetic Variation in the Human SORBS1 Gene is Associated With Blood Pressure Regulation and Age at Onset of Hypertension: A SAPHIRE Cohort Study // *Medicine (Baltimore)*. 2016. 95(10). Pp. 2970.
26. Wang F., Jin X.P., Zhu M., Lin X.F., Hu X.F., Wang W.F., Han Z., Huang L.Z. Genotype association of C(-735)T polymorphism of the MMP-2 gene with the risk of carotid atherosclerosis-vulnerable plaque in the Han Chinese population // *Vasc Med*. 2011. 16(1). Pp. 13-18.
27. Hejduk P., Sakowicz A., Pietrucha T. Association between ins4436A in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene and essential hypertension in Polish population // *Postepy Hig Med Dosw*. 2015. 69. Pp. 1245-1250.
28. Low S.K., Zembutsu H., Takahashi A., Kamatani N., Cha P.C., Hosono N., Kubo M., Matsuda K., Nakamura Y. Impact of LIMK1, MMP2 and TNF- α variations for intracranial aneurysm in Japanese population // *J Hum Genet*. 2011. 56(3). Pp. 211-216.
29. Sri Manjari K., Nallari P., Balakrishna N., Vidyasagar A., Prabhakar B., Jyothy A., Venkateshwari A. Influence of matrix metalloproteinase-1 gene -1607 (1G/2G) (rs1799750) promoter polymorphism on circulating levels of MMP-1 in chronic pancreatitis // *Biochem Genet*. 2013. 51(7-8). Pp. 644-654.
30. Liu X., Meng F., Yang P. Association study of CD36 single nucleotide polymorphisms with essential hypertension in the

Northeastern Han Chinese // *Gene*. 2013. 527(1). Pp. 410-415.

31. Lin T.H., Yang S.F., Chiu C.C., Su H.M., Wang C.L., Voon W.C., Lai W.T., Sheu S.H. Matrix metalloproteinase-1 mitral expression and -1607 1G/2G gene promoter polymorphism in mitral chordae tendinae rupture // *Transl Res*. 2013. 161(5). Pp. 406-413.

32. Arning A., Jeibmann A., Köhneemann S., Brokinkel B., Ewelt C., Berger K., Wellmann J., Nowak-Göttl U., Stummer W., Stoll M., Holling M. Matrix metalloproteinase-12 (MMP-12) and the risk of cerebral aneurysm // *J Neurosurg* 2016. 8. Pp. 1-6.

33. Saeed H.M., Alanazi M.S., Parine N.R., Shaik J., Semlali A., Alharbi O., Azzam N., Aljebreen A., Almadi M., Shalaby M.A. Matrix metalloproteinase-2 (-1306 c>t) promoter polymorphism and risk of colorectal cancer in the Saudi population // *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013. 14(10). Pp. 6025-6030.

34. Bahrehmand F., Vaisi-Raygani A., Kiani A., Rahimi Z., Tavilani H., Navabi S.J., Shakiba E., Hassanzadeh N., Pourmotabbed T. Matrix metalloproteinase-2 functional promoter polymorphism G1575A is associated with elevated circulatory MMP-2 levels and increased risk of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus patients // *Lupus*. 2012. 21(6). Pp. 616-624.

35. Medley T. L., Kingwell B. A., Gatzka C. D., Pillay P., Cole T. J. Matrix metalloproteinase-3 genotype contributes to age-related aortic stiffening through modulation of gene and protein expression // *Circ. Res*. 2013. 92. Pp. 1254-1261.

36. Chen W., Hua K., Gu H., Zhang J., Wang L. Scand Methylenetetrahydrofolate reductase C667T polymorphism is associated with increased risk of coronary artery disease in a Chinese population // *J Immunol*. 2014. 80(5). Pp. 346-353.

37. Djuric T., Zivkovic M., Milosevic B., Andjelevski M., Cvetkovic M., Kostic M., Stankovic A. MMP-1 and -3 haplotype is associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract // *Pediatr Nephrol*. 2014. 29(5). Pp. 879-884.

38. Zeng R., Zhang X., Wu K., Su Y., Wen F. MMP9 gene polymorphism is not associated with polypoidal choroidal vasculopathy and neovascular age-related macular degeneration in a Chinese Han population // *Ophthalmic Genet*. 2014. 35(4). Pp. 235-240.

39. Singh M., Singh A.K., Pandey P., Chandra S., Singh K.A., Gambhir I.S. Molecular genetics of essential hypertension // *Clin Exp Hypertens*. 2016. 38(3). Pp. 268-277.

40. Tanner R.M., Lynch A.I., Brophy V.H., Eckfeldt J.H., Davis B.R., Ford C.E., Boerwinkle E., Arnett D.K. Pharmacogenetic associations of MMP9 and MMP12 variants with cardiovascular disease in patients with hypertension // *PLoS One*. 2011. № 6(8). 23609 p.

41. Luizon M.R., Belo V.A., Fernandes K.S., Andrade V.L., Tanus-Santos J.E., Sandrim V.C. Plasma matrix metalloproteinase-9 levels, MMP-9 gene haplotypes, and cardiovascular risk in obese subjects // *Mol Biol Rep* 2016. 43(6). Pp. 463-471.

42. Velho F.M., Cohen C.R., Santos K.G., Silvello D., Martinelli N., Biolo A., Clausell N. Polymorphisms of matrix metalloproteinases in systolic heart failure: role on disease susceptibility, phenotypic characteristics, and prognosis // *J Card Fail*. 2011. 17(2). Pp. 115-121.

43. Hua Y., Song L., Wu N., Xie G., Lu X., Fan X., Meng X., Gu D., Yang Y. Polymorphisms of MMP-2 gene are associated with systolic heart failure prognosis // *Clin Chim Acta*. 2009. 404(2). Pp. 119-123.

44. Richardson P. D., Davies M. J., Born G. V. R. Richardson P. D. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques // *Heart*. 2014. 99(10). Pp. 715-721.

45. Rodríguez-Pérez J.M., Vargas-Alarcón G., Posadas-Sánchez R., Zagal-Jiménez T.X., Ortiz-Alarcón R., Valente-Acosta B., Tovilla-Zárate C., Nostroza-Hernández C., Pérez-Méndez O., Pérez-Hernández N. rs3918242 MMP9 gene polymorphism is associated with myocardial infarction in Mexican patients // *Genet Mol Res*. 2016. 15(1).

46. Sakowicz A., Hejduk P., Pietrucha T. Association between ins4436A in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene and essential hypertension in Polish population // Postepy Hig Med Dosw (Online). 2015. 69. Pp. 1245-1250.

47. Seravalle G., Mancia G., Grassi G. Role of the sympathetic nervous system in hypertension and hypertension-related cardiovascular disease // High Blood Press Cardiovasc Prev. 2014. 21(2). Pp. 89-105.

48. Morris D.R., Biros E., Cronin O., Kuivaniemi H., Golledge J. The association of genetic variants of matrix metalloproteinases with abdominal aortic aneurysm: a systematic review and meta-analysis // Heart. 2014. 100(4). Pp. 295-302.

49. Pérez-Hernández N., Vargas-Alarcón G., Martínez-Rodríguez N., Martínez-Ríos M.A., Peña-Duque M.A., Peña-Díaz Ade L., Valente-Acosta B., Posadas-Romero C., Medina A., Rodríguez-Pérez J.M. The matrix metalloproteinase 2-1575 gene polymorphism is associated with the risk of developing myocardial infarction in Mexican patients // J Atheroscler Thromb. 2012. 19(8). Pp. 718-727.

50. Xu X., Wang L., Xu C., Zhang P., Yong F., Liu H., Wang J., Shi Y. Variations in matrix metalloproteinase-1, -3, and -9 genes and the risk of acute coronary syndrome and coronary artery disease in the Chinese Han population // Coron Artery Dis. 2013. 24(4). Pp. 259-265.

51. Wang J., Wang Z., Yu C. Association of Polymorphisms in the Atrial Natriuretic Factor Gene with the Risk of Essential Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis // Int J Environ Res Public Health. 2016. 13(5).

References

1. Kolomeychuk, S.N., Kornev, V.A., Ilyukha, V.V., Kuznetsov, A.S., Kuznetsova, T.Y. (2014), “ Issledovaniye polimorfnykh variantov gena matriksnoy metalloproteinazy 3 (MMP-3) v kachestve markera riska razvitiya arterial'noy gipertenzii i ishemicheskoy bolezni serdtsa u naseleniya Respubliki Kareliya” [Study of gene polymorphisms of matrix

metalloproteinase 3 (MMP-3) as a marker of the risk of hypertension and coronary heart disease in the population of the Republic of Karelia], *Zhurnal biomeditsinskikh tekhnologiy*, 2, 10-16. Russian.

2. Gavrilyuk, N.D., Irtyuga, O.B., Druzhkova, T.A., Uspenskiy, V.E., Malashicheva, A.B., Kostareva, A.A., Moiseeva, O.V. (2015), “Polimorfizmy genov matriksnykh metalloproteinaz 2 i 9 u patsiyentov s anevrizmoy voskhodyashchego otdela aorty” [Polymorphisms of genes of matrix metalloproteinases 2 and 9 in patients with aneurysm of the ascending aorta], *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal*, 10, 65-69. Russian.

3. Wang, Z., Xu, Y., Chen, S., Wang, L., Ding, H., Lu, G., Wang, D., Zhai, Z., Duan, J., Zhang, W. (2012), “A common missense single nucleotide polymorphism in the E-selectin gene is significantly associated with essential hypertension in the Han population but only weakly associated in the Uygur population”, *Hypertens Research*, 35(4), 413-417.

4. Jormsjö, S., Whatling, C., Walter, D.H., Zeiher, A.M., Hamsten, A., Eriksson, P. (2011), “Allele-Specific Regulation of Matrix Metalloproteinase-7 Promoter Activity Is Associated With Coronary Artery Luminal Dimensions Among Hypercholesterolemic Patients”, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21, 1834-1839.

5. Anthony, D., George, P., Eaton, C.B. (2014), “Cardiac risk factors: biomarkers and genetic tests to determine cardiovascular risk”, *FP Essentials*, 421, 11-15.

6. Guo, S., Chen, W., Yang, Y., Yang, Z., Cao, M. (2014), “Association between 1019C/T polymorphism in the connexin 37 gene and essential hypertension”, *Heart Lung Circ*, 23(10), 924-929.

7. Wang X., Sun, Q., Huang, Y., Hu, Y., Tang, J., Lin, Y., Niu, Y., Wang, X., Du, B. (2013), “Association between CACNB2 gene polymorphisms and essential hypertension”, *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 30(3), 340-344.

8. Wen, D., Du, X., Nie, S.P., Dong, J.Z.,

Ma, C.S. (2014), "Association between matrix metalloproteinase family gene polymorphisms and ischemic stroke: a meta-analysis", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28, 1834-1839.

9. Hao, Y., Tian, S., Sun, M., Zhu, Y., Nie, Z., Yang, S. (2015), "Association between matrix metalloproteinase gene polymorphisms and development of ischemic stroke", *Int J Clin Exp Pathol*, 8(9), 1647-1652.

10. Saratzis, A., Bown, M.J., Wild, B., Nightingale, P., Smith, J., Johnson, C., Melas, N., Kitas, G.D. (2015), "Association between seven single nucleotide polymorphisms involved in inflammation and proteolysis and abdominal aortic aneurysm", *J Vasc Surg*, 61(5), 1120-1128.

11. Wu, H.D., Bai, X., Chen, D.M., Cao, H.Y., Qin, L. (2013), "Association of genetic polymorphisms in matrix metalloproteinase-9 and coronary artery disease in the Chinese Han population: a case-control study", *Genet Test Mol Biomarkers*, 17(9), 707-712.

12. Yang, W., Lu, J., Yang, L., Zhang, J. (2015), "Association of Matrix Metalloproteinase-9 Gene -1562C/T Polymorphism with Essential Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis Article", *Iran J Public Health*, 44(11), 1445-1452.

13. Mishra, A., Srivastava, A., Mittal, T., Garg, N., Mittal, B. (2012), "Association of matrix metalloproteinases (MMP2, MMP7 and MMP9) genetic variants with left ventricular dysfunction in coronary artery disease patients", *Clin Chim Acta*, 413(19-20), 1668-1674.

14. Bonnans, C., Chou, J., Werb, Z. Bonnans, C. (2014), "Remodelling the extracellular matrix in development and disease", *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 15(12), 786-801.

15. Taljaard, M., Tuna, M., Bennett, C., Perez, R., Rosella, L., Tu, J.V., Sanmartin, C., Hennessy, D., Tanuseputro, P., Lebenbaum, M., Manuel, D.G. (2014), "Cardiovascular Disease Population Risk Tool (CVDPeRT): predictive algorithm for assessing CVD risk in the community setting", *BMJ Open*, 4(10), 213-219.

16. Chen, Z.R., Huang, B., Fan, X.H., Lu, H.S., Zhao, Z.H., Hui, R.T., Yang, Y.M., Zhu, J., Zhang, S. (2016), "Clinical characteristics and outcomes of patients with acute aortic dissection: impact of hypertension", *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 44(3), 220-225.

17. Miao, S., Zhou, S.Y., Han, C.S., Zhang, L.N., Sun, H.B., Yang, B. (2015), "Clinicopathological significance of matrix metalloproteinase-7 protein expression in esophageal cancer: a meta-analysis", *Drug Des Devel Ther*, 9, 3729-3740.

18. Lacchini, R., Jacob-Ferreira, A.L., Luizon, M.R., Gasparini, S., Ferreira-Sae, M.C., Schreiber, R., Nadruz, W. Jr., Tanus-Santos, J.E. (2012), "Common matrix metalloproteinase 2 gene haplotypes may modulate left ventricular remodelling in hypertensive patients", *J Hum Hypertens*, 26(3), 171-177.

19. El-Aziz, T.A., Mohamed, R.H. (2016), "Matrix Metalloproteinase 3 Gene Polymorphism and Its Level Predict Morbidity After Acute Myocardial Infarction", *Am J Clin Pathol*, 145(1), 134-139.

20. Perk, J., De Backer, G., Gohlke, H., Graham, I., Reiner, Z., Verschuren, M. (2012), "European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR)", *Eur Heart J*, 33, 1635-1701.

21. Hoseini, S.M., Kalantari, A., Afarideh, M., Noshad, S., Behdadnia, A., Nakhjavani, M., Esteghamati, A. (2015), "Evaluation of plasma MMP-8, MMP-9 and TIMP-1 identifies candidate cardiometabolic risk marker in metabolic syndrome: results from double-blinded nested case-control study", *Metabolism*, 64(4), 527-538.

22. Fields, G.B., Stawikowski, M.J. (2016), "Imaging Matrix Metalloproteinase Activity Implicated in Breast Cancer Progression", *Methods Mol Biol*, 1406, 303-329.

23. Qintao, C., Yan, L., Changhong, D.,

Xiaoliang, G., Xiaochen, L. (2014), "Genetic polymorphism of matrix metalloproteinase-1 and coronary artery disease susceptibility: a case-control study in a Han Chinese population", *Genet Test Mol Biomarkers*, 18(12), 826-831.

24. Metzger, I.F., Luizon, M.R., Lacchini, R., Tanus-Santos, J.E. (2012), "Genetic variants in matrix metalloproteinase-9 gene modify metalloproteinase-9 levels in black subjects", *DNA Cell Biol*, 31(4), 504-510.

25. Chang, T.J., Wang, W.C., Hsiung, C.A., He, C.T., Lin, M.W., Sheu, W.H., Chang, Y.C., Quertermous, T., Chen, I., Rotter, J., Chuang, L.M. (2016), "Genetic Variation in the Human SORBS1 Gene is Associated With Blood Pressure Regulation and Age at Onset of Hypertension: A SAPHIRE Cohort Study", *Medicine (Baltimore)*, 95(10), 2970.

26. Wang, F., Jin, X.P., Zhu, M., Lin, X.F., Hu, X.F., Wang, W.F., Han, Z., Huang, L.Z. (2011), "Genotype association of C(-735)T polymorphism of the MMP-2 gene with the risk of carotid atherosclerosis-vulnerable plaque in the Han Chinese population", *Vasc Med*, 16(1), 13-18.

27. Hejduk, P., Sakowicz, A., Pietrucha, T. (2015), "Association between ins4436A in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene and essential hypertension in Polish population", *Postepy Hig Med Dosw*, 69, 1245-1250.

28. Low, S.K., Zembutsu, H., Takahashi, A., Kamatani, N., Cha, P.C., Hosono, N., Kubo, M., Matsuda, K., Nakamura, Y. (2011), "Impact of LIMK1, MMP2 and TNF- α variations for intracranial aneurysm in Japanese population", *J Hum Genet*, 56(3), 211-216.

29. Sri Manjari, K., Nallari, P., Balakrishna, N., Vidyasagar, A., Prabhakar, B., Jyothy, A., Venkateshwari, A. (2013), "Influence of matrix metalloproteinase-1 gene -1607 (1G/2G) (rs1799750) promoter polymorphism on circulating levels of MMP-1 in chronic pancreatitis", *Biochem Genet*, 51(7-8), 644-654.

30. Liu, X., Meng, F., Yang, P. (2013), "Association study of CD36 single nucleotide polymorphisms with essential hypertension in the Northeastern Han Chinese", *Gene*, 527(1), 410-415.

31. Lin, T.H., Yang, S.F., Chiu, C.C., Su, H.M., Wang, C.L., Voon, W.C., Lai, W.T., Sheu, S.H. (2013), "Matrix metalloproteinase-1 mitral expression and -1607 1G/2G gene promoter polymorphism in mitral chordae tendinae rupture", *Transl Res*, 161(5), 406-413.

32. Arning, A., Jeibmann, A., Köhnemann, S., Brokinkel, B., Ewelt, C., Berger, K., Wellmann, J., Nowak-Göttl, U., Stummer, W., Stoll, M., Holling, M. (2016), "Matrix metalloproteinase-12 (MMP-12) and the risk of cerebral aneurysm", *J Neurosurg*, 8, 1-6.

33. Saeed, H.M., Alanazi, M.S., Parine, N.R., Shaik, J., Semlali, A., Alharbi, O., Azzam, N., Aljebreen, A., Almadi, M., Shalaby, M.A. (2013), "Matrix metalloproteinase-2 (-1306 c>t) promoter polymorphism and risk of colorectal cancer in the Saudi population", *Asian Pac J Cancer Prev*, 14(10), 6025-6030.

34. Bahrehmand, F., Vaisi-Raygani, A., Kiani, A., Rahimi, Z., Tavilani, H., Navabi, S.J., Shakiba, E., Hassanzadeh, N., Pourmotabbed, T. (2012), "Matrix metalloproteinase-2 functional promoter polymorphism G1575A is associated with elevated circulatory MMP-2 levels and increased risk of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus patients", *Lupus*, 21(6), 616-624.

35. Medley, T. L., Kingwell, B.A., Gatzka, C.D., Pillay, P., Cole, T.J. (2013), "Matrix metalloproteinase-3 genotype contributes to age-related aortic stiffening through modulation of gene and protein expression", *Circ. Res*, 92, 1254-1261.

36. Chen, W., Hua, K., Gu, H., Zhang, J., Wang, L. (2014), "Scand Methylenetetrahydrofolate reductase C667T polymorphism is associated with increased risk of coronary artery disease in a Chinese population", *J Immunol*, 80(5), 346-353

37. Djuric, T., Zivkovic, M., Milosevic, B., Andjelevski, M., Cvetkovic, M., Kostic, M., Stankovic, A. (2014), "MMP-1 and -3 haplotype is associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract", *Pediatr Nephrol*, 29(5), 879-884.

38. Zeng, R., Zhang, X., Wu, K., Su, Y., Wen, F. (2014), "MMP9 gene polymorphism

is not associated with polypoidal choroidal vasculopathy and neovascular age-related macular degeneration in a Chinese Han population”, *Ophthalmic Genet*, 35(4), 235-240.

39. Singh, M., Singh, A.K., Pandey, P., Chandra, S., Singh, K.A., Gambhir, I.S. (2016), “Molecular genetics of essential hypertension”, *Clin Exp Hypertens*, 38(3), 268-277.

40. Tanner, R.M., Lynch, A.I., Brophy, V.H., Eckfeldt, J.H., Davis, B.R., Ford, C.E., Boerwinkle, E., Arnett, D.K. (2011), “Pharmacogenetic associations of MMP9 and MMP12 variants with cardiovascular disease in patients with hypertension”, *PLoS One*, 6(8), 23609.

41. Luizon, M.R., Belo, V.A., Fernandes, K.S., Andrade, V.L., Tanus-Santos, J.E., Sandrim, V.C. (2016), “Plasma matrix metalloproteinase-9 levels, MMP-9 gene haplotypes, and cardiovascular risk in obese subjects”, *Mol Biol Rep*, 43(6), 463-471.

42. Velho, F.M., Cohen, C.R., Santos, K.G., Silvello, D., Martinelli, N., Biolo, A., Clausell, N. (2011), “Polymorphisms of matrix metalloproteinases in systolic heart failure: role on disease susceptibility, phenotypic characteristics, and prognosis”, *J Card Fail*, 17(2), 115-121.

43. Hua, Y., Song, L., Wu, N., Xie, G., Lu, X., Fan, X., Meng, X., Gu, D., Yang, Y. (2009), “Polymorphisms of MMP-2 gene are associated with systolic heart failure prognosis”, *Clin Chim Acta*, 404(2), 119-123.

44. Richardson, P.D., Davies, M.J., Born, G.V.R. (2014), “Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques”, *Heart*, 99(10), 715-721.

45. Rodríguez-Pérez, J.M., Vargas-Alarcón, G., Posadas-Sánchez, R., Zagal-Jiménez, T.X., Ortiz-Alarcón, R., Valente-Acosta, B., Tovilla-Zárate, C., Nostroza-Hernández, C., Pérez-Méndez, O., Pérez-Hernández, N. (2016), “rs3918242 MMP9 gene polymorphism is associated with myocardial infarction in Mexican patients”, *Genet Mol Res*, 15(1).

46. Sakowicz, A., Hejduk, P., Pietrucha, T. (2015), “Association between ins4436A in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene and essential hypertension in Polish population”, *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 69, 1245-1250.

47. Seravalle, G., Mancia, G., Grassi, G. (2014), “Role of the sympathetic nervous system in hypertension and hypertension-related cardiovascular disease”, *High Blood Press Cardiovasc Prev*, 21(2), 89-105.

48. Morris, D.R., Biros, E., Cronin, O., Kuivaniemi, H., Golledge, J. (2014), “The association of genetic variants of matrix metalloproteinases with abdominal aortic aneurysm: a systematic review and meta-analysis”, *Heart*, 100(4), 295-302.

49. Pérez-Hernández, N., Vargas-Alarcón, G., Martínez-Rodríguez, N., Martínez-Ríos, M.A., Peña-Duque, M.A., Peña-Díaz Ade, L., Valente-Acosta, B., Posadas-Romero C., Medina A., Rodríguez-Pérez J.M. (2012), “The matrix metalloproteinase 2-1575 gene polymorphism is associated with the risk of developing myocardial infarction in Mexican patients”, *J Atheroscler Thromb*, 19(8), 718-727.

50. Xu, X., Wang, L., Xu, C., Zhang, P., Yong, F., Liu, H., Wang, J., Shi, Y. (2013), “Variations in matrix metalloproteinase-1, -3, and -9 genes and the risk of acute coronary syndrome and coronary artery disease in the Chinese Han population”, *Coron Artery Dis*, 24(4), 259-265.

51. Wang, J., Wang, Z., Yu, C. (2016), “Association of Polymorphisms in the Atrial Natriuretic Factor Gene with the Risk of Essential Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis”, *Int J Environ Res Public Health*, 13(5).

Москаленко Мария Ивановна – ассистент кафедры медико-биологических дисциплин медицинского института, кандидат биологических наук.

Moskalenko Mariya Ivanovna – Assistance Lecturer, Department of Biomedical Sciences, Medical Institute, PhD in Biology.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ PHARMACEUTICAL SCIENCES

УДК 582.99:543.635.25

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-70-76

Малютина А.Ю.
Шестопалова Н.Н.

**ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ТРАВЫ *ACROPTILON
REPENS* L. ФЛОРЫ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ**

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

Аннотация. *Цель исследования:* изучение компонентного состава полисахаридных комплексов травы горчака ползучего (*Acroptilon repens* L.). *Материалы и методы.* В качестве объекта исследования была использована воздушно-сухая измельченная трава горчака ползучего, заготовленная в 2017 г. на территории Тульской области в период массового цветения растения. Выделение полисахаридных комплексов проводили фракционно, согласно методике Кочеткова (сначала получали водорастворимые полисахаридные комплексы, а затем – пектиновые вещества и гемицеллюлозы А и Б). Установление моносахаридного состава выделенных полисахаридных комплексов осуществляли посредством кислотного гидролиза с последующей хроматографией в системах растворителей н-бутанол – пиридин – вода очищенная (6:4:3) и этилацетат – кислота уксусная – кислота муравьиная – вода очищенная (18:3:1:4) параллельно с достоверными образцами. Денситометрически было определено количественное содержание сахаров в гидролизатах полисахаридов. Для количественного определения функциональных групп в пектиновых веществах исследуемого сырья использовали титрометрические методы. *Результаты исследования.* В ходе исследования из травы горчака ползучего были выделены водорастворимые полисахаридные комплексы, пектиновые вещества, гемицеллюлозы А и Б. Установлено, что преобладающими веществами являются пектиновые вещества (12,6%) и водорастворимые полисахариды (4,03%). В водорастворимых полисахаридах травы горчака ползучего преобладают арабиноза (7,7%) и галактоза (6,9%). Основу пектиновых веществ составляет галактуроновая кислота (83,6%). В гемицеллюлозах преобладающим моносахаридом является ксилоза. Пектиновые вещества травы горчака ползучего характеризуются невысокой ($\lambda < 50\%$) степенью этерификации.

Ключевые слова: *Acroptilon repens* L.; *Asteraceae*; полисахариды.

A.Yu. Malyutina
N.N. Shestopalova

**STUDY OF POLYSACCHARIDES OF THE ACROPTILON
REPENS L. HERB OF THE FLORA OF TULA REGION**

Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
E-mail: malyutina_a@bsu.edu.ru

Abstract. *The aim of the research was to study the component composition of polysaccharide complexes of the *Acroptilon repens* L. herb. Materials and methods.* The air-dry *Acroptilon repens* L. herb, harvested in 2017 on the territory of the Tula region in the period of mass flowering was used as an object of the research. Isolation of polysaccharide complexes was carried out fractionally, according to the method of Kochetkov (first, there were obtained water-soluble polysaccharide complexes, and then – pectin substances and hemicelluloses A and B). The monosaccharide composition of the isolated polysaccharide complexes was established by acid hydrolysis, followed by chromatography with n-butanol – pyridine – water solvent systems purified (6 : 4 : 3) and ethyl acetate – acetic acid – formic acid – purified water (18 : 3 : 1 : 4) in parallel with reliable samples. The quantitative content of sugars in the hydrolysates of polysaccharides was determined by densitometry. Titrometric methods were used for the quantitative determination of functional groups in the pectin substances of the investigated raw material. *Results of the study.* In the course of the study, water-soluble polysaccharide complexes, pectin substances, hemicelluloses A and B were isolated from the *Acroptilon repens* L. herb. It was established that pectic substances (12.6%) and water-soluble polysaccharides (4.03%) were the predominant substances. In water-soluble polysaccharides of the *Acroptilon repens* L. herb, arabinose (7.7%) and galactose (6.9%) predominate. The basis of pectin substances is galacturonic acid (83.6%). In hemicelluloses, xylose is the predominant monosaccharide. The pectin substances of the *Acroptilon repens* L. herb are characterized by a low (<50%) degree of esterification.

Keywords: *Acroptilon repens* L.; *Asteraceae*; polysaccharides.

Введение. Интерес к полисахаридам природного происхождения непрерывно растет в течение последнего десятилетия. Сегодня они используются в самых различных областях как экопродукты, пищевые добавки, в косметологии, фармацевтике и биомедицине [3, 10]. Ученые отмечают важную роль природных полисахаридов и их производных в работе контролируемых систем доставки лекарств, особенно пролонгированных и

термолабильных препаратов [9]. Сегодня эти биологические полимеры обратили на себя внимание в качестве перспективных материалов в области тканевой инженерии [7].

Фитопрепараты на основе полисахаридов применяют в качестве отхаркивающих и противовоспалительных средств [3], широко известны их обволакивающие и смягчительные свойства [1, 3], антигипоксическое, антиоксидантное, ге-

патопротекторное и радиопротекторное действие [3, 11]. Ряд исследователей подчеркивает перспективность использования полисахаридов для коррекции липидного обмена и в терапии сахарного диабета [8, 13]. Некоторые полисахариды оказались эффективными антиульцерогенными агентами [3]. В литературе есть данные об иммуномодулирующей и противоопухолевой активности полисахаридов [5, 14], а также сведения об их способности восстанавливать работоспособность, что нашло применение в спортивной медицине [3, 12].

Широчайшая область практического применения и богатый спектр фармакологической активности обуславливают важность поиска новых источников получения полисахаридов, с последующим изучением их компонентного состава и разработкой методов выделения и количественного определения.

Горчак ползучий (*Acroptilon repens* L.) – многолетнее корнеотпрысковое травянистое растение с прутьевидно-ветвистыми паутинистыми стеблями семейства Астровые (*Asteraceae*). Широко распространен на юге и востоке европейской части России. Растет на солнечных местах в степях, на солончаковых лугах, залежах и как злостный корнеотпрысковый сорняк на полях. В народной медицине Средней Азии, Азербайджана и Крыма водный настой горчака ползучего рекомендуют принимать при малярии, а в Азербайджане – при эпилепсии. Отвар травы применяется наружно в виде обмываний, примочек и компрессов в качестве противочесоточного средства. Отвар плодов нашел применение как антигельминтное средство, а также при кашле и туберкулезе легких. Его же рекомендуют втирать в голову при выпадении волос. [6] Однако

растение не нашло применение в научной медицине, что отчасти связано с недостаточностью изученности его химического состава.

Цель работы – изучение компонентного состава полисахаридных комплексов травы горчака ползучего (*Acroptilon repens* L.).

Материалы и методы исследования.

В качестве объекта исследования была использована воздушно-сухая измельченная трава горчака ползучего (*Acroptilon repens* L.). Сырье заготавливали в 2017 г. на территории Тульской области в период массового цветения растения.

Выделение полисахаридов проводили по методике Н.К. Кочеткова последовательно тремя фракциями: сначала – водорастворимые полисахаридные комплексы (ВРПС), затем – пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлозы А и Б (ГЦ А и ГЦ Б) [2, 4].

Моносахаридный состав полисахаридных комплексов травы горчака ползучего устанавливали после гидролиза кислотой серной (1 моль/л) [2, 4]. Идентификацию моносахаридов в гидролизатах проводили методом бумажной хроматографии параллельно с достоверными образцами в системах растворителей: этилацетат – кислота уксусная – кислота муравьиная – вода (18:3:1:4) и н-бутанол-пиридин-вода (6:4:3). После высушивания на воздухе хроматограммы обрабатывали анилинфталатным реактивом и нагревали в сушильном шкафу при температуре 100-105°C; моносахариды проявлялись в виде красновато-коричневых пятен.

Количественное содержание сахаров в гидролизатах устанавливали методом денситометрии после хроматографиро-

вания в тонком слое сорбента [4]. Количественное определение функциональных групп пектиновых веществ (свободных карбоксильных, метоксилированных карбоксильных, общее количество карбоксильных, а также содержание метоксильных групп) проводили титрометрическим методом [4].

Результаты исследования и их обсуждение. По методике Н.К. Кочеткова из травы горчака ползучего фракционно были выделены ВРПС, ПВ, ГЦ А, ГЦ Б.

ВРПС травы горчака ползучего – это бледно-коричневый аморфный порошок, образующий при растворении в воде опалесцирующий раствор (рН 1% водного раствора находится в пределах 5-6). ВРПС исследуемого сырья растворимы в водных растворах щелочей и кислот, но не растворимы в органических растворителях, дают положительные реакции осаждения со спиртом этиловым и ацетоном, а также реакцию с реактивом Фелинга после кислотного расщепления полисахаридов.

ПВ травы горчака ползучего представляют собой светло-серый аморфный порошок, который растворяется в воде с образованием вязкого раствора (рН 1% водного раствора находится в пределах 3-4). Водные растворы пектиновых веществ осаждаются 1% раствором алюминия сульфата с образованием пектатов.

Методом хроматографии на бумаге параллельно с достоверными образцами сахаров в исследуемых ВРПС идентифицировали галактозу, ксилозу, арабинозу. Из кислых сахаров в траве горчака ползучего была обнаружена кислота галактуроновая. В выделенных ПВ преобладает галактуроновая кислота, в них обнаружены также и нейтральные моносахариды – глюкоза, галактоза, ксилоза, арабиноза (табл. 1).

Гемицеллюлозы (ГЦ А и ГЦ Б) представляют собой аморфные порошки желтовато-коричневого цвета. В гидролизатах ГЦ А и ГЦ Б обнаружены глюкоза, галактоза, ксилоза (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика полисахаридов, выделенных из травы горчака ползучего (*Acroptilon repens* L.)

Table 1

Characteristics of polysaccharides isolated from the *Acroptilon repens* L. herb

Фракция полисахаридов	Выход из воздушно-сухого сырья, %	глюкоза	галактоза	ксилоза	арабиноза	Галактуроновая кислота
ВРПС	4,03	–	6,9	0,4	7,7	3,4
ПВ	12,60	2,5	0,4	1,8	1,2	83,6
ГЦ А	3,25	–	2,2	7,1	–	–
ГЦ Б	1,72	1,6	1,2	5,8	–	–

Примечание: прочерк – отсутствие полисахарида.

Как видно из приведенных данных, в ВРПС травы горчака ползучего преобладают арабиноза (7,7%) и галактоза (6,9%). Основу пектиновых веществ со-

ставляет галактуроновая кислота (83,6%). В гемицеллюлозах преобладающим моносахаридом является ксилоза.

Пектиновые вещества травы горчака ползучего характеризуются невысо-

кой ($\lambda < 50\%$) степенью этерификации (табл. 2).

Таблица 2

Содержание основных функциональных групп в пектиновых веществах травы горчака ползучего (*Acroptilon repens* L.)

Table 2

The content of the main functional groups in the pectic substances of the *Acroptilon repens* L. herb

Функциональные группы, %				Степень этерификации (λ), %
К _с	К _м	К _о	ОСН ₃	
6,84	1,39	8,32	0,96	16,71

Примечание: К_с – свободные карбоксильные группы; К_м – метоксилированные карбоксильные группы; К_о – общее количество карбоксильных групп; ОСН₃ – метоксильные группы.

Выводы

1. Углеводные комплексы травы горчака ползучего представлены ВРПС, ПВ, ГЦ. Преобладающими веществами являются ПВ и ВРПС.

2. Установлен качественный и количественный моносахаридный состав исследуемых полисахаридов.

3. Пектиновые вещества горчака ползучего характеризуются невысокой ($\lambda < 50\%$) степенью этерификации.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Бойцова Т.М., Назарова О.М. Обоснование условий экстракции полисахаридов из настоя семени льна // Фундаментальные исследования. 2015. №8-1. С. 14-18.
2. Бубенчикова В.Н., Степнова И.В., Воробьева Е.А. Изучение веществ первичного биосинтеза травы горюхи ястребиновой (*Picris hieracioides* L.) // Медицинский вестник Башкортостана. 2016. Том 11, № 5 (65). С. 67-70.
3. Криштанова Н.А., Сафонова М.Ю., Болотова В.Ц. и др. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических

средств // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2005. № 1. С. 212-221.

4. Малютина А.Ю., Шестопалова Н.Н. Исследование состава полисахаридных комплексов *Achyrophorus maculatus* L. флоры Тульской области // Научный результат. Серия Медицина и Фармация. 2015. Т.1, № 3. С. 143-150.

5. Сафонова Е.А., Лопатина К.А., Разина Т.Г., Федорова Е.П., Зуева Е.П., Гурьев А.М., Белоусов М.В. Эритропозиндуцирующая активность полисахаридов *Tussilago farfara* L. на фоне комбинированного применения цисплатина и этопозиды // Сибирский онкологический журнал. 2017. 16(4). С. 42-48.

6. Ткаченко А.Н., Куликова М.Д., Малютина А.Ю. *Acroptilon repens* L. – перспективное растение народной медицины // Взгляд будущих специалистов на проблемы современной медицины: сборник тезисов научной сессии медицинского института НИУ «БелГУ» / под общ. ред. О.А. Ефремовой. Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ». 2016. С. 112.

7. Bacáková L., Novotná K., Parízek M. Polysaccharides as cell carriers for tissue engineering: the use of cellulose in vascular wall reconstruction // Physiological Research. 2014. 63 (1). Pp. 29-47.

8. Kim K.J., Lee O.H., Lee B.Y. Fucoidan, a sulfated polysaccharide, inhibits adipogenesis through the mitogen-activated protein kinase

pathway in 3T3-L1 preadipocytes // *Life Sci.* 2010. 86(21-22). Pp. 791-797.

9. Kumar D., Pandey J., Raj V., Kumar P. A review on the modification of polysaccharide through graft copolymerization for various potential applications // *The Open Medicinal Chemistry Journal.* 2017. 11. Pp. 109-126.

10. Laurienzo P., Fernandes J.C., Collic-Jouauland J., Fitton S. The use of natural polysaccharides as biomaterials // *BioMed Research International.* 2015. Pp. 1-2.

11. Li Ch., Li X., You L., Fu X., Liu R.H. Fractionation, preliminary structural characterization and bioactivities of polysaccharides from *Sargassum pallidum* // *Carbohydrate Polymers.* 2017. 155. Pp. 261-270.

12. Liu J., Du C., Wang Y., Yu Zh. Anti-fatigue activities of polysaccharides extracted from *Hericium erinaceus* // *Experimental and Therapeutic Medicine.* 2015. 9(2). Pp. 483-487.

13. Wang P.-Ch., Zhao Sh., Yang B.-Y., Wang Q.-H., Kuang H.-X. Anti-diabetic polysaccharides from natural sources: a review // *Carbohydrate Polymers.* 2016. 148. Pp. 86-97.

14. Zheng Ya., Wang Q., Lu X., Zheng B., Xiao J. Antitumor and immunomodulatory activities of the hot water-soluble polysaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds // *Free Radical Biology and Medicine.* 2016. 100. P. 133.

References

1. Boytsova, T.M., Nazarova, O.M. (2015), "Obosnovaniye usloviy ekstraktsii polisakharidov iz nastoya semeni lna" [Justification of the conditions for extraction of polysaccharides from the infusion of flax seed], *Fundamentalnyye issledovaniya*, 8-1, 14-18. *Russian.*

2. Bubenchikova, V.N., Stepnova, I.V., Vorobyeva, E.A. (2016), "Izucheniye veshchestv pervichnogo biosinteza travy gorlyukhi yastrebinkovoy (*Picris hieracioides* L.)" [The study of substances of primary biosynthesis of hawkweed oxtongue (*Picris hieracioides* L.)], *Meditinskiy vestnik Bashkortostana*, 11, 5(65), 67-70. *Russian.*

3. Krishtanova, N.A., Safonova, M.Yu., Bolotova, V.Ts. i dr. (2005), "Perspektivy ispolzovaniya rastitelnykh polisakharidov v

kachestve lechebnykh i lechenno-profilakticheskikh sredstv" [Prospects for the use of plant polysaccharides as therapeutic and therapeutic-prophylactic means], *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 1, 212-221. *Russian.*

4. Malyutina, A.Yu., Shestopalova, N.N. (2015), "Issledovaniye sostava polisakharidnykh kompleksov *Achyrophorus maculatus* L. flory Tul'skoy oblasti" [Investigation of the *Achyrophorus maculatus* L. polysaccharide complex composition of the flora of Tula region], *Nauchnyy rezultat. Seriya Meditsina i Farmatsiya*, 1, 3, 143-150. *Russian.*

5. Safonova, E.A., Lopatina, K.A., Razina, T.G., Fedorova, E.P., Zuyeva, E.P., Guryev, A.M., Belousov, M.V. (2017), "Eritropoezindutsiruyushchaya aktivnost polisakharidov *Tussilago farfara* L. na fone kombinirovannogo primeneniya tsisplatina i etopozida" [Erythropoiesis-induced activity of polysaccharides of *Tussilago farfara* L. against the background of the application of cisplatin and etoposide], *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal*, 16(4), 42-48. *Russian.*

6. Tkachenko, A.N., Kulikova, M.D., Malyutina, A.Yu. (2016), "*Acroptilon repens* L. – perspektivnoye rasteniye narodnoy meditsiny" [*Acroptilon repens* L. as a promising plant of traditional medicine], *Vzglyad budushchikh spetsialistov na problemy sovremennoy meditsiny: sbornik tezisov nauchnoy sessii meditsinskogo instituta NIU «BelGU»* / pod obshch. red. O.A. Efremovoy. Belgorod: ID «Belgorod» NIU «BelGU», 112. *Russian.*

7. Bacáková, L., Novotná, K., Parížek, M. (2014), "Polysaccharides as cell carriers for tissue engineering: the use of cellulose in vascular wall reconstruction", *Physiological Research*, 63 (1), 29-47.

8. Kim, K.J., Lee, O.H., Lee, B.Y. (2010), "Fucoidan, a sulfated polysaccharide, inhibits adipogenesis through the mitogen-activated protein kinase pathway in 3T3-L1 preadipocytes", *Life Sci*, 86(21-22), 791-797.

9. Kumar, D., Pandey, J., Raj, V., Kumar, P. (2017), "A review on the modification of polysaccharide through graft copolymerization

for various potential applications”, *The Open Medicinal Chemistry Journal*, 11, 109-126.

10. Laurienzo, P., Fernandes, J.C., Collic-Jouauland, J., Fitton, S. (2015), “The use of natural polysaccharides as biomaterials”, *BioMed Research International*, 1-2.

11. Li, Ch., Li, X., You, L., Fu, X., Liu, R.H. (2017), “Fractionation, preliminary structural characterization and bioactivities of polysaccharides from *Sargassum pallidum*”, *Carbohydrate Polymers*, 155, 261-270.

12. Liu, J., Du, C., Wang, Y., Yu, Zh. (2015), “Anti-fatigue activities of polysaccharides extracted from *Hericium erinaceus*”, *Experimental and Therapeutic Medicine*, 9(2), 483-487.

13. Wang, P.-Ch., Zhao, Sh., Yang, B.-Y., Wang, Q.-H., Kuang, H.-X. (2016), “Anti-diabetic polysaccharides from natural sources: a review”, *Carbohydrate Polymers*, 148, 86-97.

14. Zheng, Ya., Wang, Q., Lu, X., Zheng, B., Xiao, J. (2016), “Antitumor and immunomodulatory activities of the hot water-soluble

polysaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds”, *Free Radical Biology and Medicine*, 100, 133.

Малютина Анастасия Юрьевна – доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук.

Шестопалова Наталья Николаевна – доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент.

Malyutina Anastasiya Yurevna – Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, PhD in Pharmacy.

Shestopalova Nataliya Nikolaevna – Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, PhD in Agricultural Sciences, Associate Professor.

УДК 616.31-002:661.122

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-77-87

**Панкрушева Т.А.
Маравина И.Н.
Чекмарёва М.С.****ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ СОСТАВА
И ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
СТОМАТИТОВ**

ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава России,
кафедра фармацевтической технологии,
улица Карла Маркса, 3, г. Курск, 305004, Россия
E-mail: imaravina@rambler.ru

Аннотация. Среди различных воспалительных заболеваний полости рта у детей стоматиты занимают лидирующие позиции в стоматологии. Актуальность данной проблемы объясняется не только высокой распространенностью стоматитов в детской практике, но и хронизацией патологического процесса, контагиозностью и нарушениями со стороны иммунологической системы. По частоте распространения на первом месте стоят инфекционные стоматиты вирусной, бактериальной или грибковой этиологии. Большое значение в лечении стоматитов у детей уделяется местному воздействию лекарственных средств на слизистую оболочку полости рта. В статье дается обоснование использованию таблеток для рассасывания, содержащих метиленовый синий и анестезин, обладающих комплексным антисептическим и обезболивающим действием в терапии стоматитов разной этиологии. В статье приводятся результаты экспериментального обоснования состава таблеток для рассасывания, выбор оптимальной технологии их изготовления и показатели качества таблеточных гранулятов и готового продукта.

Ключевые слова: стоматиты; метиленовый синий; анестезин; вспомогательные вещества; грануляция; таблетки для рассасывания.

**I.N. Maravina
T.A. Pankrusheva
M.S. Chekmareva****STUDIES ON THE DEVELOPMENT OF COMPOSITION
AND TECHNOLOGY OF TABLETS FOR TREATMENT
OF STOMATITIS**

Federal State Budget Educational University of Higher Education «Kursk State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation,
3 Karl Marks St., Kursk, 305004
E-mail: imaravina@rambler.ru

Abstract. Among various inflammatory diseases of the oral cavity in children, stomatitis occupies a leading position in dentistry. The urgency of this problem is explained not only by the high prevalence of stomatitis in children's practice,

but also by the chronicization of the pathological process, contagiousness and disorders of the immune system. According to the frequency of spread, infectious stomatitis of viral, bacterial or fungal etiology is in the first place. Great importance in the treatment of stomatitis in children is given to the local effects of drugs on the oral mucosa. The article substantiates the use of orodispersible tablets containing methylene blue and benzocaine, having a complex antiseptic and analgesic effect in the treatment of stomatitis of different etiologies. The article presents the results of experimental substantiation of the orodispersible tablets composition, the choice of the optimal technology for their production and quality indicators of tablet granulates and the finished product.

Keywords: stomatitis; methylene blue; benzocaine; excipients; granulation; orodispersible tablets.

Введение. Наиболее часто встречающимся поражением слизистой оболочки полости рта является стоматит, которым болеют примерно 20% населения Земли. Среди различных воспалительных заболеваний полости рта у детей стоматиты занимают лидирующие позиции в стоматологии.

Слизистая оболочка ротовой полости ребенка тонкая и легкоранимая. Она может легко травмироваться даже при незначительных воздействиях. Микрофлора полости рта очень разнородна и подвержена значительным колебаниям в зависимости от особенностей питания, состояния иммунитета и сопутствующих заболеваний. Барьерные свойства слюны у детей выражены слабо из-за недостаточного функционирования факторов местного иммунитета, таких как ферменты, иммуноглобулины, Т-лимфоциты и другие физиологически активные вещества. При ослаблении иммунитета даже представители нормальной микрофлоры полости рта способны вызвать воспаление. Все вышеизложенные обстоятельства обуславливают частую заболеваемость детей стоматитами [5].

Актуальность данной проблемы объясняется не только высокой распространенностью стоматитов в детской прак-

тике, но и хронизацией патологического процесса, контагиозностью и нарушениями со стороны иммунологической системы. В высокой группе риска заболевания находятся дети грудного, раннего и дошкольного возраста.

Являясь заболеванием воспалительного характера, стоматит может возникать под воздействием инфекционных, механических, химических или физических факторов. По частоте распространения на первом месте стоят инфекционные стоматиты вирусной, бактериальной или грибковой этиологии, характеризующиеся как местной (гиперемия, отек, высыпания, образование налета, язвочки), так и общей симптоматикой (повышение температуры тела, отказ от еды, слабость и т.д.) [3, 6, 13].

Большое значение в лечении стоматитов у детей уделяется местному воздействию лекарственных средств на слизистую оболочку полости рта. Местная терапия решает такие задачи, как снятие или ослабление болевого симптома, антисептическое воздействие на очаги инфекции, очищение и кератопластика язвенных поверхностей и предупреждение реинфекции. Среди разнообразных лекарственных форм местного действия, в лечении стоматитов преобладают рас-

творы для полосканий и мази как аппликации. Однако следует уделить особое внимание таблеткам для рассасывания, в которых можно сочетать приятные органолептические свойства и, учитывая их медленное растворение в ротовой полости, можно добиться создания определенной концентрации лекарственных веществ и более длительное время воздействия на очаги поражения по сравнению с полосканиями [9, 15].

На протяжении многих лет для местного лечения стоматита использовали водный раствор метиленового синего, который эффективно применяли при вирусных, бактериальных и грибковых стоматитах. Появление новых, более эффективных лекарственных препаратов зачастую сопряжено с большим количеством побочных действий. Метиленовый синий не проникает в кровь, не токсичен, а, следовательно, практически не имеет побочных эффектов и может использоваться для детей со второго года жизни.

Цель работы – разработка состава и технологии таблеток для рассасывания, содержащих в качестве действующих веществ метиленовый синий и анестезин, и рекомендуемых в качестве комбинированного лекарственного средства антисептического и обезболивающего действия для лечения стоматитов различной этиологии.

Материалы и методы исследования. В работе использовали субстанции: метиленового синего «чда», производства «Macsen laboratories» (Индия), номер партии А 2030111607; анестезина (бензокаина) (ФС 42-3024-00) производства ОАО «Органика» (Россия), серия 80315.

При разработке состава и технологии таблеток использовали вспомогательные

вещества с нормированным содержанием основного вещества, токсических элементов, тяжелых металлов, радионуклидов, пестицидов и микробиологической чистоты, разрешенные к медицинскому применению и применению в пищевой промышленности: ксилит (ТУ 9197-009-72315488-2011, Россия), сорбит (ТУ 9197-008-72315488-2010, Россия), желатин (ГОСТ 11293-89, Россия), крахмал картофельный (ГОСТ 53876-2010, Россия), сахар белый (ГОСТ 33222-2015, Россия), метилцеллюлоза (ТУ 2231-107-05742755-96, Россия), лимонная кислота пищевая (ГОСТ 908-2004), магния стеарат «Ч фармакопейный» (ТУ 6-09-16-1533-90, Россия).

Оценку качества гранулятов проводили на приборах: сыпучесть – электронный тестер для измерения сыпучести гранулированного материала ERWEKA GTB (Германия); насыпная плотность – прибор SVM 121 ERWEKA (Германия); фракционный (гранулометрический) состав гранулятов – установка для ситового анализа Cisa – вибросита RT 200N (Испания); влагосодержание – анализатор влажности OHAUS MB-35 (температура – $105 \pm 1^\circ\text{C}$; точность измерения – 0,01%).

Прессование таблеток осуществляли на однопуансонном таблеточном прессе TDP-1,5T (Китай). Диаметр матрицы – 8 мм.

Качество полученных таблеток оценивали в соответствии с требованиями ГФ XIII изд., определяя однородность массы дозированных лекарственных форм (ОФС.1.4.2.0009.15), распадаемость (ОФС.1.4.2.0013.15) на приборе ZT-320m (ERWEKA, Германия), прочность на раздавливание (ОФС.1.4.2.0011.15) на приборе ТВН 125 (ERWEKA, Германия), истираемость

(ОФС.1.4.2.0004.15) на приборе TAR 120 (ERWEKA, Германия).

Количественное определение метиленового синего и анестезина проводили спектрофотометрическим методом, измеряя оптическую плотность лекарственных веществ в 7 М растворе хлористоводородной кислоты на спектрофотометре СФ-2000. Для метиленового синего наиболее выраженный максимум поглощения находится при длине волны 745 нм, а для анестезина – при длине волны 229 нм, что не мешает определению друг друга. Вспомогательные вещества, содержащиеся в таблетке, так же не оказывали влияния на количественное определение действующих веществ.

Результаты исследования и их обсуждение. Основные этапы эксперимента заключались в обосновании оптимального состава, разработке технологии и оценке качества таблеток.

Количество лекарственных веществ рассчитывали исходя из высшей разовой дозы при приеме лекарственного вещества внутрь для детей [12].

Метиленовая синь назначается внутрь детям из расчета 0,005-0,01 г на каждый год жизни, в 3-4 приема. Для одной таблетки средней массой 0,5 г брали 0,5 мг метиленовой сини, что значительно ниже разовой дозы при приеме внутрь детям.

Количество анестезина на одну таблетку определяли, основываясь на средне

терапевтической дозе для приема внутрь детям со 2-го года жизни и органолептических свойствах. Вкус и местноанестезирующий эффект определялись группой лиц (взрослых добровольцев) в количестве 10 человек путем рассасывания порошковой смеси, состоящей из анестезина (20, 15 или 10 мг) и 0,5 г сорбита или ксилита.

Первоначально дозу анестезина планировали 20 мг, однако при таком количестве местноанестезирующий эффект наступал мгновенно, долго сохранялся и в таблетках ощущался горький вкус анестезина. При постепенном уменьшении количества анестезина, эффект сохранялся, а горький вкус ощущался в меньшей степени. Таким образом, оптимальное количество анестезина на одну таблетку составило 10 мг.

Следующим важным этапом эксперимента был выбор вспомогательных веществ для разработки состава и технологии таблеточного гранулята. При получении гранулятов применяли такие группы вспомогательных веществ, как разбавители, одновременно придающие таблеткам сладкий вкус, связующие и антифрикционные вещества [1, 11, 14].

В качестве разбавителей использовали сорбит и ксилит. Исследовали 5 комбинаций смеси порошков, составы с 1-го по 5-ый, представленные в табл. 1.

Таблица 1

Составы смеси порошков для получения таблеточного гранулята

Table 1

Compositions of a mixture of powders for the preparation of a tablet granulate

№ состава \ Компоненты смеси*, г	Метиленовый синий	Анестезин	Сорбит	Ксилит	Лимонная кислота
1	0,05	1,0	48,95	-	-
2	0,05	1,0	-	48,95	-

Компоненты смеси*, г № состава	Метиленовый синий	Анестезин	Сорбит	Ксилит	Лимонная кислота
3	0,05	1,0	24,48	24,47	-
4	0,05	1,0	29,37	19,58	-
5	0,05	1,0	39,16	9,79	-
6	0,05	1,0	48,85	-	0,1
7	0,05	1,0	48,65	-	0,3
8	0,05	1,0	48,45	-	0,5
9	0,05	1,0	48,25	-	0,7

* состав компонентов приводится на 50 г

В процессе смешивания лекарственных и вспомогательных веществ обнаружили, что порошков составов № 2 – № 5, содержащие ксилит и ксилит в смеси с сорбитом приобретали более интенсивную синюю окраску, со временем теряли свойство сыпучести, масса становилась рыхлой и увлажненной. Это дает возможность предположить, что в данных модельных смесях увеличивается гигроскопичностью порошков, что в дальнейшем может отрицательно сказаться на качестве и стабильности при хранении полученных таблеток. Смесь порошков состава № 1 также не была лишена недостатков. Сорбит, содержащийся в качестве наполнителя, придавал смеси порошков приторно-сладкий вкус, и было принято решение о введении в состав смеси лимонной кислоты (составы № 6–9). Органолептически установили, что оптимальным является содержание лимонной кислоты в смеси порошков 0,5 г. Таким образом, дальнейшие исследования были продолжены с порошком состава № 8 (табл. 1).

С целью получения гранулята для производства таблеток следующим этапом работы был выбор связующих веществ. В качестве гранулирующих жидкостей использовали сахарный сироп,

10% раствор желатина и 5% раствор метилцеллюлозы [8, 10].

Параллельно с выбором связующих веществ исследовали способ введения метиленового синего в состав гранулята, так как он содержится в достаточно малом количестве и обладает красящими свойствами. Рациональный способ введения лекарственного вещества позволит получить однородный по составу и внешнему виду гранулят, а в дальнейшем и таблетки. Действующее вещество вводили двумя способами: в виде мельчайшего порошка и в виде 1% водного раствора.

Гранулят получали способом протирания влажных масс через пробивное сито. При введении метиленового синего в сухом виде, первоначально готовили смесь порошков. Для чего тщательно смешивали метиленовый синий с сорбитом, добавляли анестезин и лимонную кислоту, перемешивали до получения однородной. К смеси порошков добавляли гранулирующую жидкость, и тщательно перемешивая, получали влажную массу, которую протирали через сито с диаметром отверстий ($3 \pm 0,07$) мм. Влажный гранулят сушили в сушильном шкафу при температуре (60 ± 2)°C. Сухой гранулят повторно протирали через сито с диаметром отверстий ($2 \pm 0,07$) мм.

Второй способ введения метиленового синего заключался в следующем. Готовили смесь порошков, состоящую из анестезина, лимонной кислоты и сорбита. Водный раствор метиленового синего предварительно смешивали с гранулирующей жидкостью, и полученной смесью увлажняли порошки до по-

лучения однородной массы. Затем так же, как по первому способу получали гранулят.

Полученные грануляты на первом этапе оценивали по внешнему виду и содержанию лекарственных веществ. Результаты испытаний представлены в табл. 2.

Таблица 2

Таблеточные грануляты с метиленовым синим и анестезином

Table 2

Tablet granulates with methylene blue and anesthetic

№ п/п	Гранулирующая жидкость	Внешний вид гранулята при введении метиленового синего в виде:		Количественное содержание в грануляте (II способ):	
		порошка (I способ)	1% водного раствора (II способ)	метиленового синего, (мкг/мл)	анестезина (мг/мл)
1.	Сахарный сироп	Неоднородный с голубыми вкраплениями	Однородный голубой	5,35±0,6	9,67±0,7
2.	10% раствор желатина	Неоднородный с голубыми вкраплениями	Однородный голубой	5,17±0,8	9,55±0,7
3.	5% раствор метилцеллюлозы	Неоднородный с зелеными вкраплениями	Однородный бледно-зеленый	2,40±0,9	9,49±0,8

Проведенные исследования показали, что оптимальным следует считать способ введения метиленового синего в состав таблеточной массы в виде раствора. При изготовлении гранулят № 3, где в качестве гранулирующей жидкости использовали 5% раствор метилцеллюлозы, изменил свой цвет. Вместо голубого он стал бледно-зеленого цвета. Кроме

того, в данном грануляте вдвое снизилось содержание метиленового синего. В гранулятах № 1 и 2 не наблюдалось видимых изменений, и содержание лекарственных веществ в них осталось неизменным. Однако для проведения дальнейших исследований был выбран гранулят № 2, чтобы снять проблему при-

менения разрабатываемых таблеток больными сахарным диабетом.

Последним этапом в разработке состава таблеточной массы был выбор антифрикционных веществ, которые улучшают свойства текучести (сыпучести) таблетлируемого материала, предотвращают прилипание полученных табле-

ток к рабочим поверхностям пуансонов и матрицы.

В качестве скользящих и смазывающих веществ в состав гранулятов вводили крахмал и магния стеарат. Изучали сыпучесть гранулята при введении крахмала (табл. 3).

Таблица 3

Изучение сыпучести гранулята

Table 3

Study of flowability of granules

Состав гранулята	Введение крахмала, г	Сыпучесть гранулята (г/с)
Метиленового синего 0,05 г	-	4,99±0,87
Анестезина 1,0 г	0,25	9,42±0,99
Сорбита 48,20-46,95 г	0,5	9,55±0,97
Кислоты лимонной 0,5 г	1,5	9,60±0,94
Раствора желатина 10% – достаточное количество		

Данные табл. 3 показывают, что добавление минимального количества крахмала значительно улучшает сыпучесть гранулята. При дальнейшем увеличении количества крахмала показатель улучшается незначительно. Таким образом, для достижения требуемой сыпучести достаточно вводить крахмал в количестве 0,25 г на 50 г гранулята.

При прессовании гранулята обнаружили, что получаемые таблетки прилипают к прессующим поверхностям таб-

леточной машины. Для устранения этого явления добавляли магния стеарат в количестве 0,25, 0,5 и 1% от массы гранулята. Как видно из табл. 4, прилипание таблеток устранили при введении 0,25 г смазывающего вещества.

Разработанный гранулят подвергали оценке качества по следующим показателям: фракционный состав, насыпная плотность, сыпучесть и влагосодержание [4]. Результаты исследований представлены в табл. 5.

Таблица 4

Изучение смазывающих свойств стеариновой кислоты

Table 4

Study of the lubricating properties of stearic acid

Состав гранулята	Введение магния стеарата, г	Способность к прилипанию таблетлируемой массы
Метиленового синего 0,05 г	-	+
Анестезина 1,0 г	0,1	+
Сорбита 48,1-47,7 г	0,25	-
Кислоты лимонной 0,5 г	0,5	-

Состав гранулята	Введение магния стеарата, г	Способность к прилипанию таблетированной массы
Раствора желатина 10% – достаточное количество Крахмала 0,25 г		

(Примечание: «+» – прилипает; «-» – не прилипает).

Таблица 5

Технологические характеристики гранулята с метиленовым синим и анестезином

Table 5

Technological characteristics of the granulate with methylene blue and anesthesin

Показатель	Результаты определения
Фракционный состав (%): фракции размером от 1 до 2 мм	65,6±0,2
– « – от 0,5 до 1 мм	21,4±0,3
– « – менее 0,5 мм	12,9±0,3
Насыпная плотность, кг/м ³	0,587±0,03
Сыпучесть, г/с	8,9±0,4
Влагосодержание, %	3,98±0,14

Результаты определения реологических свойств гранулятов позволяют оценить полученные характеристики как удовлетворительные.

Дальнейшим этапом работы было изготовление таблеток состава: метиленового синего 0,5 мг; анестезина 10 мг; сорбита 470,0 мг; кислоты лимонной 5,0 мг; раствора желатина 10% достаточное количество; крахмала 2,5 мг; магния стеарата 2,5 мг. Таблетки получали методом прессования на однопуансонном таблеточном прессе TDP-1,5T (Китай).

Оценку качества полученных таблеток осуществляли, согласно требованиям

общей фармакопейной статьи (ОФС.1.4.1.0015.15) Государственной фармакопеи XIII изд., по следующим показателям: описание, количественное определение метиленового синего и анестезина, однородность массы дозированных лекарственных форм, растворение, распадаемость, прочность на раздавливание и истираемость [2, 7]. Результаты определения представлены в табл. 6. Испытания однородности дозирования и «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм», является следующим этапом работы.

Таблица 6

Оценка качества таблеток с метиленовым синим и анестезином

Table 6

Evaluation of the quality of tablets with methylene blue and anesthesin

Показатели качества	Результаты определения
Описание	Таблетки голубого цвета, с гладкой блестящей поверхностью, ровными краями, с фаской и риской. Диаметр таблетки 8±0,5мм, высота 2,8±0,2мм

Показатели качества		Результаты определения
Однородность массы	Средняя масса таблеток, г	0,503
	Отклонение в массе, не более %	2,6
Количественное определение	Метиленового синего, мкг/мл	4,98±0,21
	Анестезина, мг/мл	9,87±0,56
Распадаемость, с		471,6±7,2 326,7±0,3
Прочность на раздавливание, Н		104±3,5
Истираемость, %		99,2± 0,4

Данные табл. 5 показывают, что исследуемые таблетки по всем показателям соответствуют требованиям, предъявляемым к их качеству.

Заключение. Результаты проведенных исследований позволили разработать и предложить состав и лабораторную технологию таблеток для рассасывания, содержащих метиленовый синий и анестезин, обладающих комплексным антисептическим и обезболивающим действием для терапии стоматитов различной этиологии.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Анурова М.Н., Бахрушина Е.О., Демина Н.Б. Проблемы коррекции органолептических свойств лекарственных препаратов // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. №4. С. 64-73.
2. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII изд. – М., 2015.
3. Грибковые, вирусные и травматические стоматиты в клинике терапевтической

стоматологии: Учебное пособие / Под редакцией д.м.н. К.Г. Каракова. Ставрополь.: Фабула. 2013. 100 с.

4. Демина Н.Б., Анурова М.Н., Асфура Т. Разработка рецептуры и технологии таблеток с экстрактом босвеллии // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. №4. С. 12-22.

5. Дроботько Л.Н., Страхова С.Ю. Принципы терапии острых стоматитов у детей // Русский медицинский журнал. 2001. № 3. С.134-135.

6. Елизарова В.М., Дроботько Л.Н., Страхова С.Ю. Острый герпетический стоматит у детей / Пародонтология. 2006. № 4. С. 102-104.

7. Исаева Н.В., Тулайкин А.И., Шешегова Е.В. Таблетки. Нормативные требования Государственной фармакопеи XIII издания// Разработка и регистрация лекарственных средства. 2017. № 3. С. 178-183.

8. Исследования по разработке таблеток для рассасывания с азитромицином / Панкрушева Т.А., Маравина И.Н., Медведева О.А., Чекмарева М.С.// Разработка и регистрация лекарственных средства. 2017. № 2. С. 84-88.

9. Корсунская И.М. Лечение стоматитов и хейлитов у детей // Лечащий врач. 2002. № 9. С. 64-65.

10. Кузнецов А.В. Выбор увлажнителя при изготовлении таблеток с использованием предварительного гранулирования // Фармация. 2002. № 6. С. 27-29.

11. Кузнецов А.В., Кузнецов А.А. Корригенты вкуса в производстве лекарственных препаратов // Фармация. 2011. № 2. С. 53-56.

12. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 15-ое изд., перераб и доп. М.: Новая волна. 2005. 1200 с.

13. Остафийчук М. А. Вирусный этиологический фактор при стоматитах // Молодой ученый. 2015. №6. С. 287-290. URL <https://moluch.ru/archive/86/16192/> (дата обращения: 25.01.2018).

14. Современные вспомогательные вещества в производстве таблеток. Использование высокомолекулярных соединений для совершенствования лекарственных форм и оптимизации технологического процесса / Воскобойников И.В., Авакян С.Б., Сокольская Т.А., Тюляев И.И., Багирова В.Л., Колхир В.К., Сакович Г.С. // Химико-фармацевтический журнал. 2005. № 1. С. 22-28.

15. Фармацевтическая разработка лекарственных препаратов для педиатрической практики: фундаментальные основы и специфические особенности / Наркевич И.А., Немятых О.Д., Басакина И.И., Сиукаева Д.Д. // Разработка и регистрация лекарственных средства. 2016. № 3. С. 194-201.

References

1. Anurova, M.N., Bakhrushina, Ye.O., Demina, N.B. (2015), "Problemy korrektsii organolepticheskikh svoystv lekarstvennykh preparatov" [Problems of correction of organoleptic properties of medicinal preparations], *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 4, 64-73. *Russian*.

2. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIII izd.* [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation III ed.] (2015), M. *Russian*.

3. Gribkovyye, virusnyye i travmaticheskiye stomatity v klinike terapevticheskoy stoma-

tologii [Fungal, viral and traumatic stomatitis in the clinic of therapeutic stomatology] (2013); *Uchebnoye posobiye / Pod redaktsiyey d.m.n. K.G. Karakova. Stavropol': Fabula*, 100 p. *Russian*.

4. Demina, N.B., Anurova, M.N., Asfura, T. (2013), "Razrabotka retseptury i tekhnologii tabletok s ekstraktom bosvellii" [Formulation and technology of tablets with Boswellia extract], *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 4, 12-22. *Russian*.

5. Drobotko, L.N., Strakhova, S.Yu. (2001), "Printsipy terapii ostrykh stomatitov u detey" [Principles of therapy of acute stomatitis in children], *Russkiy meditsinskiy zhurnal*, 3, 134-135. *Russian*.

6. Yelizarova, V.M., Drobot'ko, L.N., Strakhova, S.Yu. (2006), "Ostryy gerpeticheskiy stomatit u detey" [Acute herpetic stomatitis in children], *Parodontologiya*, 4, 102-104. *Russian*.

7. Isayeva, N.V., Tulaykin, A.I., Sheshegova, Ye.V. (2017), "Tabletki. Normativnyye trebovaniya gosudarstvennoy farmakopei XIII izdaniya" [Pills. Normative requirements of the State Pharmacopoeia III edition], *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 3, 178-183. *Russian*.

8. Pankrusheva, T.A., Maravina, I.N., Medvedeva, O.A., Chekmareva, M.S. (2017), "Issledovaniya po razrabotke tabletok dlya rassasyvaniya s azitromitsinom" [Studies on the development of tablets for resorption with azithromycin], *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2, 84-88. *Russian*.

9. Korsunskaya, I.M. (2002), "Lecheniye stomatitov i kheylyitov u detey" [The treatment of stomatitis and cheilitis in children], *Lechashchiy vrach*, 9, 64-65. *Russian*.

10. Kuznetsov, A.V. (2002), "Vybor uvlazhnitelya pri izgotovlenii tabletok s ispol'zovaniyem predvaritel'nogo granulirovaniya" [Selecting a humectant when making tablets using pre-granulation], *Farmatsiya*, 6, 27-29. *Russian*.

11. Kuznetsov, A.V., Kuznetsov, A.A. (2011), "Korrigenty вкуса v proizvodstve lekarstvennykh preparatov" [Flavors in the pro-

duction of pharmaceuticals], *Farmatsiya*, 2, 53-56. *Russian*.

12. Mashkovskiy, M.D. (2005), *Lekarstvennyye sredstva. 15-oye izd., pererab i dop.* [Medicinal products. 15th ed., revised and updated]. M.: Novaya volna, 1200. *Russian*.

13. Ostafiychuk, M. A. (2015), “Virusnyy etiologicheskiy faktor pri stomatitakh” [Viral etiologic factor in stomatitis], *Molodoy uchenyy*, 6, 287-290. URL <https://moluch.ru/archive/86/16192/> (date of access: January 25th 2018). *Russian*.

14. Voskoboynikov, I.V., Avakyan, S.B., Sokol'skaya, T.A., Tyulyayev, I.I., Bagirova, V.L., Kolkhir, V.K., Sakovich, G.S. (2005), “Sovremennyye vspomogatel'nyye veshchestva v proizvodstve tabletok. Ispol'zovaniye vysokomolekulyarnykh soyedineniy dlya sovershenstvovaniya lekarstvennykh form i optimizatsii tekhnologicheskogo protsessa” [Modern auxiliary substances in the production of tablets. The use of high-molecular compounds to improve dosage forms and optimize the technological process], *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 1, 22-28. *Russian*.

15. Narkevich, I.A., Nemyatykh, O.D., Basakina, I.I., Siukayeva, D.D. (2016), “Farmatsevticheskaya razrabotka lekarstvennykh

preparatov dlya pediatricheskoy praktiki: fundamental'nyye osnovy i spetsificheskiye osobennosti” [Pharmaceutical development of drugs for pediatric practice: fundamentals and specific features], *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstva*, 3, 194-201. *Russian*.

Панкрушева Татьяна Александровна – заведующий кафедрой фармацевтических наук, доктор фармацевтических наук, профессор.

Маравина Ирина Николаевна – доцент кафедры фармацевтической технологии, кандидат фармацевтических наук.

Чекмарёва Марина Семёновна – доцент кафедры фармацевтической технологии, кандидат фармацевтических наук.

Pankrusheva Tatjana Alexandrovna – Head of Department of Pharmaceutical Technology, Doctor of Pharmacy, Professor.

Maravina Irina Nikolajevna – Associate Professor, Department of Pharmaceutical Technology, PhD in Pharmacy.

Chekmareva Marina Semenovna – Associate Professor, Department of Pharmaceutical Technology, PhD in Pharmacy.

УДК 615.072: 615.074:615.91

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-88-97

Селютин О.А.¹
Новиков О.О.²

**РАЗРАБОТКА ОРИГИНАЛЬНОЙ МЕТОДИКИ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРОУГЛЕРОДА В ИНФУЗИОННЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ**

¹ Государственное учреждение здравоохранения «Воронежский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств», 394051, г. Воронеж, ул. Писателя Маршак, 1

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования национальный исследовательский университет «Белгородский государственный университет» (НИУ «БелГУ»), 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85
E-mail: 1156300@bsu.edu.ru

Аннотация. В данной статье рассматривается необходимость разработки методик определения сероуглерода как недопустимой примеси в инфузионных лекарственных средствах. Актуальность настоящего исследования обусловлена тем, что согласно токсикологической характеристике сероуглерод проявляет канцерогенные, тератогенные и генотоксичные свойства. Таким образом, он является одним из наиболее опасных для макроорганизма токсикантов, выделяемых пробками из резины, произведенной с применением тетраметилтиурамдисульфида. Известно, что до настоящего времени в производстве резины для укупорочных пробок флаконов инфузионных лекарственных препаратов продолжается использование тетраметилтиурамдисульфида, что делает необходимым определение сероуглерода как недопустимой примеси в инфузионных лекарственных средствах на уровне нормативной документации. *Цель исследования.* Доказать, что разработанная методика количественного определения сероуглерода в инфузионных препаратах позволяет получать достоверные результаты. *Материалы и методы.* В качестве объекта исследования выбраны инфузионные лекарственные препараты, укупоренные резиновыми пробками. В качестве стандартного образца для проведения анализа использовался сероуглерод. Количественное определение сероуглерода в полученных образцах проводилось методом хромато-масс-спектрометрии, используя колонку, капиллярную кварцевую, размером 30 м × 0,32 мм с неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксан (Elite-5, ф-мы PerkinElmer, США). Расчёт содержания сероуглерода проводили с помощью внутреннего стандарта, в качестве которого был использован метилэтилсульфид. *Результаты.* Методика заключается в отборе равновесной паровой фазы из указанных модельных образцов, помещённых в стрессовые условия (повышенная температура, УФ облучение и окисление) и дальнейшем хромато-масс-спектрометрическом определении сероуглерода в отобранной пробе. Результаты определения считали достоверными, если выполнялись следующие критерии пригодности хроматографической системы:

число теоретических тарелок, рассчитанное для пика сероуглерода должно быть не менее 40000 теоретических тарелок; коэффициент разделения пиков сероуглерода и внутреннего стандарта должен быть не менее 3,5; относительное стандартное отклонение величин отношения площадей пиков сероуглерода к площадям пиков внутреннего стандарта (RSD) должно быть не более 6,17%; коэффициент корреляции линейной зависимости величин отношения площадей пиков сероуглерода к площадям пиков внутреннего стандарта от концентрации сероуглерода в калибровочном образце было не менее 0,9978. На основании предварительных исследований диапазон количественного определения сероуглерода в инфузионных препаратах установлен в пределах от 0 до 1000 мкг/л. *Заключение.* Таким образом, масс-спектрометрия является чрезвычайно перспективным методом фармацевтического анализа и позволяет получать достоверные результаты в диапазоне от 0,1 мкг до 1 мкг сероуглерода в 10 мл пробы.

Ключевые слова: хромато-масс-спектрометрия; сероуглерод; стандартизация инфузионных растворов; тетраметилтиурамдисульфид.

O.A. Selyutin¹
O.O. Novikov²

DEVELOPMENT OF THE ORIGINAL METHOD OF DETERMINATION OF CARBON DISULFIDE IN INFUSION MEDICINAL DRUGS

¹State Health Care Institution "Voronezh Center for Quality Control and Certification of Medicines", 1 Pisatel Marshak St., Voronezh, 394051, Russia

² Belgorod State National Research University 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
E-mail: 1156300@bsu.edu.ru

Abstract. The article discusses the need to develop methods for determining carbon disulfide – an unacceptable impurity in infusion drugs. The relevance of this study stems from the fact that, according to the toxicology characteristic, carbon disulfide exhibits carcinogenic, teratogenic and genotoxic properties. Thus, it is one of the most dangerous toxicants for the macroorganism released by rubber plugs produced with the use of tetramethylthiuram disulfide. It is known that to date, the use of tetramethylthiuram disulfide continues in the production of rubber for stoppers used in vials of infusion medicines, which makes it necessary to consider carbon disulfide as an unacceptable admixture in infusion drugs at the level of regulatory documentation. *The aim of the research.* To prove that the developed method of quantitative determination of carbon disulfide in infusion preparations allows obtaining reliable results. *Materials and methods.* As an object of the research, infusion medicines, sealed with rubber stoppers, were chosen. As a standard sample for analysis, carbon disulphide was used. Quantitative determination of carbon disulfide in the obtained samples was conducted by gas chromatography-mass spectrometry, using a column quartz capillary size of 30 m × 0,32 mm and stationary phase of 5% diphenyl-

95% -dimetilpolisiloksan (Elite-5, f-we PerkinElmer, USA). Calculation of the content of carbon disulfide was carried out using an internal standard, which was methylethylsulfide. *Results.* The method consists in selecting an equilibrium vapor phase from these model samples placed under stress conditions (elevated temperature, UV irradiation and oxidation) and further chromatography-mass spectrometric determination of carbon disulfide in the sample taken. The results of the determination were considered reliable if the following criteria for the suitability of the chromatographic system were fulfilled: the number of theoretically perfect plate calculated for the carbon disulphide peak was at least 40,000 theoretically perfect plate; the separation coefficient of the carbon disulfide and internal standard peaks was at least 3.5; the relative standard deviation of the values of the ratio of the areas of the carbon disulfide peaks to the areas of the internal standard peaks (RSD) was no more than 6.17%; the correlation coefficient of the linear dependence of the values of the ratio of the areas of the carbon disulfide peaks to the areas of the peaks of the internal standard on the concentration of carbon disulfide in the calibration sample was no less than 0.9978. Based on preliminary studies, the range of quantitative determination of carbon disulfide in infusion preparations is set in the range from 0 to 1000 µg/l. *The conclusion.* Thus, mass spectrometry is an extremely promising method of pharmaceutical analysis and allows obtaining reliable results in the range from 0.1 µg to 1 µg of carbon disulphide in 10 ml of a sample.

Keywords: chromato-mass spectrometry; carbon disulfide; standardization of infusion solutions; tetramethylthiuram disulfide.

Введение. Известно, что в производстве резиновых изделий широко применяется тетраметилтиурамдисульфид (ТМТД) [1, 4, 10]. В настоящее время производство пробок на основе бутылка-учука российскими производителями также осуществляется с использованием ТМТД как ускорителя вулканизации [5]. В свою очередь, доказано, что данное вещество оказывает общетоксическое, раздражающее, аллергическое, тератогенное, мутагенное действие, повышает чувствительность к алкоголю [4, 6, 13]. Широкое применение ТМТД, его токсичность, наличие случаев отравления со смертельным исходом определяют важное судебно-химическое значение данного соединения [4, 13, 16].

Десять лет назад применение ТМТД как ускорителя вулканизации было за-

прещено при производстве автомобильных камер и бескамерных шин из-за миграции высокотоксичных продуктов в окружающую среду, как при производстве данных изделий, так и при их эксплуатации [3]. Полнота доступной информации о токсичности ТМТД и его производных должна была быть признана экспертами Минздрава России более чем достаточным, чтобы не включать его в рецептуры резин для производства медицинских изделий. Особенно укупорочных пробок для инфузионных лекарственных препаратов. Недопустимо выдавать гигиенические сертификаты на производство пробок, содержащих ТМТД в своем составе, в настоящее время уже в соответствии с международным стандартом GMP и ГОСТ Р 52537-2006 «Производство лекарственных средств.

Система обеспечения качества. Общие требования». Тем не менее, до настоящего времени производство резин для укупорочных пробок флаконов инфузионных лекарственных препаратов продолжается.

Обобщенные данные по миграции летучих органических соединений, в т.ч. сероуглерода, из полимерных материалов показывают, что продолжительность их выделения в контактирующие среды может варьироваться от нескольких часов до многих месяцев [3]. Кроме того, в работе признанного специалиста в области исследований упаковочных материалов Ф. Локс отдельно отмечается, что самопроизвольная миграция летучих продуктов очень велика [8].

Одним из наиболее опасных для макроорганизма токсикантов, выделяемых пробками из произведенной с применением ТМТД резины, является сероуглерод. Помимо канцерогенных, тератогенных и генотоксичных свойств данное соединение обладает выраженным тетурамоподобным действием. При инфузионном введении находящемуся в состоянии алкогольного опьянения индивидууму лекарственного препарата с примесью сероуглерода закономерно предполагать возникновение острых катастрофальных состояний у пациента.

Следовательно, разработка инструментария, позволяющего идентифицировать и количественно определить примесь сероуглерода в растворах для инфузий, важная задача фармацевтического анализа. Особо нужно подчеркнуть необходимость определения сероуглерода как недопустимой примеси в инфузионных лекарственных средствах на уровне НД.

Результаты исследований по оценке токсичности экстрагентов, перешедших

в водные вытяжки и инфузионные лекарственные препараты из образцов укупорочных пробок на основе каучука марки БК 1675М, изготовленных с использованием ТМТД, установили значительные изменения в составе периферической крови и показателей кроветворной функции печени и почек – ни одна из изученных резин не была признана удовлетворительной [11]. Также обобщенные данные практических результатов по производству и использованию инфузионных лекарственных препаратов, укупоренных пробками из резины на основе каучуков БК, показывают, что при длительном хранении инъекционных растворов может увеличиваться их мутность, образоваться взвесь и появиться запах, характерный для летучих сульфидов [12].

Анализ открытых литературных и патентных публикаций показал, что основной объем исследований по данной теме касается частных вопросов по исследованию резин в пищевой промышленности и относится к 1960-м гг. [8]. Примеси и вещества, переходящие из пробок в инфузионный лекарственный препарат, достоверно не установлены, следовательно, не исследованы процессы их взаимодействия и данные комбинированного действия этих веществ и примесей на сам препарат. А по некоторым идентифицированным веществам и примесям отсутствуют необходимые данные по токсичности на индивидуальное вещество [14].

В настоящее время общее содержание мигрирующих веществ определяют только по интегральным показателям водной вытяжки. Из органических веществ, мигрирующих из пробок, определяют содержание ТМТД и диметилдитиокарбамата цинка в водных вытяж-

ках методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ), несмотря на тот факт, что уже в 1964 г. было достоверно установлено, что ТМТД полностью претерпевает превращения с образованием первичных и вторичных продуктов реакций [15].

Предложена методика газохроматографического определения летучих серосодержащих веществ, мигрирующие из пробок в водный экстракт, с использованием ГСО и пламенно-ионизационной / пламенно-фотометрической детекции [3]. Однако низкая чувствительность, методическая сложность, само использование ГСО на основе серосодержащих соединений делают её малоприменимой для целей фармацевтического анализа.

Цель исследования: доказать, что разработанная методика количественного определения сероуглерода в инфузионных препаратах позволяет получать достоверные результаты.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования выбраны инфузионные лекарственные препараты, укупоренные резиновыми пробками. В качестве стандартного образца для проведения анализа использовался сероуглерод. Количественное определение сероуглерода в полученных образцах проводилось методом хромато-масс-спектрометрии, используя колонку, капиллярную кварцевую, размером 30 м × 0,32 мм с неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксан (Elite-5, ф-мы PerkinElmer, США). Расчёт содержания сероуглерода проводили с помощью внутреннего стандарта, в качестве которого был использован метилэтилсульфид.

Результаты исследования и их обсуждение.

Приготовление испытуемых образцов. В 4 сосуда для получения равновесной паровой фазы (РПФ) вместимостью 20 мл, помещали по 10,0 мл исследуемого образца препарата. Один из этих сосудов сразу же герметизируют силиконовой мембраной с фторопластовым слоем, а в три сосуда прибавляли по 500 мкл воды и по 100 мкл раствора внутреннего стандарта (метилэтилсульфида) и герметизировали силиконовой мембраной с фторопластовым слоем.

Приготовление калибровочных образцов сероуглерода. В 11 сосудов для получения РПФ вместимостью 20 мл, помещали по 10,0 мл 0,9% раствора натрия хлорида и прибавляли указанные в таблице объёмы воды, раствора сероуглерода и раствора внутреннего стандарта. После прибавления раствора внутреннего стандарта сосуды герметизировали силиконовой мембраной с фторопластовым слоем.

Приготовление исходного раствора внутреннего стандарта. 20 мл изопропилового спирта помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 250 мкл метилэтилсульфида, доводили объём раствора изопропиловым спиртом до метки и перемешивали.

Раствор хранили при температуре ниже – 10°C. Срок годности – 3 месяца.

Приготовление раствора внутреннего стандарта. 20 мл изопропилового спирта помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 100 мкл исходного раствора внутреннего стандарта, доводили объём раствора изопропиловым спиртом до метки и перемешивали.

Раствор использовали свежеприготовленным.

Таблица

Объемы растворов для приготовления калибровочных образцов сероуглерода

Table

The volume of solutions for the preparation of calibration samples of carbon disulphide

№ виалы	Объём 0,9% раствора натрия хлорида (мл)	Объём воды (мкл)	Объём рас- твора серо- углерода (мкл)	Объём рас- твора внут- реннего стандарта (мкл)	Количество сероуглерода в калибровочном образце (мкг)	Концентрация внутреннего стандарта (нг/мл)
1	10,0	500	0	100	0	336,8
2	10,0	450	50	100	0,100	336,8
3	10,0	400	100	100	0,200	336,8
4	10,0	350	150	100	0,300	336,8
5	10,0	300	200	100	0,400	336,8
6	10,0	250	250	100	0,500	336,8
7	10,0	200	300	100	0,600	336,8
8	10,0	150	350	100	0,700	336,8
9	10,0	100	400	100	0,800	336,8
10	10,0	50	450	100	0,900	336,8
11	10,0	0	500	100	1,000	336,8

Приготовление исходного раствора сероуглерода. 20 мл изопропилового спирта помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли около 25 мг (19,8 мкл) (точная навеска) сероуглерода, доводили объём раствора изопропиловым спиртом до метки и перемешивали (1 мг/мл).

Раствор хранили при температуре ниже – 10°C.

Срок годности – 3 месяца.

Приготовление раствора сероуглерода. 40 мл изопропилового спирта помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 100 мкл исходного раствора сероуглерода, доводили объём раствора изопропиловым спиртом до метки и перемешивали (2 мкг/мл).

Измерения. Сосуды с испытуемыми образцами и образцами сероуглерода для калибровки помещали в устройство для

получения, отбора и ввода в хроматограф РПФ и обрабатывали в следующих условиях:

– температура термостата образцов: + 60°C;

– время термостатирования: 20 мин;

– температура шприца-отборника: + 70°C;

– скорость перемешивания образцов: 200 об/мин;

– объём пробы: 0,1 мл.

Условия хроматографирования:

– колонка, капиллярная кварцевая, размером 30 м × 0,32 мм с неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксан (Elite-5, ф-мы PerkinElmer, США или аналогичная), толщина слоя 1,0 мкм;

– температура колонки: + 45°C;

– скорость газа-носителя (гелий): 0,9 мл/мин;

– температура блока ввода проб: + 80°C;

– деление потока: 1:40 (0 – 1 мин, далее 1 : 5);

– температура интерфейса GC-MS: + 250°C;

– диапазон сканирования: от 65 z/m до 85 z/m (0,1 сек).

По результатам хроматографирования образцов для калибровки хромато-

графической системы рассчитывали коэффициенты (а и b) линейной зависимости величин отношения (B_{oi}) площадей пиков сероуглерода (S_{oi}) к площадям пиков внутреннего стандарта ($S_{inst\ oi}$) на хроматограммах РПФ образцов для калибровки хроматографической системы к количеству сероуглерода (M_{oi}). Расчет проводили по формулам:

$$B_{oi} = S_{oi}/S_{inst\ oi} \quad (1)$$

$$b = \frac{11 \sum_{i=1}^{i=11} (M_{oi} \times B_{oi}) - \sum_{i=1}^{i=11} M_{oi} \times \sum_{i=1}^{i=11} B_{oi}}{11 \sum_{i=1}^{i=11} M_{oi}^2 - (\sum_{i=1}^{i=11} M_{oi})^2} \quad (2)$$

и

$$a = \frac{\sum_{i=1}^{i=11} B_{oi} - b \sum_{i=1}^{i=11} M_{oi}}{11}, \quad (3)$$

где B_{oi} – отношения площадей пиков сероуглерода (S_{oi}) к площадям пиков внутреннего стандарта ($S_{inst\ oi}$);

M_{oi} – количество сероуглерода в образце для калибровки хроматографической системы, в микрограммах.

Концентрацию сероуглерода в испытуемых образцах (X), в микрограммах в 1 мл, рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{B_i - a}{b \times 10}, \quad (4)$$

где B_i – среднее значение отношений площадей пиков сероуглерода к площадям пиков внутреннего стандарта, рассчитанное из хроматограмм РПФ испытуемых образцов;

“а” и “b” – коэффициенты линейной зависимости.

Результаты определения считали достоверными, если выполнялись следующие

критерии пригодности хроматографической системы:

– число теоретических тарелок, рассчитанное для пика сероуглерода должно быть не менее 40000 теоретических тарелок;

– коэффициент разделения пиков сероуглерода и внутреннего стандарта должен быть не менее 3,5;

– относительное стандартное отклонение величин отношения площадей пиков сероуглерода к площадям пиков внутреннего стандарта (RSD) должно быть не более 6,17%;

– коэффициент корреляции линейной зависимости величин отношения площадей пиков сероуглерода к площадям пиков внутреннего стандарта от концентрации сероуглерода в калибровочном образце было не менее 0,9978.

Примечания:

1. Приготовление 0,9% раствора натрия хлорида. 9,0 г натрия хлорида помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляли 900 мл воды для инъекций, перемешивали до полного растворения натрия хлорида, доводили объём раствора до метки водой для инъекций и перемешивали.

2. При приготовлении калибровочных образцов сероуглерода, дозирование раствора сероуглерода и раствора внутреннего стандарта проводили поршневыми бюретками с неопределённостью отмеряемого объёма не более 0,25 мкл.

Валидационные исследования методики количественного определения сероуглерода в инфузионных лекарственных средствах проводили в соответствии с требованиями [2, 7, 17].

На основании предварительных исследований диапазон количественного определения сероуглерода в инфузионных препаратах установлен в пределах от 0 до 1000 мкг/л.

Методика заключается в отборе равновесной паровой фазы из указанных модельных образцов, помещённых в стрессовые условия (повышенная температура, УФ облучение и окисление) и дальнейшем хромато-масс-спектрометрическом определении сероуглерода в отобранной пробе.

Расчёт содержания сероуглерода проводили с помощью внутреннего стандарта, в качестве которого был использован метилэтилсульфид.

Для подтверждения доказательства, что разработанная методика позволяет получить достоверные результаты, проведена валидационная оценка разработанной методики.

Для проведения валидации исследовались следующие характеристики:

- специфичность;
- робастность;
- линейность;
- правильность;
- точность;
- внутрилабораторная точность;
- пригодность хроматографической системы.

Заключение. Для идентификации и количественного определения сероуглерода в инфузионных лекарственных препаратах был использован метод хромато-масс-спектрометрии, т.к. масс-спектрометрия является чрезвычайно перспективным методом фармацевтического анализа [9].

В ходе проведенных исследований экспериментально подтверждено, что валидационные характеристики ГЖХ-методики количественного определения сероуглерода в инфузионных препаратах позволяют получать достоверные результаты в диапазоне от 0,1 мкг до 1 мкг в пробе 10 мл.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Бырько В.М. Дитиокарбаматы. М.: Наука, 1984. 185.
2. Юргель Н.В., Младенцева А.Л., Бурдейна А.В. и др. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств. М.: Фармацевтическая промышленность, 2007. 58.
3. Гужова С.В., Симонова Н.Н., Лиакумович А.Г. и др. Санитарно-химические исследования многокомпонентного состава веществ, мигрирующих из резиновых медицинских пробок на основе бутилкаучуков // Вестник Росздравнадзора. №5. 2013. С. 44-49.
4. Крамаренко В.Ф., Туркевич Б.М. Анализ ядохимикатов. М.: Химия, 1978. 264 с.

5. Вышегородская Р.А., Мельникова Г.К., Элькина И.А. Рецептура и свойства резин для изготовления изделий медицинского назначения. Каталог-справочник. М.: ЦНИИТЭнефтехимия, 1985. 560 с.

6. Гадаскина И.Д., Филов В.А. Превращения и определение промышленных органических ядов в организме. М.: Медицина, 1971. 254-255.

7. Государственная фармакопея Российской Федерации 13-е изд. / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию, Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития [и др.]. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2015. Ч. 1. 1470 с.

8. Локс Ф. Упаковка и экология: учеб. пособие / пер. с англ. О.В. Наумовой; под ред. В.Н. Наумова. М.: Изд-во МГУП, 1999. 220 с.

9. Писарев Д.И., Новиков О.О., Васильев Г.В., Селютин О.А. Опыт использования метода MALDI/TOF/MS в фармацевтическом анализе // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2012. Т. 18. № 10-2 (129). С. 76-85.

10. Грушко Я.М. Вредные органические соединения в промышленных выбросах в атмосферу. М: Химия, 1986. 207 с.

11. Шумская Н.И., Проворов М.Н., Емельянова Л.В. Гигиеническая оценка резиновых изделий и исходного сырья для их изготовления. М.: ЦНИИТЭнефтехимия, 1981. 67 с.

12. Тенцова А.И., Алюшина М.Т. Полимеры в фармации. М.: Медицина, 1985. 256 с.

13. Жаворонков Н.И. Патогенез, диагностика, лечение и профилактика отравлений животных карбаматными пестицидами: Автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Москва, Россия, 1981. 35 с.

14. Курляндский Б.А., Филов В.А. Общая токсикология. М.: Медицина, 2002. – 608 с.

15. Блох Г.А. Органические ускорители вулканизации каучуков. 2-е изд. перераб. М.: Химия, 1972. 559.

16. Зайнутдинов Х.С., Вергейчик Т.Х., Икрамов Л.Т. Определение тетраметилтиурамдисульфида и трихлорфенолята меди в трупном материале методом производной спектрофотометрии // Суд.-мед. эксперт. 1990. 33. 4. С. 27-30.

17. CPMP/ICH/381/95 (ICH Topic Q 2 (R1)). Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. June 1995. 15 p.

References

1. Byrko, V.M. (1984), *Ditiokarbamaty* [Dithiocarbamates]. M: Nauka. 185. Russian.

2. Yurgel, N.V., Mladentseva, A.L., Burdeina, A.V. et al. (2007), *Rukovodstvo po validatsii metodik analiza lekarstvennykh sredstv* [Guidance on the validation of drug analysis techniques]. M: Pharmaceuticheskaya promyshlennost. 58. Russian.

3. Guzhova, S.V., Simonova, N.N., Liakumovich, A.G. et al. (2013), "Sanitarno-khimicheskie issledovaniya mnogokomponentnogo sostava veshchestv migriruyushchikh iz rezinovykh meditsinskikh probok na osnove butilkauchukov" [Sanitary and chemical studies of the multicomponent composition of substances migrating from rubber medical plugs based on butyl rubbers]. *Bulletin of Roszdravnadzor*. 5, 44-49. Russian.

4. Kramarenko, V.F., Turkevich, B.M. (1978), *Analiz yadokhimikatov* [Analysis of pesticides]. M: Khimiya. 264. Russian.

5. Vyshegorodskaya, R.A., Melnikova, G.K., Elkina I.A. (1985), *Retseptura i svoistva rezin dlya izgotovleniya izdelii meditsinskogo naznacheniya Katalog-spravochnik* [Recipe and properties of rubber for the manufacture of medical products. Directory-directory]. M: TSNIITЭnefteximii. 560. Russian.

6. Gadaskina, I.D., Filov, V.A. (1971), *Prevrashcheniya i opredelenie promyshlennykh organicheskikh yadov v organizme* [Transformations and determination of industrial organic

poisons in the body]. M: Meditsina. 254-255. *Russian*.

7. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. / The Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, The Federal Agency for Health and Social Development, The Federal Service for Surveillance in the Health Care and Social development [and others]. M.: Scientific Center for Expertise of Medical Applications, 2015. Part 1. 1470. *Russian*.

8. Loks, F. (1999), *Upakovka i ekologiya: uchebnoe posobie* [Packaging and Ecology: a Textbook] / translation from English by Naumova O.B.; Ed. Naumov V.N. M.: MGUP. 220. *Russian*.

9. Pisarev, D.I., Novikov, O.O., Vasilev, G.V., Seliutin, O.A. (2012), "Opyt ispolzovaniya metoda MALDI TOF MS v farmatsevticheskom analize" [Experience in the use of the MALDI / TOF / MS method in pharmaceutical analysis]. *Scientific bulletin of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy*. Vol. 18. № 10-2 (129). 76-85. *Russian*.

10. Grushko, Ya.M. (1986), *Vrednye organicheskie soedineniya v promyshlennykh vybrosakh v atmosferu* [Harmful organic compounds in industrial emissions into the atmosphere]. M.: Khimiya. 207. *Russian*.

11. Shumskaya, N.I., Provorov, M.N., Emelyanova, L.V. (1981), *Gigienicheskaya otsenka rezinovykh izdeliy i iskhodnogo syrya dlya ikh izgotovleniya* [Hygienic evaluation of rubber products and raw materials for their production]. M.: TSNIITEneftekhimiya. 67. *Russian*.

12. Tentsova, A.I., Alyushina, M.T. (1985), *Polimery v farmatsii* [Polymers in pharmacy]. M.: Meditsina. 256. *Russian*.

13. Zhavoronkov, N.I. Pathogenesis, diagnosis, treatment and prevention of animal poisoning with carbamate pesticides (1981). Abstract of doctoral thesis in veterinary sciences. Moscow. Russia. 35. *Russian*.

14. Kurlyandskiy, B.A., Filov, V.A. (2002), *Obshchaya toksikologiya* [General Toxicology]. M.: Meditsina. 608. *Russian*.

15. Blokh, G.A. (1972), *Organicheskie uskoriteli vulkanizatsii kauchukov* [Organic accelerators of vulcanization of rubbers]. 2nd ed. M.: Khimiya. 559. *Russian*.

16. Zaynutdinov, Kh.S., Vergeychik, T.Kh., Ikramov, L.T. (1990), "Opredelenie tetrametiltiuramdisulfida i trikhlorfenolyata medi v trupnom materiale metodom proizvodnoy spektrofotometrii" [Determination of tetramethylthiuram disulfide and copper trichlorophenolate in cadaver by the method of derivative spectrophotometry]. // *Forensic expert*. 33. 4. 27-30. *Russian*.

17. CPMP/ICH/381/95 (ICH Topic Q 2 (R1)) (1995), Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. 15.

Селютин Олег Анатольевич, директор ГУЗ "Воронежский ЦКК и СЛС".

Новиков Олег Олегович, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, профессор.

Selyutin Oleg Anatolevich, Director of Voronezh Center for Quality Control and Certification of Medicines.

Novikov Oleg Olegovich, Head of Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Doctor of Pharmacy, Professor.