

Nº 2.2020

M DADWUKOTHIUMUKU DADWUKOTHIUMUKU

No2 2020



Главный редактор Жердев Владимир Павлович

д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, Москва

Зам. главного редактора Смирнов Валерий Валерьевич к.ф.н., Москва

Ответственный секретарь Литвин Александр Алексеевич д.б.н., Москва

Редакционная коллегия

Бондарева Ирина Борисовна д.б.н., Москва

Воронина Татьяна Александровна заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор, Москва

Громова Ольга Алексеевна д.м.н., профессор, Москва

Дурнев Андрей Дмитриевич член-корр. РАН, д.м.н., профессор, Москва

Ковалёв Георгий Иванович д.м.н., профессор, Москва

Колик Лариса Геннадьевна д. б. н., профессор РАН, Москва

Колыванов Геннадий Борисович, д.б.н., Москва

Мирзоян Рубен Симонович

заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор, Москва

Раменская Галина Владиславовна д.ф.н., профессор, Москва

Сариев Абрек . Куангалиевич

д.м.н., профессор, Москва

Спасов Александр Алексеевич академик РАН, д.м.н. профессор, Волгоград

Стародубцев Алексей Константинович д.м.н., профессор, Москва

Сычёв Дмитрий Александрович

член-корр. РАН, д.м.н., профессор, Москва

Тюренков Иван Николаевич член-корр. РАН. д.м.н..

профессор, Волгоград д.б.н., профессор РАН, Москва Шевченко Роман

Владимирович, к.м.н., Москва

Выпускающая группа

Белоусов Дмитрий Юрьевич

Ответственный за выпуск журнала +7(910)449-22-73 e-mail: clinvest@mail.ru

Афанасьева Елена Владимировна

Генеральный директор ООО «Издательство ОКИ» подписка +7(916)986-04-65 e-mail: eva88@list.ru caŭm: www.izdat-oki.ru

Жук Елена Владимировна Дизайн и верстка e-mail: elenazuk70@mail.ru

Подписано в печать 30.11.2020 г. Тираж 400 экз. **Типография:** ООО «Буки Веди», www.bukivedi.com 115093, г. Москва, Партийный переулок, д. 1, корп. 58, стр. 3, пом. 11

Адрес редакции: 125315, Москва, ул. Балтийская, 8 ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАН Тел./Факс: +7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Сайт журнала: www.PharmacoKinetica.ru Журнал «Фармакокинетика и Фармакодинамика» является приложением к журналу «Качественная клиническая практика». Журнал «Качественная клиническая практика» зарегистрирован Комитетом РФ по печати 28.05.2001 г. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № 77-9142. Авторские материалы не обязательно отражают точку зрения редакции. Редакция не несет ответственности за достоверность информации, содержащейся в рекламных материалах.

www. Antibiotics-Chemotherapy.ru www. Clin Vest.ru www.Hospital-Apteka.ru www.PharmacoGenetics-PharmacoGenomics.ru Фармакогенетика и Фармакогеномика

Антибиотики и Химиотерапия Качественная клиническая практика Дайджест «Больничная аптека»

www.HealthEconomics.ru www.Market-Access-Solutions.ru www.izdat-Oki

Центр Фармакоэкономических Исследований Market Access Solutions Издательство ОКИ

OT	ГЛΑ	RHO	ro PF.	ДАКТОРА

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ **ФАРМАКОДИНАМИКИ**

Нейропротекторные свойства in vitro новых глипролинов, замешенных по С-концу Николаев С.В., Логвинов И.О., Колясникова К.Н.,

Подтверждение валидности разработанной трансляционной модели хронической сердечной недостаточности у крыс Цорин И.Б., Барчуков В.В., Ионова Е.О., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А. 11

Антипова Т.А., Кузнецова Е.А., Антипов П.И...... 4

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ

Фармакокинетика инъекционной лекарственной формы ГК-2 у кроликов Шевченко Р.В., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Бочков П.О., Грибакина О.Г., Новицкий А.А., Жердев В.П. 17

Экспериментальное изучение системной биодоступности препарата «Гармина гидрохлорид, капсулы» в сравнении с нативным гармином на кроликах породы Шиншилла Адекенов С.М., Шнаукшта В.С., Епифанцева Е.В.,

Анализ рассеянных данных в фармакокинетических исследованиях Мирошниченко И.И., Симонов А.Н.,

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксичности таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 (N-бензил-N-метил-1-фениопирроло[1,2-а]пиразин-3-карбоксамида) Коваленко Л.П., Коржова К.В., Журиков Р.В., Дурнев А.Д. 34

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Роль уровня BDNF в формировании когнитивных нарушений у лиц среднего возраста

О взаимосвязях между уровнями нейротрофического фактора мозга в крови, микроэлементов в волосах в молодом возрасте

Пепеляев Е.Г., Семенов В.А., Торшин И.Ю., Громова О.А........... 42



PHARMACODYNAMICS PHARMACODYNAMICS

Mo2 2020



Chief editor **Zherdev Vladimir**

Ph.D., Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Moscow

Deputy chief editor Smirnov Valery Ph.D., Moscow

Executive secretary **Litvin Alexander** Ph.D., Moscow

Editorial Board

Bondareva Irina

Ph.D., Moscow

Voronina Tatiana

Honored Scientist RF, Ph.D., Professor, Moscow

Gromova Olga

Ph.D., Professor, Ivanovo

Durney Andrey

Corresponding Member RAS, Ph.D., Professor, Moscow

Kovalev Georgy

Ph.D., Professor, Moscow

Colic Larisa

Ph.D., Professor, Moscow

Kolyvanov Gennady

Ph.D., Moscow

Mirzoyan Ruben

Honored Scientist RF, Ph.D., Professor, Moscow

Ramenskaya Galina

Ph.D., Professor, Moscow

Sariev Abrek

Ph.D., Professor, Moscow

Spasov Alexander

RAS, Ph.D., Professor, Moscow

Starodubtcev Alex

Ph.D., Professor, Moscow

Sychev Dmitry

Corresponding Member RAS, Ph.D., Professor, Moscow

Tvurenkov Ivan

Corresponding Member PAS, Ph.D., Professor, Volgograd

Shevchenko Roman

Ph.D., Moscow

Graduate group

Belousov Dmitry

Responsible for this issue +7(910)449-22-73 e-mail: clinvest@mail.ru

Afanasyeva Elena

CEO in LLC «Publishing OKI» subscription +7(916)986-04-65 e-mail: eva88@list.ru

site: www.izdat-oki.ru

Zhuk Elena

Design and layout e-mail: elenazuk70@mail.ru

Signed in print 30.11.2020 r. **Circulation** 400 copies. **Typography:** LLC Buki Vedi, www.bukivedi.com 115093, Moscow, Partiynyj pereulok, 1/58, bld. 3, office 11

Editorial address: 125315, Moscow, ul. Baltiiskay, 8 FSBI «ZAKUSOV INSTITUTE OF PHARMACOLOGY» Tel./Fax: +7(495)601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Website: www.PharmacoKinetica.ru Journal «Pharmacokinetics and Pharmacodynamics» is website: www.rnarmacoKinetica.ru Journal «Pharmacokinetics and Pharmacodynamics» is a supplement to the journal «Good Clinical Practice». Journal «Good Clinical Practice» registered by Russian Committee for Press 28.05.2001 Certificate of registration of mass media PI Ne77-9142. Copyring material does not necessarily reflect the views of the publisher. We take no responsibility for the accuracy of the information contained in promotional materials.

www.Antibiotics-Chemotherapy.ru www.ClinVest.ru

www. Health Economics.ru

www.izdat-Oki.ru

Antibiotics and Chemotherapy Good Clinical Practice www.Hospital-Apteka.ru Digest «Hospital pharmacy» www.PharmacoGenetics-PharmacoGenomics.ru Pharmacogenetics and Pharmacogenomics

WEB-portals

Center of Pharmacoeconomics Research Market Access Solutions www. Market-Access-Solutions.ru Publisher OKI

FROM THE EDITOR

71 1/0	_
/ nornov vr	- ≺

PRECLINICAL PHARMACODYNAMICS STUDIES The neuroprotective properties of analogues of substituted

The fledroprotective properties of analogues of substituted	
glyproline GZK-111 at the C-terminus in vitro	
Nikolaev SV, Logvinov IO, Koliasnikova KN, Kuznetsova EA,	
Antipov PI, Antipova TA	4

Confirmation of validity of the developed translational model of chronic heart failure in rats

Tsorin IB, Barchukov VV, Ionova EO, Stolayruk VN, Vititnova MB, Kryzhanovskii SA

EXPERIMENTAL PHARMACOKINETICS

The pharmacokinetics of the injectable dosage form of GK-2 in rabbits

Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, Bochkov PO, Gribakina OG, Novitskiy AA, Zherdev VP 17

An experimental study of the systemic bioavailability of the drug "Harmin hydrochloride, capsules" in comparison to native garmin in Chinchilla rabbits

Adekenov SM, Schnaukshta VS, Epifantseva EV, Abaimov DA, Abdrakhmanova MG, Sariev AK...... 22

Analysis of sparse data in pharmacokinetic studies Miroshnichenko II, Simonov AN, Kuzmin II, Platova AI...... 28

TOXICOLOGICAL STUDIES

Evaluation of allergenic properties and immunotoxicity tablet dosage form GML-1 (N-benzyl-N-methyl-1-phenylpyrrolo[1,2-a] pyrazin-3-carboxamide)

Kovalenko LP, Korzhova KV, Zhurikov RV, Durnev AD 34

CLINICAL STUDIES

BDNF level role in formation of cognitive violations at middle-aged persons

About interrelations between levels of a neurotrophic factor of a brain in blood, microelements in hair at young age Pepelyaev EG, Semenov VA, Torshin IYu, Gromova OA...... 42



Уважаемые, читатели!

Перед вами номер журнала «Фармакокинетика и фармакодинамика», в котором нашли отражение некоторые фармакокинетические, фармакодинамические и токси-кологические аспекты изучения оригинальных лекарственных соединений, а также оптимизация лекарственных форм уже известных соединений.

В журнале представлены экспериментальные данные по изучению эффективности новых глипролинов, группы потенциальных лекарственных соединений с нейропротекторными свойствами. Представлены данные, показывающие преимущества в фармакокинетике препарата «Гармина гидрохлорид» по сравненению с нативным соединением. Описана фармакокинетика у кроликов соединения ГК-2, который являтся низкомолекулярным миметиком фактора роста нервов. Исследования аллергизирующих свойств и иммунотоксичности таблетированной лекарственной формы соединения ГМЛ-1, обладающего выраженной анксиолитической активностью, не выявили таковых эффектов в изученном диапазоне доз. В статье Цорина И.Б. и соавт. приведено подтверждение валидности разработанной авторами оригинальной трансляционной модели хронической сердечной недостаточности. Описанный в номере метод ресемплинга, применённый авторами к набору рассеянных данных, полученных на примере изучения фармакокинетики фармацевтических композиций, содержащих ресвератрол, позволил рассчитать значения фармакокинетических параметров и провести их статистическую обработку. В заключении приведены работы, где объяснена целесообразность определения уровня нейротрофического фактора мозга (BDNF) на додементных стадиях цереброваскулярных расстройств у лиц среднего возраста, а также показана взаимосвязь между его уровнем и микроэлементами в волосах у молодых добровольцев.

Главный редактор журнала д. м. н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, Москва

Жердев Владимир Павлович

Нейропротекторные свойства *in vitro* новых глипролинов, замещённых по N-концу

Николаев С. В., Логвинов И. О., Колясникова К. Н., Кузнецова Е. А., Антипов П. И., Антипова Т. А.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Аннотация. В работе была исследована нейропротекторная активность аналогов замещённого глипролина ГЗК-111 по N-концу *in vitro*. Окислительный стресс, вызванный H_2O_2 (1,5 мМ) приводил к достоверному снижению жизнеспособности гиппокампальных клеток линии HT-22. Этиловый эфир N-фенилпропионил-глицил-L-пролина (ГЗК-45) защищал клетки от гибели при внесении как за 24 часа до, так и сразу после повреждения в концентрации 10^{-5} — 10^{-6} М. Соединения с ацетильным (ГЗК-49) и капроноильным (ГЗК-46) остатками по N-концу не обладали защитным действием ни в одной из схем эксперимента. ГЗК-45 также был эффективен на модели индуцированного 6-гидроксидофамином повреждения клеток нейробластомы человека линии SH-SY5Y.

Ключевые слова: цикло-L-пролилглицин; окислительный стресс; 6-гидроксидофамин; HT-22; SH-SY5Y; ГЗК-45; ГЗК-46; ГЗК-49

Для цитирования:

Николаев С.В., Логвинов И.О., Колясникова К.Н., Кузнецова Е.А., Антипов П.И., Антипова Т.А. Нейропротекторные свойства *in vitro* новых глипролинов, замещённых по N-концу // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 2. – С. 4–10. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-4-10

The in vitro neuroprotective activity of analogues of N-terminus substituted glyprolines

Nikolaev SV, Logvinov IO, Koliasnikova KN, Kuznetsova EA, Antipov PI, Antipova TA FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Abstract. In this work investigated the neuroprotective activity of analogues of substituted glyproline GZK-111 at the N-terminus *in vitro*. Oxidative stress caused by H_2O_2 (1.5 mM) led to significant decrease in the hippocampal cells HT-22 viability. The ethyl ester N-phenypropionyl-glycyl-proline (GZK-45) was effective at the concentrations up to 10^{-6} M in both experimental schemes. The compounds with N-acethyl (GZK-49) and N-capronoyl (GZK-46) fragments did not protective effect in both experimental schemes. GZK-45 also had protective effect in the 6-hydroxydopamine induced damage of SH-SY5Y neuroblastoma cells.

Keywords: cyclo-L-prolylglycine; oxydative stress; 6-hydroxydopamine; HT-22; SH-SY5Y; GZK-45; GZK-46; GZK-49

For citations:

Nº 2. 2020 **■**

Nikolaev SV, Logvinov IO, Koliasnikova KN, Kuznetsova EA, Antipov PI, Antipova TA. The *in vitro* neuroprotective activity of analogues of N-terminus substituted glyprolines. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(2):4–10. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-4-10

Введение

В 1996 г. в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова был открыт эндогенный пептид циклопролилглицин (ЦПГ) [1], у которого были выявлены ноотропные [2], анксиолитические [3], антигипоксические [4] и нейропротекторные свойства [5]. Было показано, что ЦПГ по структуре и фармакологической активности подобен пирацетаму [2—5]. Недавно было обнаружено, что ЦПГ аналогично пирацетаму оказывает положительное модулирующее действие на глутаматные AMPA-рецепторы [6] и усиливает синтез нейротрофина BDNF [7].

Нами был сконструирован линейный замещённый глипролин ГЗК-111, этиловый эфир N-фенилацетил-глицил-L-пролина, химическая структура которого предполагает возможность превращения его в ЦПГ в биологических средах. Действительно, ГЗК-111 *in vitro* в плазме крови крысы превращается в ЦПГ и проявляет весь спектр фармакологической активности, характерный для последнего [8, 9]. Ранее нами с целью изучения связи структуры и активности был синтезирован ряд аналогов ГЗК-111 с замещением по С-концу (амид, метиламид,

кислота) и показано, что нейропсихотропное действие проявляет только амид (соединение ГЗК-113), что, вероятно, связано с предполагаемой способностью этого соединения, как и ГЗК-111 (эфир), метаболизироваться с образованием ЦПГ [9]

Для дальнейшего выявления зависимости «структура—действие» в ряду аналогов ГЗК-111 в настоящей работе синтезирован ряд N-замещённых глипролинов и изучена их нейропротекторная активность *in vitro* на модели окислительного стресса и 6-гидроксидофамининдуцированного повреждения нейронов.

Материалы и методы

Экспериментальная химическая часть

В работе использовали коммерческие аминокислоты и их производные (Sigma, Reanal). Используемые растворители очищали и сушили стандартными методами. Температуру плавления определяли в открытых капиллярах на приборе Optimelt MPA100 (Stanford Research Systems, США) и не корректировали. ПМР-спектры регистрирова-

ли в растворах диметилсульфоксида- d_6 (ДМСО- d_6) или CDCl₃ в шкале δ , м.д. (J, Γ ц) на спектрометре Fourier 300 (Bruker, Германия) с рабочей частотой 300 МГц. В качестве внутреннего стандарта использовали тетраметилсилан. Удельное оптическое вращение измеряли на поляриметре ADP 440 Polarimeter (Bellingham + Stanley Ltd., Англия). TCX проводили на пластинках Kieselgel 60 G/F254 (Merck, Германия) в системах диоксан — вода 9:1 (А), хлороформ — метанол 9:1 (Б) и бензол — уксусная кислота — вода 3:1:1 (B). Coединения с амидными группами обнаруживали в парах йода, соединения с открытой карбоксильной группой — бромкрезоловым зелёным, содержащие ароматические группы — в УФ-лучах. Элементный анализ проводили на приборе для определения углерода и водорода с четырьмя электрическими печами (600-900 °C, тип МА-Г/6Р, завод ЛЭТО, Россия) в токе кислорода и на аппарате для определения азота с тремя такими же электрическими печами в токе углекислого газа. Данные элементного анализа соединений относительно процентного содержания С, Н и N отклоняются от теоретических не более чем на 0.4%.

Этиловый эфир *N*-фенилпропионил-глицил-*L*-пролина (C_6H_5 -(CH_2)₂-C(O)-Gly-*L*-Pro-O C_2H_5 , ГЗК-45). Получали аналогично [8]. Т.пл. 111–112 °C; [α]²³ D –83° (c 1, этанол); R_f 0,8 (B).

Этиловый эфир N-капроил-глицил-L-пролина $(CH_3-(CH_2)_4-C(O)-Gly-L-Pro-OC_2H_5, \Gamma 3K-46)$. K охлаждённому до -10 °C раствору 3,5 г (20 ммоль) N-капроилглицина в 20 мл ДМФА при интенсивном перемешивании одновременно прибавляли 2,63 мл (20 ммоль) изобутилхлорформиата и 2,56 мл (20 ммоль) *N*-этилморфолина. После 2–3 мин перемешивания прикапывали раствор 3,95 г (22 ммоль) гидрохлорида этилового эфира пролина и 2,8 мл (22 ммоль) *N*-этилморфолина в 20 мл ДМФА. Реакционную смесь перемешивали ещё 30 мин при -10 °C и 1 ч при комнатной температуре. Осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме, остаток растворяли в CHCl₃. Раствор последовательно промывали 3 % NaHCO₃, водой, 1М раствором НСІ и вновь водой, высушивали безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученное масло перекристаллизовывали из этилацетата и гексана и получали 4,1 г (68 %) этилового эфира N-капроилглицил-L-пролина в виде кристаллического продукта. Т.пл. 53–54 °C; $[\alpha]^{23}D$ –96,68° (*c* 1, метанол); R_f 0,75 (хлороформ:метанол (9:1)). ПМР-спектр (ДМСО- d_6) δ , м.д.: 0,85 (т, J 6,7 Гц, 3H, $\underline{CH}_3(CH_2)_4$), 1,17–1,24 (м, 7H, <u>CH</u>₃CH₂O, CH₃–<u>CH</u>₂–<u>CH</u>₂CH₂–CH₂), 1,48 (M, 2H, $CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2$), 1,6–1,97 (M, 3H, C^βH1 Pro, $C^{\gamma}H2 \text{ Pro}$), 2,0–2,29 (M, 3H, $C^{\beta}H1 \text{ Pro}$, $CH_3-(CH_2)_3 \underline{CH}_2$), 3,51 (M, 2H, C⁸H2 Pro), 3,72–4,2 (M, 4H, C^{\alpha}H₂ Gly, CH_3CH_2O), 4,25 (д.д., 1H, $C^{\alpha}H$ Pro, мажорный конформер), 4,68 (д.д., 1H, $C^{\alpha}H$ Pro, минорный конформер), 7,92 (уш.с., 1H, NH Gly). Элементный анализ: вычислено, %: С 60,37; Н 8,78; N 9,39; найдено, %: C 60,89; H 8,62 C₁₅H₂₆N₂O₄.

Этиловый эфир N-ацетил-глицил-L-пролина (CH₃— C(O)—Gly—L—Pro—OC₂H₅, Γ 3K-49).

К охлаждённому до -10 °C раствору 2,35 г (20 ммоль) *N*-ацетилглицина в 30 мл ДМФА при интенсивном перемешивании одновременно прибавляли 2,6 мл (20 ммоль) изобутилхлорформиата и 2,6 мл (20 ммоль) N-этилморфолина. После 2-3мин перемешивания прикапывали раствор 4 г (22 ммоль) гидрохлорида этилового эфира пролина и 2,8 мл (22 ммоль) N-этилморфолина в 20 мл ДМФА. Реакционную смесь перемешивали еще 30 мин при $-10~^{\circ}$ С и 1 ч при комнатной температуре. Осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме, остаток растворяли в CHCl₃. Раствор последовательно промывали 3 % NaHCO₃, водой, 1M раствором HCl и вновь водой, высушивали безводным сульфатом натрия и упаривали. Получали 1,9 г (81 %) этилового эфира N-ацетил-глицил-L-пролина в виде кристаллического продукта. Т.пл. 48-50 °C; $R_f0,82$ (хлороформ: метанол (9:1)). ПМР-спектр (СDCl₂) δ, м.д.: 1,27 (м, 3H, $\underline{CH_3CH_2O}$), 2,02–2,21 ((M, 7H, $C^{\beta}H_2$ Pro, $C^{\gamma}H_2$ Pro, CH₃ (Ac)), 3,49–3,59 (M, 2H, C^{δ} H2 Pro), 4,02–4,2 (м, 4H, C^{δ} H2 Gly, CH_3CH_2O), 4,47 (д.д., 1H, C^{α} H Pro, мажорный конформер), 4,51 (д.д., 1H, $C^{\alpha}H$ Pro, минорный конформер), 6,56 (уш.с., 1H, NH Gly) [10].

Эксперименты in vitro

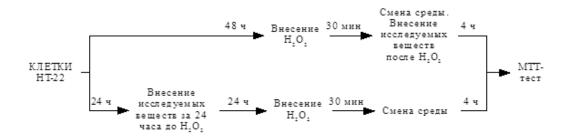
Исследование проводили с использованием клеток линии HT-22 (иммортализованные клетки гиппокампа мыши) и линии SH-SY5Y (клетки нейробластомы человека). Для эксперимента клетки рассеивали на 96-луночные культуральные планшеты, обработанные поли-D-лизином (Corning, США; 5 мкг/см²) с плотностью 20 тыс./см² и инкубировали в среде DMEM (HyClone, Финляндия), содержащей 2 мМ L-глутамина (МР Bioscience, Китай) и 5 % (для клеток линии HT-22) или 10 % (для клеток линии SH-SY5Y) эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, США) при температуре 37 °C в атмосфере, содержащей 5 % CO₂ до образования монослоя.

Окислительный стресс моделировали путём внесения перекиси водорода в конечной концентрации 1,5 мМ) [11]. Спустя 30 мин среду заменяли на обычную. Через 4 ч выполняли измерение жизнеспособности клеток.

Для индукции гибели клеток 6-гидроксидофамином его вносили в культуральную среду в конечной концентрации 100 мкМ [12]. Спустя 24 ч среду заменяли на обычную. Измерение жизнеспособности клеток выполняли спустя сутки (рис. 1A).

Жизнеспособность клеток измеряли с использованием МТТ-теста с добавлением 0,5 % раствора бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолия (МТТ). Для растворения образующихся кристаллов формазана использовали ДМСО. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Multiscan EX при длине волны 600 нм [13] (рис. 1Б).

A



Б

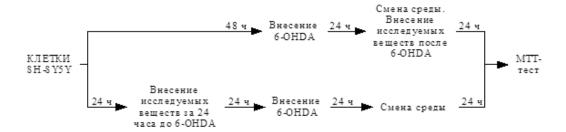


Рис. 1. Схемы экспериментов по установлению нейропротекторного действия замещённых глипролинов на моделях окислительного стресса, индуцированного перекисью водорода (A) и 6-гидроксидофамином (Б)

Исследуемые соединения (ГЗК-45, ГЗК-46 и ГЗК-49) растворяли в деионизированной воде и вносили за 24 ч до перекиси водорода или 6-ОНDA либо сразу после смены среды в конечных концентрациях 10^{-5} — 10^{-8} М.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Краскела—Уоллиса с последующим тестом по Данну (ANOVA). Данные считались достоверными при $p \le 0.05$ и представлены в виде m \pm s.d.

Результаты и обсуждение

Для изучения влияния природы N-ацильного заместителя ГЗК-111 на его биологическую активность нами были сконструированы и синтезированы его аналоги: этиловый эфир N-фенилпропионил-глицил-L-пролина (ГЗК-45), гомолог с удлинённым фенилалканоильным радикалом; этиловый эфир N-капроил-глицил-L-пролина (ГЗК-46), аналог с алифатическим ацильным фрагментом, в котором сохранено число сигма-связей, и эфир N-ацетил-глицил-L-пролина (ГЗК-49) с удалением из фенилацильного фрагмента фенила. Структурные аналоги ГЗК-111 представлены на рис. 2.

Этиловые эфиры *N*-ацилглицилпролинов (ГЗК-45, ГЗК-46, ГЗК-49) получали (рис. 3) методом смешанных ангидридов с использованием изобутилхлорформиата в условиях Андерсона [14]. В качестве карбоксильной

Nº 2. 2020 ■

Рис. 2. ГЗК-111 и его аналоги

$$R \longrightarrow C \longrightarrow Gly \longrightarrow OH \qquad \xrightarrow{1.i-BuOCOCl} \qquad 2. \text{ H-L-Pro-OEt} \\ R = C_6H_5(CH_2)_2 - \qquad \Gamma 3K-45 \\ R = CH_3(CH_2)_4 - \qquad \Gamma 3K-46 \\ R = CH_3 - \qquad \Gamma 3K-49$$

Рис. 3. Схема синтеза замещённых глипролинов

компоненты для получения ГЗК-45 и ГЗК-46 использовали *N*-фенилалканоилглицин, синтезированный из глицина и хлорангидрида соответствующей фенилалкановой кислоты по Шоттен—Бауману [15], для получения ГЗК-49 — коммерческий ацетилглицин (Reanal). В качестве аминокомпоненты использовали этиловый эфир пролина, полученный этерификацией

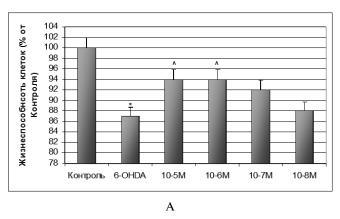
пролина абсолютным этанолом в присутствии хлористого тионила по методу Бреннера [16].

При внесении в культуру клеток HT-22 перекись водорода в концентрации 1,5 мМ вызывает быструю гибель клеток из-за активации свободнорадикальных процессов [17]. Окислительный стресс, вызванный H_2O_2 , приводил к достоверно-

 $\it Tаблица~1$ Нейропротекторная активность замещённых глипролинов в модели окислительного стресса на культуре нейронов HT-22

		Внесение за 24	ч до H ₂ O ₂ (n = 16)	Внесение после H_2O_2 ($n = 16$)		
Группа, n = 16	Концентрация, М	Данные МТТ- теста, % от контроля Нейропротекторная активность A, %		Данные МТТ-теста, % от контроля	Нейропротекторная активность A (%)	
Контроль	0	100 ± 7	100	100 ± 6	100	
H_2O_2	1,5.10-6	65 ± 4	0	67 ± 2	0	
	10-5	76 ± 4*	31*	74 ± 4*	21*	
F2W 45	10-6	78 ± 5*	37*	78 ± 3*	33*	
ГЗК-45	10-7	69 ± 5	11	75 ± 4*	24*	
	10-8	66 ± 4	3	73 ± 3*	18*	
Контроль	0	100 ± 6	100	100 ± 3	100	
H_2O_2	1,5·10 ⁻⁶	66 ± 3	0	70 ± 7	0	
	10-5	70 ± 4	12	72 ± 3	7	
FOL 46	10-6	66 ± 3	0	73 ± 3	10	
ГЗК-46	10-7	63 ± 1	-9	73 ± 6	10	
	10-8	65 ± 3	-3	66 ± 2	-13	
Контроль	0	100 ± 10	100	100 ± 4	100	
H_2O_2	1,5·10-6	54 ± 4	0	70 ± 3	0	
	10 ⁻⁵ M	60 ± 2	-8	72 ± 2	10	
F2W 40	10 ⁻⁶ M	63 ± 3	0	73 ± 4	13	
ГЗК-49	10 ⁻⁷ M	60 ± 3	-8	73 ± 2	-7	
	10 ⁻⁸ M	62 ± 3	-3	66 ± 1	-13	

Примечания: * − p ≤ 0,05 − от H_2O_2 (критерий Краскела−Уоллиса с последующим тестом по Данну. Нейропротекторную активность пептидов вычисляли по формуле: $A_{\max} = \frac{D_{\text{B-BO}} - D_{\text{H}_2O_2}}{D_{\nu} - D_{\text{H}_2O_2}} 100 \%$, где: D — оптическая плотность раствора.



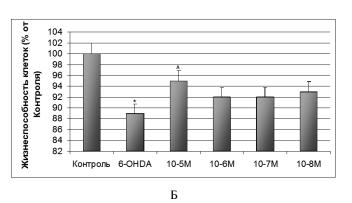


Рис. 4. Нейропротекторное действие Γ 3 K-45 на модели повреждения клеток нейробластомы линии SH-SY5Y, индуцированного 6-гидроксидофамином. Внесение за 24 ч до 6-6-OHDA (A) и сразу после смены среды (Б). Данные МТТ-теста.

Примечания: * — p ≤ 0,05 — от Контроля; ^ — p ≤ 0,05 от H_2O_2 (критерий Краскела—Уоллиса с последующим тестом по Данну.

Рис. 5. Гипотетическая схема образования ЦПГ в результате метаболизма замещённых глипролинов

му снижению жизнеспособности гиппокампальных клеток линии HT-22. ГЗК-45 защищал клетки от повреждения $\rm H_2O_2$ в концентрациях $\rm 10^{-5}{-}10^{-8}$ М как при внесении за 24 ч до перекиси водорода, так и при внесении соединения после неё. ГЗК-46 и ГЗК-49 не оказывали защитного действия в обеих схемах внесения (табл. 1).

Далее изучалась способность ГЗК-45 защищать клетки нейробластомы человека SH-SY5Y на клеточной модели болезни Паркинсона с использованием 6-гидроксидофамина в концентрации 100мМ [12]. 6-гидроксидофамин достоверно снижал жизнеспособность клеток, ГЗК-45 оказывал достоверное защитное действие как при внесении за 24 ч до 6-гидроксидофамина в концентрации 10^{-5} — 10^{-6} М, так и после повреждения в концентрации 10^{-5} М (рис. 4).

Ранее было показано, что ГЗК-111 может метаболизироваться до ЦПГ. Можно предположить, что ГЗК-45 имеет такую же возможность, так как его фенилпропаноильный заместитель гомологичен фенилацетильному, в то время как соединения с алканоильными радикалами ГЗК-46 и ГЗК-49, повидимому, не способны метаболизироваться до ЦПГ (рис. 5). Таким образом, активность проявляют только соединения, потенциально способные метаболизироваться до ЦПГ.

Выводы

- 1. Сравнительная оценка показала, что из трёх исследуемых соединений только одно Γ 3K-45 обладает нейропротекторным действием, у Γ 3K-46 и Γ 3K-49 оно отсутствует.
- 2. Активность проявляют только соединения, потенциально способные метаболизироваться до ЦПГ.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Конфликт интересов. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Николаев Сергей Владимирович Автор, ответственный за переписку

e-mail: cergej.nikolajev@gmail.com ORCID ID: 0000-0003-4584-746X

SPIN-код: 7723-6008

н. с. лаборатории фармакологии нейропротекции ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Nikolaev Sergey V. Corresponding author

e-mail: cergej.nikolajev@gmail.com ORCID ID: 0000-0003-4584-746X

SPIN code: 7723-6008

Research Scientist, Neuroprotection pharmacology laboratory FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology Institute of Pharmacol

macology», Russia, Moscow

Логвинов Илья Олегович

ORCID ID: 0000-0001-6101-1035

SPIN-код: 9909-9630

н. с. лаборатории фармакологии

нейропротекции ФГБНУ «НИИ фармакологии

имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Колясникова Ксения Николаевна

ORCID ID: 0000-0001-6797-692X

SPIN-код: 5682-2035

н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»,

Россия, Москва

Кузнецова Елена Александровна

ОRCID ID: 0000-0001-9228-0596 к. х. н., с. н. с. лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Антипов Пётр Иванович

ORCID ID: 0000-0002-6093-8805

SPIN-код: 2591-3379

к. х. н., с. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Антипова Татьяна Алексеевна

ORCID ID: 0000-0002-9309-4872

SPIN-код: 7723-6008

к. б. н., заведующая лабораторией фармакологии нейропротекции ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Logvinov Ilya O.

ORCID ID: 0000-0001-6101-1035

SPIN code: 9909-9630

Research Scientist, Neuroprotection pharmacology laboratory FSBI «Zakusov Institute of Phar-

macology», Russia, Moscow

Koliasnikova Ksenia N.

ORCID ID: 0000-0001-6797-692X

SPIN code: 5682-2035

Research Scientist, Laboratory of peptide bioregulators, Department of medicinal chemistry, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Russia,

Moscow

Kuznetsova Elena A.

ORCID ID: 0000-0001-9228-0596

PhD, Senior Research Scientist, Laboratory of fine organic synthesis, Department of medicinal chemistry, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacol-

ogy», Russia, Moscow

Antipov Petr I.

ORCID ID: 0000-0002-6093-8805

SPIN code: 2591-3379

PhD, Senior Research Scientist, Laboratory of peptide bioregulators, Department of medicinal chemistry, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacol-

ogy», Russia, Moscow

Antipova Tatyana A.

ORCID ID: 0000-0002-9309-4872

SPIN-код: 7723-6008

PhD, Head Neuroprotection pharmacology laboratory, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology»,

Russia, Moscow

Литература / References

1. Gudasheva TA, Boyko SS, Akparov VKh et al. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Letters*. 1996;391:149–152. DOI: 10.1016/0014-5793(96)00722-3

2. Гудашева Т.А., Островская Р. У., Трофимов С.С. и др. Новый эндогенный дипептид циклопролилглицин подобен пирацетаму по селективности мнемотропного эффекта // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1999. — Т. 128 — № 10. — С. 411—413. [Gudasheva TA, Ostrovskaya RU, Trofimov SS et al. New endogenous dipeptide cycloprolyl-glycine is similar to Piracetam by its mnemotropic selectivity. Bulletin Of Experimental Biology And Medicine. 1999;128(4):1012—1014. (In Russ).]

- 3. Гудашева Т.А., Константинопольский М.А., Островская Р.У., Середенин С.Б., Анксиолитическая активность эндогенного ноотропа цикло-пролилглицина в тесте приподнятого крестообразного лабиринта // Вюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2001. Т. 131. \mathbb{N} 5. С. 547—550. [Gudasheva TA, Konstantinopol'skii MA, Ostrovskaya RU, Seredenin SB. Anxiolytic activity of endogenous nootropic dipeptide cycloprolylglycine in elevated plus-maze test. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2001;131(5);464—466. (In Russ).] DOI: 10.1023/A:1017928116025
- 4. Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Назарова Г.А. и др. Сходство цикло-пролилглицина с пирацетамом по антигипоксическому и нейропротекторному эффектам // Экспериментальная и клиническая фармакология. -2012.-T.75.-№ 9.-C.3-6. [Kolyasnikova KN, Gudasheva TA, Nazarova GA et al. Similarity of Cycloprolylglycine to

Piracetam in Antihypoxic and Neuroprotective Effects. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology.* 2012;75(9);3–6. (In Russ).]

- 5. Поварнина П.Ю., Колясникова К.Н., Николаев С.В. и др. Нейропептид циклопролилглицин проявляет нейропротективную активность при системном введении на модели неполной глобальной ишемии у крыс и в условиях глутаматной нейротоксичности *in vitro* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 160. № 11. С. 600—603. [Povarnina PY, Kolyasnikova KN, Gudasheva TA et al. Neuropeptide cycloprolyglycine exhibits neuroprotective activity after systemic administration to rats with modeled incomplete global ischemia and in *in vitro* modeled glutamate neurotoxicity. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2016;160(5):653—655. (In Russ).] DOI: 10.1007/s10517-016-3241-5
- 6. Гудашева Т.А., Григорьев В.В., Колясникова К.Н. и др. Нейропептид циклопролилглицин является эндогенным положительным модулятором АМРА-рецепторов // Доклады Академии наук. 2016. Т. 471. № 1. С.106—108. [Gudasheva TA, Koliasnikova KN, Seredenin SB, et al. Neuropeptide cycloprolylglycine is an endogenous positive modulator of AMPA receptors. *Doklady akademii nauk*. 2016;471(1):106—108. (In Russ).] DOI: 10.7868/s0869565216310273
- 7. Гудашева Т.А., Колясникова К.Н., и др. Нейропептид циклопролилглицин увеличивает содержание мозгового нейротрофического фактора в нейрональных клетках // Доклады Академии наук. 2016 Т. 469 № 4 С.492—495. [Gudasheva TA, Koliasnikova KN, et al. Neuropeptide cycloprolylglycine is an endogenous positive modulator of AMPA receptors. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2016;471(1):387—389. (In Russ).] DOI: 10.1134/s160767291606003x
- 8. Антипова Т.А., Колясникова К.Н., Волкова Ю.С., и др. Нейропротекторные свойства *in vitro* новых замещённых глипролинов // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2018 № 3. С. 31—36. [Antipova TA, Kolyasnikova KN, Volkova YS, et al. Neuroprotective properties of novel substituted glyprolines *in vitro. Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;(3):31—36. (In Russ).] DOI:10.24411/2587-7836-2018-10021

- 9. Гудашева Т.А., Колясникова К.Н., Кузнецова Е.А. и др. Этиловый эфир N-фенилацетил-глицил-L-пролина метаболизируется до цикло-L-пролипглицина, проявляя сходный спектр нейропсихотропной активности // Xumuko-фармацевтический журнал. 2016. Т. 50. № 11. С. 3—8. [Gudasheva TA, Kolyasnikova KN, Kuznetsova EA, et al. N-Phenylacetylglycyl-L-Proline Ethyl Ester converts into Cyclo-L-Prolylglycine showing a similar spectrum of neuropsychotropic activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2017; 50(11);705—710. (In Russ).] DOI: 10.1007/s11094-017-1516-4
- 10. Gardner RR, Gellman SH. Secondary Effects in Flexible Hydrogen Bonding Networks. *Pergamon*. 1997;29:9881-9990. DOI:10.1021/ja00146a038
- 11. Jackson GR, Werrbach-Perez K, Ezell EL, et al. Nerve growth factor effects on pyridine nucleotides after oxidant injury of rat pheochromocytoma cells. *Brain Research.* 1992;592(1-2):239–248. DOI:10.1016/0006-8993(92)91681-4
- 12. Riveles K, Luping ZH, Quik M. Cigarete smoke, nicotine and cotinine protect against 6-hydroxydopamine-induced toxicity in SH-SY5Y cells, *Neurotoxicology*. 2008;29(3):421–427. DOI: 10.1016/j.neuro.2008.02.001 13. Twentyman PR, Luscombe M. A study of some variables in a
- 13. Twentyman PR, Luscombe M. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. *British journal of cancer.* 1987;56:279–285. DOI:10.1038/bjc.1987.190
- 14. Anderson GW, Zimmerman JE, Callahan FM. Reinvestigation of the mixed carbonic anhydride method of peptide synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* 1967;89:5012–5017. DOI: 10.1021/ja00995a032
- 15. Baumann E. Ueber eine einfache Methode der Darstellung von Benzoësäureäthern. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1886;19:3218–3222. DOI:10.1002/CBER.188601902348
- 16. Brenner M, Huber W. Herstellung von α-Aminosäureestern durch Alkoholyse der Methylester. *Helv. Chim. Acta.* 1953;36:1109-1115. DOI:10.1002/hlca.19530360522
- 17. Wyrsch P, Blenn C, Bader J, et al. Cell death and autophagy under oxidative stress: roles of poly(ADP-ribose) polymerases and Ca²⁺. *Molecular and Cell Biology*. 2012;17:3541–3553. DOI:10.1128/MCB.00437-12

Статья поступила в июне 2020 г.

Подтверждение валидности разработанной трансляционной модели хронической сердечной недостаточности у крыс

Цорин И. Б., Барчуков В. В., Ионова Е. О., Столярук В. Н., Вититнова М. Б., Крыжановский С. А.

ГФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Аннотация. В опытах на разработанной нами трансляционной модели хронической постинфарктной сердечной недостаточности методом эхокардиографии показано, что у животных через 90 сут после воспроизведения инфаркта миокарда, по сравнению с ложнооперированными, значимо увеличиваются конечно-систолический и конечно-диастолический размеры левого желудочка сердца (соответственно, с 2,49 \pm 0,09 мм на 2-е сут после операции до 3,91 \pm 0,17 мм, p = 0,0002, и с 3,56 \pm 0,12 до 5,20 \pm 0,19 мм, p = 0,0002) и снижается его инотропная функция (p = 0,0046), что свидетельствует о наличии у них моделируемой патологии. Через 5 сут после проведения эхокардиографического исследования в тесте «тредбан – бег до отказа» оценивали толерантность животных к физической нагрузке. Показано, что у крыс через 90 сут после перевязки коронарной артерии переносимость физической нагрузки резко снижается – величина пройдённой ими дистанции составляет 109,21 \pm 11,61 м, что в 2,5 раза меньше расстояния, пройденного ложнооперированными животными (p = 0,003) и в 5,3 раза меньше дистанции, преодоленной интактными крысами (p = 0,0001), – что патогномонично для хронической сердечной недостаточности и дополняет данные ранее проведённых морфо-гистологических, биохимических и молекулярных исследований, свидетельствующих о том, что настоящая модель воспроизводит основные клинико-диагностические признаки моделируемой патологии.

Ключевые слова: трансляционная модель; хроническая постинфарктная сердечная недостаточность; передний трансмуральный инфаркт миокарда; эхокардиография; толерантность к физической нагрузке; валидность

Для цитирования:

Цорин И. Б., Барчуков В. В., Ионова Е. О., Столярук В. Н., Вититнова М. Б., Крыжановский С. А. Подтверждение валидности разработанной трансляционной модели хронической сердечной недостаточности у крыс // Φ армакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 2. – С. 11–16. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-11-16

Confirmation of validity of the developed translational model of chronic heart failure in rats

Tsorin IB, Barchukov VV, Ionova EO, Stolayruk VN, Vititnova MB, Kryzhanovskii S FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Russia, Moscow

Abstract. The exprimants based on our translational model of chronic post-infarction heart failure within the use of echocardiography showed that in animals after 90 days after the reproduction of the myocardial infarction compared to the sham operated animals there is a significant increase in the end-systolic and end-diastolic sizes of the left ventricle (respectively, from 2.49 ± 0.09 to 3.91 ± 0.17 mm, p = 0.0002, and from 3.56 ± 0.12 to 5.20 ± 0.19 mm, p = 0.0002) and the decrease of its inotropic function that indicates a simulated pathology. 5 days after the echocardiographic study, the animals' exercise tolerance was assessed in the treadmill-run to failure test. It is proved in rats that 90 days after the coronary artery litigation the tolerance of physical activity decreases sharply – the value of the distance covered by them is 109.21 ± 11.61 m, which is 2.5 times less than the distance covered by sham operated animals (p = 0.003) and 5.3 times less than the distance covered by intact rats (p = 0.0001), – which is pathognomonic for chronic heart failure and complements the data of previously conducted morpho-histological, biochemical and molecular studies, indicating that the present model reproduces the main clinical and diagnostic signs of the simulated pathology.

Keywords: translational model; chronic postinfarction heart failure; anterior transmural myocardial infarction; echocardiography; exercise tolerance; validity

For citations

No 2. 2020 ■

Tsorin IB, Barchukov VV, Ionova EO, Stolayruk VN, Vititnova MB, Kryzhanovskii SA. Confirmation of validity of the developed translational model of chronic heart failure in rats. Farmakokinetika i farmakodinamika. 2020;(2):11–16. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-11-16

Введение

Несмотря на успехи в лечении заболеваний сердечнососудистой системы, число больных и летальность от хронической сердечной недостаточности (ХСН) постоянно увеличиваются, что во многом связано с увеличением продолжительности жизни населения, в частности обусловленной снижением больничной летальности от острого инфаркта миокарда [1]. Несмотря на достигнутые в настоящее время весьма существенные успехи кардиофармакологии, в клинике эффективные лекарственные средства для лечения ХСН отсутствуют, о чем свидетельствуют результаты крупных эпидемиологических исследований, согласно которым в течение 4 лет после постановки диагноза XCH, а в тяжёлых случаях в течение года, умирает примерно половина больных [2]. В настоящее время единственным эффективным способом лечения декомпенсированной XCH является пересадка сердца [3]. Естественно, что поиск новых оригинальных кардиопротективных лекарственных средств для лечения XCH является актуальной задачей, однако её решение невозможно без использования адекватных экспериментальных моделей этого патологического состояния. Ранее нами была разработана трансляционная модель постинфарктной XCH у крыс, достаточно полно воспроизводящая основные клинико-диагностические признаки этого заболевания [4]. Было показано, что

у крыс с передним трансмуральным инфарктом миокарда ХСН, согласно данным эхокардиографии, формируется через 90 сут после одномоментной перевязки передней коронарной артерии. Наличие ХСН было подтверждено результатами морфо-гистологических исследований, свидетельствующих о патогномоничных для ХСН застойных явлениях в органах-мишенях (лёгкие, печень), биохимических исследований — значимое увеличение в плазме крови биохимического маркера ХСН натрийуретического пептида, и молекулярных исследований, согласно которым в миокарде левого желудочка сердца выявлена аномальная экспрессия мРНК генов ряда рецепторов и сигнальных белков (β-AR, AT1A-R, V1A-R, Epac, СаМ и др.), которая влечёт за собой активацию сопряжённых с ними патологических внутриклеточных сигнальных каскадов, ответственных за инициацию гипертрофии и ремоделирования сердца. Вместе с тем, из клиники известно, что одним из основных критериев, определяющих как степень тяжести заболевания, так и эффективность лекарственной терапии является переносимость физической нагрузки [5]. Исходя из этого, для окончательного подтверждения валидности разработанной нами трансляционной модели ХСН было изучено изменение толерантности к физической нагрузке у крыс со сформировавшейся ХСН.

Материалы и методы

Животные

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 160-180 г, полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая». Животные имели ветеринарный сертификат и прошли карантин в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Животных содержали в соответствии с приказом Минздрава России № 199 от 01 апреля 2016 года «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (European Communities Council Directive of November 24,1986 (86/609/EEC)), а также в соответствии с «Правилами работы с животными», утверждёнными биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Эхокардиографические исследования

Наркотизированных животных (кетамин, 100 мг/кг) фиксировали в положении на спине на операционном столике. Измерения проводили в условиях закрытой грудной клетки и спонтанного дыхания в одномерном М- и двухмерном В-модальных режимах при поло-

жении датчика эхокардиографа в парастернальной позиции по длинной оси сердца. В М-модальном режиме оценивали конечно-систолический (КСР) и конечно-диастолический (КДР) размеры левого желудочка сердца, затем по методу Teichholz рассчитывали фракцию выброса (ФВ), фракцию укорочения (ФУ). Оценку показателей проводили, как минимум, по пяти последовательным сердечным циклам. Все измерения выполняли в соответствии с Рекомендациями Американского общества и Европейской ассоциации по эхокардиографии. В работе использовали цифровой ультразвуковой эхокардиограф DP-6600 (Mindray, Китай) с электронным микроконвексным датчиком 65C15EA (6,5/8,0 МГц). Оценку состояния внутрисердечной гемодинамики проводили за сутки до лигирования коронарной артерии и на 2- и 90-е сут после воспроизведения инфаркта миокарда.

Для определения референтных величин показателей геометрии и инотропной функции сердца были проанализированы результаты регистрации эхокардиограмм у 163 интактных крыс-самцов массой 160—250 г.

Оценка толерантности к физической нагрузке

Оценку толерантности животных к физической нагрузке проводили на беговой дорожке LE8700 Tredmill control фирмы Panlab Harvard apparatus (Испания) через 5 сут после последнего эхокардиографического исследования. На пол неподвижной камеры тредбана постоянно подавали электрический ток силой 1,5 мА. Скорость движения беговой дорожки составляла 36 м/мин, воспроизводя, таким образом, высокий уровень физической нагрузки. Критерием оценки толерантности к физической нагрузке являлась дистанция, проходимая животными по тредбану до полного утомления, о котором свидетельствует или переворот животного на спину/бок, или его пребывание на неподвижной части тредбана более 10 с. Пройденную дистанцию (м) рассчитывали с помощью с помощью специальной программы "SEDACOM".

Экспериментальный протокол

Животные были рандомизированы на 3 группы: 1-я — интактные (n = 12), 2-я — ложнооперированные (n = 9) и 3-я (n = 12) — крысы с ХСН. Трансляционную модель ХСН у крыс воспроизводили как описано ранее [4]. Лигирование коронарной артерии осуществляли по методу, предложенному Selye AI [6]. Критерием включения в эксперимент животных 3-й группы было эхокардиографически подтверждённое наличие переднего трансмурального инфаркта миокарда через 2 сут и развитие ХСН через 90 сут после лигирования коронарной артерии.

Статистический анализ

Нормальность распределения выборок проверяли с помощью критерия Шапиро—Уилка, гомогенность дисперсий с помощью критерия Левена. Так как вы-

борки имели распределение, близкое к нормальному, а дисперсии были приблизительно равны, то для определения значимости различий использовали: для эхокардиографических данных — дисперсионный анализ повторных измерений (факторы: время и инфаркт миокарда), для результатов тестирования толерантности к физической нагрузке — однофакторный дисперсионный анализ. В обоих случаях дальнейшую обработку проводили с помощью критерия множественных сравнений по Ньюмену—Кейлсу. Полученные результаты выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Критический уровень значимости $\alpha = 0.05$. Статистическую обработку проводили с помощью программы «Биостат-2009» (серийный № 1-BsiGf-QeLFS).

Результаты и обсуждение

Эхокардиографические исследования

Интактные и ложнооперированные животные. У ложнооперированных животных (n=9) на 2-е сут после подведения лигатуры под коронарную артерию не было выявлено существенных изменений ни в геометрии, ни в сократимости левого желудочка сердца по сравнению с исходным уровнем перед операцией. Так, например, величина КСР, соответственно, равнялась $1,67\pm0,10$ мм и $1,59\pm0,09$ мм, а величина ФВ была равна $88,6\pm1,8$ % и $88,4\pm2,0$ % (табл. 1, рис. 1A). В дальнейшем в течение всего периода на-

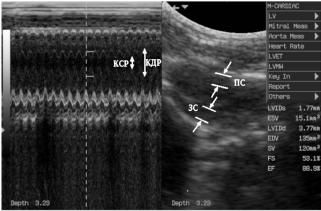
Таблица 1 Изменения кардиогемодинамики, возникающие в условиях сердечной недостаточности, вызванной экспериментальным инфарктом миокарда у крыс ($\mathbf{M} \pm m$)

Условия	Поморожени	Время после операции, сут				
условия	Показатель	2-е	90-е			
Ложноопе- рирован-	КСР, мм	$1,67 \pm 0,10$	$ \begin{array}{c} 1,88 \pm 0,19 \\ p = 0,619^+ \end{array} $			
ные, n = 9	КДР, мм	$3,55 \pm 0,13$	$3,83 \pm 0,22$ $p = 0,646^+$			
	ФУ, %	$52,9 \pm 1,5$	50.9 ± 1.2 $p = 0.395^{+}$			
	ФВ, %	$88,6 \pm 1,8$	$ \begin{array}{c} 87.1 \pm 1.6 \\ p = 0.726^{+} \end{array} $			
XCH, n = 12	КСР, мм	$2,49 \pm 0,09 p = 0,0009^*$	3.91 ± 0.17 $p = 0.0001^*$ $p = 0.0002^+$			
	КДР, мм	$\begin{array}{c} 3,56 \pm 0,12 \\ p = 0,871^* \end{array}$	$5,20 \pm 0,19$ $p = 0,0001^*$ $p = 0,0002^+$			
	ФУ, %	$ \begin{array}{c} 30,0 \pm 1,3 \\ p = 0,0001^* \end{array} $	25.1 ± 0.9 $p = 0.0001^*$ $p = 0.0097^+$			
	ФВ, %	$63.9 \pm 1.6 p = 0.0001^*$	55.9 ± 1.4 $p = 0.0046^*$ $p = 0.0008^+$			

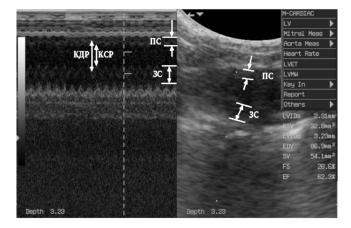
Примечание: достоверность по сравнению * – с ложнооперированными животными; $^+$ – со 2-ми сут.

Nº 2. 2020 ■

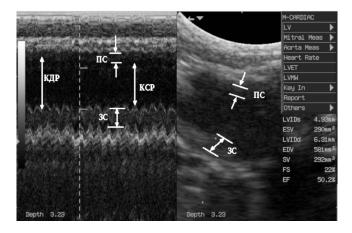




Б



В



13

Таблица 2 Референтные величины эхокардиографических показателей геометрии и деятельности сердца интактных наркотизированных (кетамин 100 мг/кг в/б) крыс массой 160-250 г (n=160)

Показатель	Минимум	Максимум	Медиана	Среднее арифметическое	Стандартное отклонение
КСР, мм	1,16	2,23	1,75	1,72	0,18
КДР, мм	2,93	4,93	3,62	3,65	0,35
ФУ, %	44,3	68,0	51,9	52,6	4,6
ФВ, %	81,5	94,0	88,0	88,3	3,2

блюдения величины КСР, КДР, ФУ и ФВ существенно не изменялись и к концу эксперимента (через 3 мес.) составляли $1,88\pm0,19$ мм, $3,83\pm0,22$ мм, $50,9\pm1,2\%$ и $87,1\pm1,6\%$, соответственно. Во всех случаях p>0,05. Величины этих показателей полностью соответствовали диапазону референтных величин для интактных крыс (табл. 2).

Животные с ХСН. У животных этой группы (в эту группу включены только животные с документально подтверждённым передним трансмуральным инфарктом миокарда, n = 12) на 2-е сут после воспроизведения инфаркта миокарда зарегистрированы существенные изменения в геометрии и состоянии систолической функции левого желудочка сердца (табл. 1, рис. 1Б). Так, например, отмечено статистически значимое по сравнению с ложнооперированными животными увеличение КСР (соответственно $2,49 \pm 0,09$ и $1,67 \pm 0,10$ мм, p = 0,0009) и уменьшение величины ΦB (соответственно 63,9 \pm 1,6 и 88,6 \pm 1,8 %, p = 0.0001), тогда как величина КДР у животных этой группы и ложнооперированных крыс практически не различалась (соответственно $3,56 \pm 0,12$ и $3,55 \pm 0,13$ мм, p = 0.871). Эти данные дают основание полагать, что у животных уже со 2-х сут начинает формироваться систолическая сердечная недостаточность.

Через 3 мес. после воспроизведения инфаркта миокарда отмечается статистически значимое по сравнению со 2-ми сут снижение ФВ левого желудочка сердца (соответственно 55,9 \pm 1,4 и 63,9 \pm 1,6 %, p = 0,0008) (табл. 1, рис. 1В). Снижение насосной функции сердца (на 13 % по сравнению со 2-ми сут после операции и на \approx 36% по сравнению с ложнооперированными животными) сопровождается дальнейшим динамическим увеличением КСР и КДР (соответственно, с 2,49 \pm 0,09 до 3,91 \pm 0,17 мм, p = 0,0002, и с 3,56 \pm 0,12 до 5,20 \pm 0,19 мм, p = 0,0002), что свидетельствует о развитии к этому сроку дилатационной сердечной недостаточности.

Таким образом, результаты динамического эхокардиографического исследования свидетельствуют о том, что у животных этой группы к концу 3-го месяца во всех случаях формируется дилатационная постинфарктная сердечная недостаточность.

Тестирование животных на толерантность к физической нагрузке

Интактные и ложнооперированные животные. Как следует из полученных данных, дистанция, пройденная

интактными крысами (группа 1) до полного утомления, равняется $595,08 \pm 24,50$ м, тогда как таковая, пройденная ложнооперированными животными, приблизительно в 2 раза меньше $-276,47 \pm 38,98$ м (рис. 2). Различие статистически значимо (p = 0,0001). Несмотря на то, что эхокардиографические характеристики миокарда у интактных и ложнооперированых животных идентичны, такая разница представляется логичной, поскольку у ложноперированных животных при проведении оперативного пособия пересекались межреберные мышцы, что, естественно, снижает экскурсию грудной клетки. Также нельзя исключить и наличие в плевре послеоперационных спаек. По всей видимости, в условиях покоя эта послеоперационная травма не играет существенного значения, однако при интенсивной физической нагрузки снижение экскурсии грудной клетки и/или наличие спаек в плевральной полости создают условия для более быстрого, по сравнению с интактными животными,

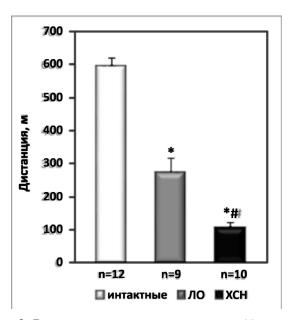


Рис. 2. Величина пройденной дистанции (бег на тредмиле, скорость 36 м/мин) интактными, ложнооперированными и животными со сформировавшейся XCH *Примечания*: По оси ординат – дистанция, пройдённая животным до полного утомления в м. Показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; * $-p \le 0.05$ по отношению к интактным; # $-p \le 0.05$ по отношению к ложнооперированным крысам. ЛО – ложнооперированные крысы; XCH — крысы с хронической сердечной недостаточностью

развития системной гипоксии и, как следствие этого, снижения толерантности к выполняемой нагрузке.

Животные с ХСН. Как следует из полученных данных, у крыс через 90 сут после перевязки коронарной артерии переносимость физической нагрузки резко снижается — величина пройденной ими дистанции составляет $109,21\pm11,61$ м, что в 2,5 раза меньше расстояния, пройдённого ложнооперированными животными (p=0,003) и в 5,3 меньше дистанции, преодолённой интактными крысами (p=0,0001) (см. рис. 2), что, согласно выше приведённым данным эхокардиографических исследований, связано с дилатацией левого желудочка сердца и снижением его инотропной функции, что, как хорошо известно, провоцирует венозный застой в лёгких и системную гипоксию.

Заключение

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что у крыс через 3 мес. после воспроизведения переднего трансмурального ин-

фаркта миокарда толерантность к физической нагрузке значимо снижена по сравнению как с интактными, так и ложнооперированными животными, что позволяет говорить о том, что эти и ранее полученные данные (эхокардиографические, морфо-гистологические, биохимические и молекулярные) свидетельствуют о том, что разработанная нами трансляционная модель ХСН воспроизводит основные клинико-диагностические признаки, патогномоничные для этого заболевания, а сама модель валидна.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Конфликт интересов. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Цорин Иосиф Борисович

ОRCID ID: 0000-0002-3988-7724 SPIN-код: 4015-3025 д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Барчуков Владимир Валерьевич

ORCÍD ID: 0000-0003-4229-3107 SPIN-код: 6743-4280 н. с. лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Ионова Екатерина Олеговна

ОRCID ID: 0000-0003-0154-722X SPIN-код: 5042-1952 м. н. с. лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Столярук Валерий Николаевич

ОRCID ID: 0000-0002-4779-427X к. м. н., с. н. с. лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Tsorin Iosif B.

ORCID ID: 0000-0002-3988-7724 SPIN code: 4015-3025 D. Sci. in Biology, Leading researcher of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov

Institute of Pharmacology», Russia, Moscow

Barchukov Vladimir V.

ORCID ID: 0000-0003-4229-3107 SPIN code: 6743-4280 Research scientist of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Russia, Moscow

Ionova Ekaterina O.

ORCID ID: 0000-0003-0154-722X SPIN code: 5042-1952 Junior Research Scientist of Laboratory of Pharmacological Screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Russia, Moscow

Stolyaruk Valeriy N.

ORĆID ID: 0000-0002-4779-427X PhD in Medicine, Senior Researcher Scientist of Laboratory of Pharmacological Screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Russia, Moscow

Вититнова Марина Борисовна

ORCID ID: 0000-0002-7407-7516

SPIN-код: 1901-8919 к. б. н., с. н. с. лаборатории

фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»,

Россия, Москва

Крыжановский Сергей Александрович Автор, ответственный за переписку

ORCID ID: 0000-0003-2832-4739

SPIN-код: 6596-4865

д. м. н., Заведующий лабораторией фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Vititnova Marina B.

ORCID ID: 0000-0002-7407-7516

SPIN code: 1901-8919

PhD in Biology, Senior researcher scientist of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Russia,

Moscow

Kryzhanovskii Sergey A. Corresponding author

ORCID ID: 0000-0003-2832-4739

SPIN code: 6596-4865

D. Sci. in Medicine, Head of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of

Pharmacology», Russia, Moscow

Литература / References

- 1. Lloyd-Jones DM, Larson MG, Leip EP, et al. Lifetime risk for developing congestive heart failure the Framingham heart study. *Circulation*. 2002;106(24):3068–3072. DOI: 10.1161/01.cir.0000039105.49749.6f
- 2. Ferrero P, Jacovoni A, D'Elia E, et al. Prognostic scores in heart failure Critical appraisal and practical use. *Int J Cardiol.* 2015;188:1—9. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.03.154
- 3. Sánchez-Enrique C, Jorde UP, González-Costello J. Heart transplant and mechanical circulatory support in patients with advanced heart failure. *Rev. Esp. Cardiol.* (Engl Ed). 2017; 70(5):371–381. DOI: 10.1016/j. rec.2016.12.036
- 4. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Ионова Е.О., и др. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности у крыс // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2018. Т. 62. № 2. С. 136—148. [Kryzhanovskii SA, Tsorin IB, Ionova EO, et al. Translational model of chronic cardiac failure in rats. Pathological Physiology and Experimental Therapy. 2018;62(2):136—148. (In Russ).] DOI: 10.25557/0031-2991/2018/02/136-148
- 5. Haykowsky MJ, Brubaker PH, John JM, et al. Determinants of exercise intolerance in elderly heart failure patients with preserved ejection fraction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2011;58(3): 265–274. DOI: 10.1016/j.jacc.2011.02.055
- 6. Selye AI, Bajuaz E, Crasso S, Nendell P. Simple technic for surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology*. 1960;11:398–407.

Статья поступила в июне 2020 г.

Фармакокинетика инъекционной лекарственной формы ГК-2 у кроликов

Шевченко Р. В., Литвин А. А., Колыванов Г. Б., Бочков П. О., Грибакина О. Г., Новицкий А. А., Жердев В. П.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Аннотация. Изучена фармакокинетика миметика фактора роста нервов ГК-2 (димерный дипептидный миметик 4-й петли NGF, производного фторзамещённого 5-[2-(5-фторпирид-3-ил)-этил)]-2,8-диметил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индола) у кроликов после однократного внутривенного введения инъекционной лекарственной формы в дозе 24 мг (7,8–8,7 мг/кг). Концентрации ГК-2 в плазме крови животных определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. ГК-2 можно отнести к «короткоживущим» лекарственным веществам, т. к. период полувыведения из плазмы крови кроликов составил 0,9 ± 0,1 ч.

Ключевые слова: нейропротектор ГК-2; доклиническая фармакокинетика

Для цитирования:

Шевченко Р. В., Литвин А. А., Колыванов Г. Б., Бочков П. О., Грибакина О. Г., Новицкий А. А., Жердев В. П. Фармакокинетика инъекционной лекарственной формы ГК-2 у кроликов // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 2. – С. 17–21. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-17-21X

The pharmacokinetics of the injectable dosage form of GK-2 in rabbits

Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, Bochkov PO, Gribakina OG, Novitskiy AA, Zherdev VP FSBI «Zakusov Research Institute of Pharmacology», Russia, Moscow

Abstract. The pharmacokinetics of the nerve growth factor mimetic GK-2 (dimeric dipeptide mimetic of the 4-th loop NGF, a derivative of fluoro-substituted 5-[2-(5-fluoropyrid-3-yl) -ethyl)]-2,8-dimethyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole) in rabbits after a single intravenous injection of an injectable dosage form at dose 24 mg (7,8-8,7 mg/kg). GK-2 concentrations in the blood plasma were determined by high-performance liquid chromatography with mass-spectrometric detection. GK-2 can be attributed to "short-lived" drugs, since the half-life from the rabbits blood plasma was 0.9±0.1 h.

Keywords: neuroprotector GK-2, preclinical pharmacokinetics

For citations:

Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, Bochkov PO, Gribakina OG, Novitskiy AA, Zherdev VP. The pharmacokinetics of the injectable dosage form of GK-2 in rabbits. Farmakokinetika i farmakodinamika. 2020;(2):17–21. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-17-21

Введение

Разработка нейропротективных средств лечения острых нарушений мозгового кровообращения является одной из проблем современной фармакологии [1].

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» создан низкомолекулярный миметик фактора роста нервов — димерный дипептид ГК-2, активирующий специфические для NGF тирозинкиназные TrkAрецепторы и пострецепторный сигнальный путь Akt, преимущественно вовлечённый в нейропротекцию [2].

Необходимым этапом разработки оригинального лекарственного средства (ЛС) является изучение его фармакокинетики и метаболизма в эксперименте [3]. Выявление общих закономерностей и различий в фармакокинетике фармакологически активных веществ у экспериментальных животных разных видов позволяет наиболее точно экстраполировать значения фармакокинетических параметров на человека. Анализ доклинических исследований очень важен для оценки вероятности развития и характера побочных эффектов, обеспечивает полезной информацией при переносе данных с животных на человека для выбора

пути введения, расчёта дозы ЛС и продолжительности отбора проб крови у добровольцев для фазы I клинических исследований.

В соответствии с требованиями «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» при изучении фармакокинетики нового фармакологического вещества требуется выполнить данное исследование минимум на двух видах экспериментальных животных [3]. Ранее была изучена доклиническая фармакокинетика соединения ГК-2 на крысах. Однако полученные в этих исследованиях результаты имеют некоторые недостатки, связанные с тем, что первичные данные носят дискретный характер. Другими словами, фармакокинетический профиль исследуемого вещества является суммой отдельных точек (концентраций), т. е. каждой концентрации соответствует отдельное животное. Изучение фармакокинетики ГК-2 на более крупных животных (не грызунах) - кроликах, позволяет обойти эти недостатки.

Цель данного исследования — изучение фармакокинетики инъекционной лекарственной формы Γ K-2 на кроликах.

Материалы и методы

Для проведения фармакокинетических исследований использовали фармацевтическую субстанцию ГК-2 (Серия—СН-13-88), синтезированную в лаборатории пептидных биорегуляторов ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». На 6 кроликах-самцах породы шиншилла (питомник «Столбовая», Московская область) массой 2,75—3,10 кг проведено открытое фармакокинетическое исследование. Кроликам в краевую ушную вену (правое ухо) вводили 2 мл раствора, полученного путём растворения содержимого двух флаконов, в которых находился лиофилизированный порошок ГК-2, в воде для инъекций. Доза исследуемого вещества составила 24 мг (7,8—8,7 мг/кг).

Отбор проб крови проводили перед введением (контроль) и через 10; 20; 30; 45 мин, 1; 1,5; 2; 3 и 4 ч после введения препарата из краевой ушной вены левого уха животного.

Все манипуляции с экспериментальными животными выполнены в соответствии с нормативной документацией, касающейся гуманного обращения с животными, и стандартными операционными процедурами лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Проведение экспериментов с животными одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», а также требованиям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [3].

Для определения ГК-2 в плазме крови крыс и кроликов использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием: высокоэффективный жидкост-

ной хроматограф с масс-селективным детектором типа «ионная ловушка» модели «Agilent 1200 Series LC/MSD Ion Trap» («Agilent», США), оборудованный системой автоматического ввода пробы, внешним источником ионов с ионизацией электроспреем при атмосферном давлении и управляемый компьютером с системой обработки данных «ChemStation» (v.1.0). Хроматографирование выполняли в условиях изократического элюирования. Детектирование проводили масс-спектрометрически по молекулярному иону с массовым числом m/z = 416, соответствующему дважды протонированному молекулярному иону ГК-2. Предел детектирования составил 5 нг/мл.

Межвидовые соотношения для фармакокинетических параметров ФС формируются на основе концепции биологического подобия, согласно которой у животных скорости протекания основных физиологических процессов одинаковы, если в качестве параметра «время» использовать не астрономическое (хронологическое), а «биологическое» или «физиологическое» время [5]. Для отображения полученных данных использовали метод Дедрика, где хронологические времена отбора проб крови животных пересчитывали в соответствующие «фармакокинетические» времена по уравнению:

$$t_{pk} = t/m^{0.25} (1),$$

где: t_{pk} – «фармакокинетическое» время;

m — масса тела кролика, кг;

t – хронологическое время, ч [6].

По профилям изменения концентраций ГК-2 в плазме крови кроликов в хронологическом времени и координатах Дедрика рассчитывали периоды полуэлиминации, выраженные в реальном ($t_{1/2el}$) и «фармакокинетическом» времени ($t_{1/2el}$ рк). Величину $t_{1/2el}$

Таблица 1 Фармакокинетические параметры ГК-2 в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения в дозе 7,8–8,7 мг/кг

№	$\mathrm{AUC}_{0 ightarrow1}$ (мкг/мл×ч)	k _{el} (ч ⁻¹)	$\mathrm{AUC}_{0 o\infty}$ (мкг/мл×ч)	t _{1/2el} (ч)	MRT (ч)	Cl (л/ч)	V _d (л)
1	8,46	0,7849	9,05	0,88	1,35	16,57	1,71
2	7,33	0,7493	7,90	0,93	1,43	18,99	1,92
3	8,42	0,7431	8,93	0,93	1,41	16,80	1,89
4	10,53	0,7761	11,15	0,89	1,18	13,45	1,52
5	13,02	0,6918	14,01	1,00	1,23	10,71	1,77
6	4,30	1,0427	4,63	0,66	1,04	32,40	0,99
\overline{x}	8,68	0,7980	9,28	0,88	1,27	18,15	1,63
SD	2,95	0,1243	3,15	0,12	0,15	7,56	0,35
C.V. %	33,95	15,57	33,94	13,22	11,87	41,62	21,24

Примечание: $AUC_{0→t}$ — площадь под фармакокинетической кривой (площадь под кривой «концентрация фармацевтической субстанции (Φ C) — время») после в/в введения; $AUC_{0→t}$ рассчитывается от момента введения Φ C до конкретного времени; $AUC_{0→∞}$ — площадь под фармакокинетической кривой (площадь под кривой «концентрация Φ C — время») после в/в введения; $AUC_{0→∞}$ рассчитывается от момента введения Φ C до бесконечности; MRT — среднее время удерживания Φ C в организме; $t_{1/2el}$ — период, за который выводится половина введений и всосавшейся дозы Φ C; k_{el} — константа скорости элиминации; Cl — плазменный клиренс после в/в введения; V_d — кажущийся объём распределения после в/в введения

18

 Γ K-2 у человека ($t_{1/2el\,h}$) рассчитывали по уравнению:

$$t_{1/2elh} = t_{1/2elpk} \times 75^{0.25} \tag{2}$$

где: 75 — предполагаемая средняя масса тела добровольца, кг.

Полученные данные подвергали математической статистической обработке. В таблице 1, где приведены фармакокинетические параметры Γ K-2, представлены средние арифметические значения (\overline{x}) , соответствующие им стандартные отклонения (SD) и коэффициенты вариации (C.V. %). Для расчётов фармакокинетических параметров был использован модельно-независимый метод [7].

Результаты и их обсуждение

Хромато-масс-спектрометрический анализ плазмы крови показал, что в анализируемых образцах присутствует характеристический молекулярный ион, соответствующий неизменённой молекуле ГК-2. Усреднённая фармакокинетическая кривая ГК-2 в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения инъекционной лекарственной формы в натуральной (a) и полулогарифмической системе координат (δ) представлена на рис. 1.

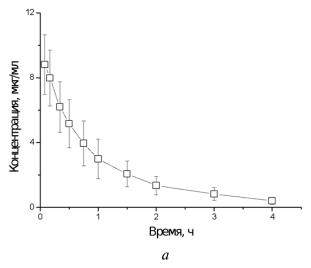
Из рис. 1 видно, что кинетика анализируемого соединения подчиняется кинетике первого порядка, поскольку снижение концентрации Γ K-2 в плазме крови кроликов имеет монофазный характер. Концентрацию исследуемого вещества удалось отследить на всем протяжении эксперимента, т. е. 4 ч.

В табл. 1 представлены индивидуальные и усреднённые фармакокинетические параметры Γ K-2 в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения лиофилизата Γ K-2 в дозе 24 мг $(7,8-8,7\ \mathrm{Mr/kr})$.

Такие фармакокинетические параметры, как период полувыведения, равный $0,88\pm0,12$ ч, среднее время удерживания вещества в организме $(1,27\pm0,15$ ч), а также значительная величина плазменного клиренса $(18,15\pm7,56\,\text{п/ч})$ указывают на относительно недолгое нахождение исследуемого вещества в системном кровотоке кроликов. Таким образом, ГК-2 можно отнести к группе «короткоживущих» Φ C.

Объём распределения — мера степени распределения ФС, которая определяется связыванием ФС с тканью, а также с белками плазмы крови, — является важной детерминантой периода полувыведения. Величина кажущегося объёма распределения (V_d) ГК-2 после в/в введения кроликам составила $1,63 \pm 0,35$ л. Кажущийся объём распределения обычно не эквивалентен анатомическому объёму, а отражает распределение препарата и степень его связывания в организме. Так, если препарат связывается преимущественно белками крови, V_d будет меньше, чем реальный. С другой стороны, преимущественное связывание препарата во внесосудистом пространстве приводит к превышению значения $V_{\scriptscriptstyle d}$ над реальным объёмом. В нашем случае, расчёт величины V_d дал высокие значения, указывающие, что ГК-2 распределяется во внесосудистом пространстве (плазма крови, органы) кроликов. Но учитывая, что исследуемая ФС практически полностью элиминирует из плазмы крови в течение 4 ч, можно предположить, что она не накапливается в тканях животных.

ГК-2 планируется использовать в клинической практике, поэтому необходимо спрогнозировать период полувыведения ФС у человека на основе экспериментальных данных, что может быть основой для оптимизации регламента отбора проб при фармакокинетическом изучении препарата в клинике, а также при оптимизации режима дозирования для



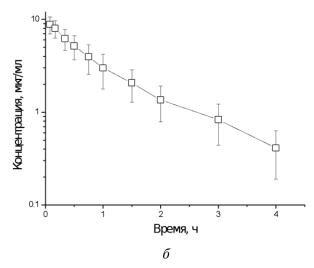


Рис. 1. Усреднённые фармакокинетические профили Γ K-2 в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения 24 мг (7,8–8,7 мг/кг) лиофилизата Γ K-2:

a — натуральные координаты; δ — полулогарифмическая система координат (n = 6; \overline{x} ± SD)

поддержания терапевтических концентраций соединения в плазме крови [3].

На основе аллометрического подхода (метод Дедрика), хронологические времена отбора проб крови животных пересчитывали в соответствующие «фармакокинетические» времена. Установлено, что значение $t_{1/2el}$ ГК-2 у кроликов, полученное на основании усреднённого фармакокинетического профиля, составило 0,88 ч, при этом после преобразований (в рамках 1-камерной модели с всасыванием) величина $t_{1/2\,el\,pk}$ снизилась до 0,69 ч.

Прогнозируемая величина $t_{1/2\,el}$ ГК-2, рассчитанная для человека по уравнению (2) на основе данных, полученных на кроликах, составила 2,03 ч. Таким образом, полученные результаты позволяют сделать предположение, что $t_{1/2el}$ у человека будет не менее 2 ч. Через 5 периодов полувыведения концентрация исследуемого вещества в плазме крови составит немногим более 3 %. Таким образом, продолжительность отбора проб крови у добровольцев для I фазы клинических исследований составит 10-12 ч.

Подобные расчёты, выполненные для других Φ С, показали, что для антипсихотика дилепта фактический период полувыведения у человека, равный $1,91\pm2,12$ ч в большей степени соответствует параметру, спрогнозированному на основе данных, полученных у крыс $(2,02\ \text{ч})$, против $2,25\ \text{ч}-\text{у}$ кроликов [5]. Для анксиолитика Γ Б-115 среднее значение периода полуэлиминации у добровольцев составило $1,0\pm0,2\ \text{ч}$ [8]. Прогностическая величина $t_{1/2}$ ег Γ Б-115 у человека на ос-

нове данных, полученных на крысах, составила 1,73 ч и данных, полученных на кроликах -2,60 ч, соответственно [9]. Близкие значения прогнозируемого и фактического периода полувыведения подтверждают актуальность межвидового переноса на основе аллометрического подхода.

Выводы

- 1. Изучена фармакокинетика нового потенциального нейропротектора ГК-2 у кроликов после однократного внутривенного введения инъекционной лекарственной формы.
- 2. ГК-2 можно отнести к группе «короткоживущих» лекарственных веществ.
- 3. На основе межвидового переноса проведён расчёт периода полувыведения ($t_{1/2el}$) ГК-2 у человека, который по предварительным оценкам, составил не менее 2 ч.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Конфликт интересов. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шевченко Роман Владимирович

ORCID ID: 0000-0003-4646-7733

SPIN-код: 1844-6202

к. м. н., н. с. лаборатории фармакокинетики

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени

В.В. Закусова», Россия, Москва

Литвин Александр Алексеевич

ORCID ID: 0000-0002-2818-3457

SPIN-код: 6193-5770

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики

ФГБНУ «НИИ

фармакологии имени В.В. Закусова»,

Россия, Москва

Колыванов Геннадий Борисович

ORCID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN-код: 2538-8639

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени

В.В. Закусова», Россия, Москва

Shevchenko Roman V.

ORCID ID: 0000-0003-4646-7733

SPIN code: 1844-6202

PhD in Medicine, Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of

Pharmacology», Russia, Moscow

Litvin Alexander A.

ORCID ID: 0000-0002-2818-3457

SPIN code: 6193-5770

D. Sci. in Biology, leading researcher of the laboratory of pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute

of Pharmacology», Russia, Moscow

Kolyvanov Gennadiy B.

ORČID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN code: 2538-8639

D. Sci. in Biology, Leading researcher of the laboratory of pharmacokinetics FSBI «Zakusov insti-

tute of Pharmacology», Russia, Moscow

Бочков Павел Олегович

ORCID ID: 0000-0001-8555-5969

SPIN-код: 5576-8174

к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакокинетики

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Грибакина Оксана Геннадьевна

ORCID ID: 0000-0002-4604-4346

SPIN-код: 6266-8161

к. б. н., н. с. лаборатории фармакокинетики

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Новицкий Александр Александрович

ORCID ID: 0000-0003-3188-6257

н. с. лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Жердев Владимир Павлович

Автор, ответственный за переписку

e-mail: zherdevpharm@mail.ru ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN-код: 2213-9592

д. м. н., профессор, заведующий лабораторией

фармакокинетики ФГБНУ «НИИ

фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Литература / References

1. Пирадов М.А., Таняшян М.М., Домашенко М.А., Максимова М.Ю. Нейропротекция при цереброваскулярных заболеваниях: поиск жизни на Марсе или перспективное направление лечения? Часть 1. Хронические нарушения мозгового кровообращения // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. — 2015. — Т. 9. — № 1. С. 41—50. [Piradov MA, Tanashyan MM, Domashenko MA, Maksimova MYu. Neuroprotection in cerebrovascular diseases: is it the search for life on Mars or a promising trend of treatment? Part 1. Acute stroke. Annals of Clinical and Experimental Neurology. 2015;9(1):41—50. (In Russ).]

2. Gudasheva TA, Povarnina PYu, Antipova TA, Seredenin SB. A Novel Dimeric Dipeptide Mimetic of the Nerve Growth Factor Exhibits Pharmacological Effects upon Systemic Administration and Has No Side Effects Accompanying the Neurotrophin Treatment. *Neuroscience and Medicine*, 2014;5(2):101–108. DOI: 10.4236/nm.2014.52013.

- 3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 17–24 с. [Guidance on Preclinical Evaluation of Medicines. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ).]
- 4. Davies M, Jones R, Grime K et al. Improving the Accuracy of Predicted Human Pharmacokinetics: Lessons Learned from the AstraZeneca Drug Pipeline Over Two Decades. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2020;S0165-6147(20)30068-7. DOI: 10.1016/j.tips.2020.03.004
- 5. Шевченко Р.В. Клинико-экспериментальная фармакокинетика нового дипептидного препарата дилепт: Дисс. ... канд. мед. наук. М.:

Bochkov Pavel O.

ORCID ID: 0000-0001-8555-5969

SPIN code: 5576-8174

PhD in Biology, Senior Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of

Pharmacology», Russia, Moscow

Gribakina Oxana G.

ORCID ID: 0000-0002-4604-4346

SPIN code: 6266-8161

PhD in Biology, Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of

Pharmacology», Russia, Moscow

Novitskiy Alexander A.

ORCID ID: 0000-0003-3188-6257 Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Russia, Moscow

Zherdev Vladimir Corresponding author

e-mail: zherdevpharm@mail.ru ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN code: 2213-9592

D. Sci. in Medicine, professor, Head of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of

Pharmacology», Russia, Moscow

- 2016. [Shevchenko RV. Kliniko-eksperimental'naya farmakokinetika novogo dipeptidnogo preparata dilept. [dissertation] Moscow: 2016. (In Russ).] Доступно по: https://www.academpharm.ru/images/upload/ru/1425/Dissertaciya_SHevchenko_R.V.1.pdf. Ссылка активна на 14.05.2020.
- 6. Dedrick RL. Animal scale-up. J. *Pharmacokin. and Biopharmac*. 1973;1(5):435–461.
- 7. Агафонов А.А., Пиотровский В.К. Программа M-ind оценки системных параметров фармакокинетики модельно-независимым методом статистических моментов // Xимико-фармацевтический журнал. 1991. \mathbb{N} 10. С. 16—19. [Agafonov AA, Piotrovskii VK, Programma M-ind otsenki sistemnykh parametrov farmakokinetiki model'no-nezavisimym metodom statisticheskikh momentov. Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal. 1991;(10):16—19. (In Russ).]
- 8. Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А. и др. Клиническая фармакокинетика оригинального дипептидного анксиолитика ГБ-115. // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2017. № 1. С. 52—55. [Zherdev VP, Kolyvanov GB, Litvin AA et al. Clinical pharmacokinetics of a new original dipeptide anxiolytic GB-115. Farmakokinetika i farmakodinamika. 2017;(1):52—55. (In Russ).]
- 9. Раскин С.Ю. Клинико-экспериментальная фармакокинетика нового дипептидного анксиолитика ГБ-115: Дис. ... канд. мед. наук. М.: 2019. [Raskin SYu. Kliniko-eksperimental'naya farmakokinetika novogo dipeptidnogo anksiolitika GB-115. [dissertation] Moscow: 2019. (In Russ).] Доступно по: https://www.academpharm.ru/images/upload/ru/1540/Dissertaciya_Raskin_S.YU..pdf. Ссылка активна на 14.05.2020.

Статья поступила в июне 2020 г.

Экспериментальное изучение системной биодоступности препарата «Гармина гидрохлорид, капсулы» в сравнении с нативным гармином на кроликах породы Шиншилла

Адекенов С. М.¹, Шнаукшта В. С.², Епифанцева Е. В.³, Абаимов Д. А.⁴, Абдрахманова М. Г.³, Сариев А. К.⁵

1 – АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Республика Казахстан, Караганда
 2 – РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и медицинских изделий» Комитета контроля качества и безопасности товаров и услуг Министерства здравоохранения Республики Казахстан,
 Республика Казахстан, Нур-Султан

3 – НАО «Медицинский университет Астаны» МЗ РК, Республика Казахстан, Нур-Султан
 4 – ФГБНУ «Научный центр неврологии», Россия, Москва

🤋 – ФГАОУ ВО Первый Московский Государственный Медицинский Университет им И.М. Сеченова, Россия, Москва

Аннотация. В эксперименте на 12 кроликах-самцах породы Шиншилла проведено сравнительное исследование относительной биодоступности природного алкалоида гармина (нативного, в виде основания) и его производного гармина гидрохлорида, которые вводились перорально, в дозе 50 мг, в виде двух капсул, содержащих эквимолярное количество гармина (25 мг). Показано, что гармина гидрохлорид в сравнении с нативным гармином обладает фармакокинетическими преимуществами в виде сравнительно быстрого достижения максимальной концентрации (T_{max}) в плазме крови и достоверно большего значения максимальной концентрации действующего вещества в крови. В то же время показано, что химическая модификация гармина не оказывает значимого влияния на такой параметр, как площадь под фармакокинетической кривой, что свидетельствует об отсутствии разницы в степени абсорбции у сравниваемых лекарственных форм.

Ключевые слова: бета-карболиновые алкалоиды; гармин; гармина гидрохлорид; фармакокинетика; биодоступность

Для цитирования:

Адекенов С.М., Шнаукшта В.С., Епифанцева Е.В., Абаимов Д.А., Абдрахманова М.Г., Сариев А.К. Экспериментальное изучение системной биодоступности препарата «Гармина гидрохлорид, капсулы» в сравнении с нативным гармином на кроликах породы Шиншилла // Φ армакокинетика и Φ армакодинамика. − 2020. − № 2. − C. 22−27. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-22-27

An experimental study of the systemic bioavailability of the drug "Harmin hydrochloride, capsules" in comparison with native garmin on chinchilla rabbits

Adekenov SM¹, Schnaukshta VS², Epifantseva EV³, Abaimov DA⁴, Abdrakhmanova MG³, Sariev AK⁵

1 – JSC "International Research and Production Holding "Phytochemistry", Republic of Kazakhstan, Karaganda

² – Republican State Enterprise on the Right of Economic Management "National Center for Expertise of Medicines and Medical Devices" of the Ministry of Health of the RK, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

³ – "Астана Medical University" Non-commercial joint-stock company, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

⁴ – Research Center of Neurology, Russia, Moscow

⁵ – FSAEI HE I.M. Sechenov First MSMU MOH Russia (Sechenovskiy University) Russia, Moscow

Abstract. An experimental comparative study of the relative bioavailability of plant alkaloid harmine (native, in the form of a base) in comparison with its derivative harmine hydrochloride was carried out on chinchilla rabbit. Both substances was administered in capsules, containing an equimolar amount of harmine (50 mg, p.o.). Harmin hydrochloride was shown to have some pharmacokinetic advantages in comparison with native harmin due to a relatively rapid achievement of the maximal plasma concentration (T_{max}) and a significantly higher maximum concentration of the active substance in the blood. At the same time, there was shown that the chemical modification of harmine does not significantly affect on such pharmacokinetics parameter as the area under the curve (AUC), which indicates the absence of a difference in the degree of absorption in the compared dosage forms.

Keywords: beta-carboline alkaloids; harmine; harmine hydrochloride; pharmacokinetics; bioavailability

For citations:

Adekenov SM, Schnaukshta VS, Epifantseva EV, Abaimov DA, Abdrakhmanova MG, Sariev AK. An experimental study of the systemic bioavailability of the drug "Harmin hydrochloride, capsules" in comparison with native garmin on chinchilla rabbits. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020; (2):22–27. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-22-27

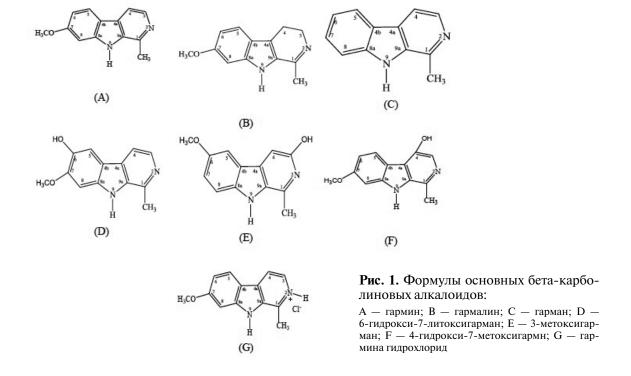
Введение

Бета-карболиновые алкалоиды уже давно привлекают внимание фармакологов, благодаря наличию у них треморогенных свойств и их способности ингибировать ферменты из группы моноаминооксидаз. Кроме того, данные вещества являются действующими компонентами различных фитопрепаратов, применяемых в этнофармакологии. В частности, они входят в состав побегов аяхуаски и гармалы, известных галлюциногенных растений, которые применяются в этнофармакологии в рекреационных целях. Существует целый ряд работ, посвящённых фармакокинетике данной группы алкалоидов. Пер-

вые работы по фармакокинетике бета-карболинового алкалоида гармина появились ещё в 70-х г. XX в. Так, в работе Zetler G и соавт. в эксперименте на крысах линии Вистар изучена фармакокинетика гармина (рис. 1А) и гармалина (рис. 1В) после их внутривенного введения в дозе 10 мг/кг [1]. С помощью метода тонкослойной хроматографии было показано, что оба препарата способны проникать в мозг, а гармин имеет тропность по отношению к ткани лёгкого. В исследовании Guan Yu coaвт., 2001 изучалась токсикокинетика гармина в сравнении с другим бетакарболиновым алкалоидом гарманом (рис. 1С) после внутривенного болюсного введения веществ в дозе 0,5 мг/кг у крыс Спрэг-Доули [2]. При этом обнаружено, что фармакокинетика гармина наиболее релевантно описывается биэкспоненциальным уравнением с помощью двухкомпартментной модели. Было показано, что гармин может более эффективно распределяться в тканевом компартменте, чем гарман. В отношении системного клиренса: гармин выводился из крови в два раза быстрее, чем гарман. Время для достижения C_{\max} после перорального введения гармина в среднем составляло $T_{\rm max} = 9,7$ мин. Гармин (A) имел более длинную терминальную элиминацию $t_{1/2\mathrm{el}}$, чем гарман. Абсолютная биодоступность перорального препарата гармина составляла только 3,1 %, что в целом довольно низко для такого высоколипофильного соединения. Общими фармакокинетическими свойствами обоих бета-карболиновых алкалоидов были следующие: во-первых, концентрация соединений в крови быстро снижается после их попадания в системный кровоток; во-вторых, оба соединения имели сравнимую продолжительность периода терминальной элиминации $t_{1/2\beta}$, хотя гармин выводился из крови в два раза быстрее, чем гарман; в третьих, оба соединения обладали объёмом распределения в центральной камере V_c и общим объёмом распределения V_d , превышающими общий объём крови (58 мл/кг) или объём воды всего тела (132 мл) экспериментальных животных, что указывает на распределение и возможное накопление данных алкалоидных соединений в тканях крыс. Гармин, по-видимому, распределяется по тканям лучше, чем гарман, с большим объёмом распределения (V_d) (3,9 и 1,6 л/кг для гармина и гармана, соответственно).

В работе *Tweedie DJ* and *Burke MD* (1987) было продемонстрировано, что гармин в основном метаболизируется микросомальными ферментами печени до 6-гидрокси-7-метоксигармана (рис. 1D) и в меньшей степени трансформируется в 3-гидрокси-7-метоксигарман (рис. 1E) или 4-гидрокси-7-метоксигарман (рис. 1F) [3]. В исследовании *Yu AM и соавт*. было обнаружено, что цитохром P450 катализирует О-деметилирование гармина и выявлено, что основными изоферментами, вовлеченными в данный процесс, являются CYP2D6 и CYP1A1 [4]. Следовательно, можно сделать предположение, что экстенсивный печёночный метаболизм, определяющий эффект первого прохождения, может способствовать сравнительно низкой биодоступности гармина (3,1%).

На основе бета-карболиновго алкалоида гармина (A) в Международном научно-производственном



холдинге «Фитохимия» (Караганда, Республика Казахстан) синтезирован гармина гидрохлорид, который является солевым производным природного алкалоида (рис. 1G).

Основным его отличием от родительского соединения является более высокая гидрофильность, которая позволяет избежать различных ограничений, связанных с созданием инъекционной формы. Кроме того, указанная химическая модификация (получение гидрохлоридного производного) может положительно сказаться на его пероральной биодоступности. С целью выяснения вышеприведённых теоретических предположений нами проведён эксперимент на лабораторных кроликах породы Шиншилла по изучению энтеральной биодоступности инкапсулированного гармина гидрохлорида в сравнении с нативным гармином, который также вводился в капсулах per os.

Материалы и методы

Исследование было проведено на 12 кроликах породы Шиншилла с массой тела 2500—3000 г. Исследуемые препараты в дозе 50 мг (2 капсулы) вводили животным внутрь с последующим введением небольшого количества воды (20 мл). Образцы крови объёмом 1,0—1,5 мл отбирали из краевой ушной вены до введения препарата (0 ч) и через 10, 20, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 8 и 12 ч после введения. Полученные образцы крови отстаивались в течение 15 мин в условиях комнатной температуры. После центрифугирования (5000 об/мин в течение 10 мин) отбирали плазму крови в пластиковые пробирки и подвергали заморозке при температуре — 70 °C.

Перед проведением анализа исследуемых образцов плазму размораживали и подвергали повторному центрифугированию при 5000 об/мин с последующим добавлением ацетонитрила и гексана (1:1 об/об). Пробы встряхивали на шейкере и проводили повторное центрифугирование при 15 000 об/мин в течение 10 мин с последующим отделением супернатанта и упариванием в токе азота. К сухому остатку добавляли 500 мкл мобильной фазы и использовали для определения гармина. Содержание гармина определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектором (ВЭЖХ-УФ) на жидкостном хроматографе Waters 2475, США, ультрафиолетовый детектор 2489 с установленной длинной волны 240 нм, термостат колонок 1500 СН, автосамплер 2707, объём петли 100 мкл.

Изучаемые вещества разделяли на колонке XBridgeTM C18 (4,6 × 250) 5 мкм (Waters, USA). Насос Binary HPLC Pump Waters 1525 (Waters, США), скорость потока подвижной фазы — 0,8 мл/мин, время анализа — 15 мин. Мобильная фаза: (0,05М $\mathrm{Na_2HPO_4}$) фосфатный буфер — ацетонитрил (55:45) с рН — 6,0. В этих условиях время выхода гармина составляло 4,9 ± 0,1 мин (рис. 2).

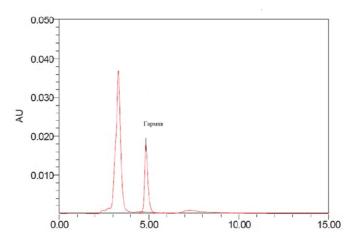


Рис. 2. Демонстрационная хроматограмма экстракта плазмы крови, содержащей гармин

Регистрацию образцов и обработку хроматограмм проводили с применением программного обеспечения Empower® 3 Software, Copyright 2010 Waters Corporation. Все использовавшиеся для анализа реактивы были высокой степени чистоты: о.с.ч., х.ч. или analytical grade.

Величину концентрации гармина (основания) в опытных образцах плазмы крови рассчитывали по калибровочной кривой в диапазоне концентраций 250-6000 нг/мл. Для построения калибровочной кривой для гармина применяли линейную модель, построенную методом наименьших квадратов в координатах, где по оси Y- площадь хроматографического пика исследуемого аналита, а по оси X- концентрация исследуемого аналита в калибраторе. Калибровочная кривая была линейна на всём диапазоне концентраций с коэффициентом корреляции R>0,99 (рис. 3).

Валидация методики количественного анализа гармина в плазме крови лабораторных животных выполнена в полном соответствии с руководством по валидации биоаналитических методик EMEA и FDA как по валидируемым параметрам, так и по критериям их оценки. Селективность определения гармина, проверенная на шести источниках бланковой плазмы, удовлетворяет установленным EMEA и FDA критериям приемлемости. На хроматограммах образцов не обнаружено никаких помех и пиков интерферирующих веществ, которые могли бы мешать определению исследуемого аналита. Валидированный диапазон количественно определяемых концентраций гармина находился в пределах от 250 нг/мл (НПКО) до 6000 нг/мл. В указанном диапазоне концентраций гармин может быть правильно и прецизионно определён в биообразцах объёмом 400 мкл. Основные результаты валидации приведены в таблице 1.

Таким образом, как видно из таблицы 1, все внутри- и межсуточные вариации найденных концентраций аналитов в образцах, приготовленных из модельных биообразцов, покрывающих ожидаемый концентрационный диапазон, удовлетворяют надлежащим критериям приемлемости.

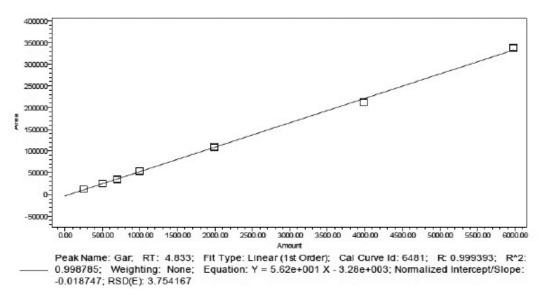


Рис. 3. Калибровочная кривая гармина

 Таблица 1

 Основные результаты валидации методики количественного определения гармина

	Правиль	ность			
Внутрипрогонная		$\overline{\delta}$	$ \overline{\delta} ,\ \%$		
DilyTpiniporolliun		1-го	2-го	3-го	101, %
	248,90нг/мл	2,23	-2,15	0,20	< 20
	746,70нг/мл	1,52	-0,67	-6,16	< 15
ГАРМИН	1194,72нг/мл	1,75	10,03	7,94	< 15
	2986,81нг/мл	1,94	12,95	8,16	< 15
	4480,21 нг/мл	3,74	13,86	10,35	< 15
Межпрогонная (усреднённая по 3 прогонам)			$\overline{\delta},~\%$		$ \overline{\delta} ,~\%$
	248,90нг/мл		0,87		< 20
	746,70нг/мл	0,93			< 15
ГАРМИН	1194,72нг/мл	2,57			< 15
	2986,81нг/мл	1,08			< 15
	4480,21 нг/мл		< 15		
	Прецизио	нность			
D.		CV _s , % для прогонов:			CV C
Внутрипрогонная		1-го	2-го	3-го	CV _s , %
	248,90нг/мл	1,42	8,24	13,85	< 20
	746,70нг/мл	1,53	4,80	6,61	< 15
ГАРМИН	1194,72нг/мл	0,63	4,57	4,18	< 15
	2986,81нг/мл	0,85	3,20	1,60	< 15
	4480,21 нг/мл	0,87	1,32	3,13	< 15
Межпрогонная (усреднённая по 3 прогонам)			CV _s , %		CV _s , %
	248,90нг/мл		8,80		< 20
	746,70нг/мл	5,52			< 15
ГАРМИН	1194,72нг/мл		4,82		< 15
	2986,81нг/мл		4,79		< 15
	4480,21 нг/мл	4,40			< 15

Также было проведено расширенное исследование стабильности гармина, благодаря которому установлено, что модельные биообразцы с заранее добавленным гармином стабильны в течение 4 ч при комнатной температуре и после трёх циклов замораживания/оттаивания (замораживание при температуре не выше — 70 °C, оттаивание при комнатной температуре). Кроме того, было определено, что исследуемые образцы, полученные из модельных биообразцов после этапа пробоподготовки, стабильны в автосамплере при температуре (20 ± 2) °C в течение 48,0 ч.

Результаты и обсуждение

Результаты проведённого исследования по определению относительной биодоступности препарата гармина гидрохлорида (в виде капсул 25 мг) на экспериментальных животных показали, что тестируемый препарат (Т) — «Гармина гидрохлорид» в капсулах 25 мг, несколько быстрее всасывается при введении внутрь, что приводит к более интенсивному увеличению концентрации действующего вещества (гармина основания) в плазме крови (рис. 4).

Исходя из характеристик полученных фармакокинетических кривых, были получены следующие значения фармакокинетических параметров для гармина гидрохлорида и нативного гармина (табл. 2).

Из таблицы видно, что время достижения максимального содержания в крови у гармина гидрохлорида наблюдалось через 0,75 ч, а для нативного гармина через 0,81 ч. Максимальное значение концентрации в плазме крови действующего вещества (гармина) было достоверно выше при введении препарата в виде гидрохлоридной соли и достигало значения $480,1 \pm 46,61$ нг/мл для тестируемого препарата, что на 32,8 % выше по сравнению с референтным препаратом ($C_{\text{max}} = 361.4 \pm 46.19$ нг/мл для нативного гармина). В то же время площадь под фармакокинетической кривой для тестируемого препарата составила: $AUC_{0-t} = 1160,04 \text{ нг/мл×ч}, а для нативного гармина$ площадь составила: $AUC_{0-t} = 1102,02 \text{ нг/мл×ч}$. Полученные результаты показывают, что относительная биодоступность гармина гидрохлорида составляет 112,7 %. Таким образом, разница в степени абсорбции препарата практически отсутствует.

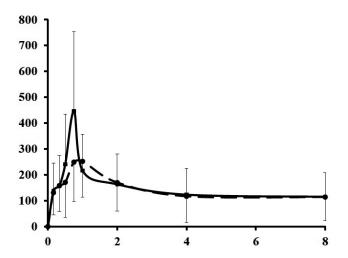


Рис. 4. Фармакокинетические кривые гармина гидрохлорида (сплошная линия) и нативного гармина (1) (пунктирная линия) по действующему веществу (гармину)

Заключение

Модифицированная форма алкалоида гармина в виде гидрохлоридного производного обладает определёнными фармакокинетическими преимуществами, заключающимися в сравнительно быстром достижении максимальной концентрации в плазме крови и достоверно большем значении максимальной концентрации действующего вещества в крови. В то же время это не оказывает значимого влияния на значение такого параметра, как площадь под фармакокинетической кривой, что свидетельствует о том, что разница в степени абсорбции у сравниваемых образцов фактически отсутствует.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Конфликт интересов. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

Таблица 2

Препарат	T _{max} час	С _{тах} НГ/МЛ	MRT 4	Т _{1/2el} Ч	AUC₀®t нг/мл×ч	AUC _{0®∞} нг/мл×ч	$C_{max}/AUC_{0 \otimes t}$ Y^{-1}	$\begin{array}{c} \mathbf{C_{max}/AUC_{0@\infty}} \\ \mathbf{Y}^{-1} \end{array}$
Гармина гидрохлорид	0,75±0,03	480,1±46,61	7,8±1,37	5,14±0,93	1160,04±89,72	1984,14±328,84	0,4732±0,0861	0,3224±0,0697
Гармин нативный	0,81±0,07	361,4±46,19	8,76±1,37	5,86±0,95	1102,02±125,36	1960,08±214,78	0,3586±0,0549	0,2244±0,0439

Фармакокинетические характеристики гармина гидрохлорида и нативного гармина

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Адекенов Сергазы Мынжасарови

ORCID ID: 0000-0001-7588-6174

д. х. н., профессор, академик Национальной академии наук Республики Казахстан, генеральный директор АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Республика Казахстан, Караганда

Шнаукшта Валентина Станиславовна

к. б. н., доцент, заведующий лабораторией фармакологических испытаний (ЛФИ) ТФ РГП на ПХВ «НЦЭЛС и МИ» ККК и БТУ МЗ РК, Республика Казахстан, Нур-Султан

Епифанцева Елена Валериевна

e-mail: abaidenis@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0003-4195-7901 SPIN-код: 5243-3894 PhD-докторант HAO «МУА», Республика Казахстан, Нур-Султан

Абаимов Денис Александрович Автор, ответственный за переписку

ОRCID ID: 0000-0001-6888-3223 SPIN-код: 7548-0933 к. б. н., с. н. с. лаборатории гемореологии, гемостаза и фармакокинетики с клинической и лабораторной диагностикой ФГБНУ НЦН, Россия, Москва

Абдрахманова Майра Галимжановна

ORCID ID: 0000-0002-2804-7770 д. м. н., профессор, кафедры неврологии НАО «МУА», Республика Казахстан, Нур-Султан

Сариев Абрек Куангалиевич

ОRCID ID: 0000-0003-1603-067X SPIN-код: 3945-1271 д. м. н., профессор, кафедры неврологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, Москва

Adekenov Sergazy M.

ORCID ID: 0000-0001-7588-6174

D. Sci. in Chemical, professor, Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, General Director of JSC «International Research and Production Holding «Phytochemistry», Republic of Kazakhstan, Karaganda

Schnaukshta Valentina S.

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Laboratory of Pharmacological Testing (LFI) NCEMMD of the Ministry of Health of the RK, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

Epifantseva Elena V.

ORCID ID: 0000-0003-4195-7901

SPIN code: 5243-3894

PhD doctoral student «AMU» NCJSC, Republic of

Kazakhstan, Nur-Sultan

Abaimov Denis A. Corresponding author

e-mail: abaidenis@yandex.ru ORCID ID: 0000-0001-6888-3223

SPIN code: 7548-0933

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Hemorheology, Hemostasis and Pharmacokinetics with Clinical and Laboratory Diagnostics of the RCN, Russia, Moscow

Abdrakhmanova Mayra G.

ORCID ID: 0000-0002-2804-7770 D. Sci. in Medicine, professor, Department of Neurology, «AMU» NCJSC, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

Sariev Abrek K.

ORCID ID: 0000-0003-1603-067X

SPIN code: 3945-1271

D. Sci. in Medicine, professor, Department of Neurology, FSAEI HE I.M. Sechenov First MSMU MOH Russia (Sechenovskiy University), Russia,

Moscow

Литература / References

1. Zetler G, Back G, Iven H. Pharmacokinetics in the rat of the hallucinogenic alkaloids harmine and harmaline. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 1974;285(3):273–292. DOI: 10.1007/bf00498996 2. Guan Y, Louis ED, Zheng W. Toxicokinetics of tremorogenic natural

2. Guan Y, Louis ED, Zheng W. Toxicokinetics of tremorogenic natural products, harmane and harmine, in male Sprague-Dawley rats. *Journal of toxicology and environmental health. Part A.* 2001;64(8):645–660. DOI: 10.1080/152873901753246241

3. Tweedie DJ, Burke MD. Metabolism of the beta-carbolines, harmine and harmol, by liver microsomes from phenobarbitone- or 3-methylcholanthrenetreated mice. Identification and quantitation of two novel harmine metabolites. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals.* 1987;15(1):74–81.

4. Yu AM, Idle JR, Krausz KW, Kupfer A, Gonzalez FJ. Contribution of individual cytochrome P450 isozymes to the O-demethylation of the psychotropic beta-carboline alkaloids harmaline and harmine. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2003;305(1):315–322. DOI: 10.1124/jpet.102.047050

Статья поступила в июне 2020 г.

Анализ рассеянных данных в фармакокинетических исследованиях

Мирошниченко И. И., Симонов А. Н., Кузьмин И. И., Платова А. И.

ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Россия, Москва

Аннотация. Выполнение фармакокинетического и статистического анализа в случае рассеянных данных представляет значительные трудности. На примере изучения фармакокинетики (ФК) ресвератрола у мышей метод ресемплинга позволил получить индивидуальные ФК-параметры и выполнить полноценные статистические тесты.

Ключевые слова: рассеянные данные; фармакокинетика; ресемплинг

Для цитирования:

Мирошниченко И.И., Симонов А.Н., Кузьмин И.И., Платова А.И. Анализ рассеянных данных в фармакокинетических исследованиях // Φ армакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 2. – С. 28–33. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-28-33

Analysis of sparse data in pharmacokinetic studies

Miroshnichenko II, Simonov AN, Kuzmin II, Platova AI FSBSI «Mental Health Research Center», Russia, Moscow

Abstract. Performing pharmacokinetic and statistical analysis in the case of sparse data presents significant difficulties. Using the example of the pharmacokinetic (PK) study of resveratrol in mice, the resampling method was allowed us to obtain individual PK-parameters and perform full-fledged statistical tests.

Keywords: sparse data; pharmacokinetics; resampling

For citations:

Miroshnichenko II, Simonov AN, Kuzmin II, Platova AI. Analysis of sparse data in pharmacokinetic studies. Farmakokinetika i farmakodinamika. 2020;(2):28–33. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-28-33

Введение

В практике фармакокинетических (ФК) исследований нередко возникает ситуация, когда анализируют небольшое количество данных, полученных от одного субъекта. Наиболее типичные случаи получения таких данных: терапевтический лекарственный мониторинг, клиническая фармакокинетика в уязвимых популяциях (новорождённые дети) или проведение ФКисследований на мелких животных (грызунах). При этом количество образцов от одного субъекта может равняться единице. Такие данные характеризуют как рассеянные или скудные (sparse data) [1].

В дальнейшем мы сконцентрируем внимание на изучении экспериментальной фармакокинетики на мышах, когда количество образцов от одного индивида не превышает одного, что обусловлено малым объёмом циркулирующей крови у этих животных [2].

В качестве типового примера рассмотрим данные, полученные после однократного введения фармацевтических композиций, содержащих ресвератрол [3].

Материалы и методы

Фармакокинетику и биодоступность изучали после однократного введения различных лекарственных форм ресвератрола. Белых мышей линии Balb/c (средняя масса 20 г) разделяли на группы по 36

особей на каждую лекарственную форму — было предусмотрено 6 точек забора крови по 6 особей на каждую точку.

Субстанцию вводили внутрижелудочно (per os) в дозе 50 мг/кг в следующих композициях:

- стандартная субстанция транс-ресвератрола. Препарат сравнения (Ref);
- образец нано-субстанции ресвератрола (порошок) ТоДМ-1 (I);
- образец нано-субстанции ресвератрола (порошок) ТоДМ-5 (V).

После введения субстанций кровь отбирали через фиксированные интервалы времени (0,17;0,5;1;2;4 и 8 часов после введения). В каждой временной точке использовали по 6 мышей. Для отбора крови животных декапитировали.

Количественное определение ресвератрола в плазме крови проводили методом ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографии). Использовали спектрофотометрический детектор при длине волны поглощения I=310 нм. Результаты количественного определения представлены в табл. 1.

При стандартном двухэтапном методе — самом распространённом в Φ K-исследованиях, измерений концентрации должно быть достаточно для определения индивидуальных параметров каждого субъекта — первый этап.

На втором этапе оцениваются средние и дисперсии идентифицированных параметров для популяции:

$$\theta avg = \Sigma \theta j/n$$
,

где: θj — значение Φ K-параметра, полученное у j-го субъекта;

n — число субъектов [4, 5].

Значения параметров при этом достаточно точные, но вариация их зачастую переоценивается. Стандартный двухэтапный метод требует для идентификации N параметров выбранной модели не менее N измерений уровня препарата для каждого пациента популяции, поэтому он не применим в случае обработки скудного массива индивидуальных данных. В то же время его применение совершенно показано в случае рандомизированых сбалансированных испытаний, в частности, при изучении биоэквивалентности лекарственных средств.

Для получения полноценного набора данных для двухэтапного метода анализа скудных данных предложен подход, основанный на ресемплинге с замещением недостающих данных из набора значений концентраций, полученных для других субъектов исследования [6].

При отсутствии возможности получить полный профиль у одного индивида применяют пуловый метод, который и поныне широко распространён [7, 8]. При этом значения концентрации препарата, полученные у различных животных в одинаковые временные точки, объединяются в один Φ K-профиль (naive pooling) для каждой лекарственной формы (табл. 1):

$$C_{i,avg} = \frac{\sum_{j=1}^{j=n} Cij}{n},$$

где: $C_{i,avg}$ — рассчитанная средняя концентрация препарата в момент времени t = i;

Cij — значение концентрации, полученное у j-ой особи, в момент времени t = i;

n — число животных с проведённым измерением концентрации на каждую временную точку.

Главным недостатком такого подхода является то обстоятельство, что при этом невозможно построение индивидуальных кривых «концентрация—время» и, соответственно, расчёт индивидуальных ФК-параметров.

На основании средних величин концентрации рассчитывают значения соответствующих ФК-параметров (табл. 2). К сожалению, при этом полученные значения получаются весьма приблизительными, поскольку оценить межиндивидуальные различия невозможно. Это позволяет дать только точечную оценку без учёта статистической погрешности. Ввиду этого выявление различий между группами носит преимущественно интуитивный характер.

При наличии рассеянных данных, объединённых в общий Φ K-профиль, всё же существует возможность оценки стандартного отклонения (SD) для AUC как характеристики распределения этой величины. Приводим такой расчёт для AUCinf по методу Юаня, требующего предположения, что терминальная константа элиминации (λ z) известна и постоянна для всех индивидов [9]:

$$SD(AUC \text{ inf}) = \sqrt{\frac{(0,5(t_1 - t_0)SE_0)^2 + \sum_{j=2}^{m} (0,5(t_j - t_{j-2})SE_{j-1})^2 + (0,5(t_m - t_{m-1}) + \frac{1}{\widehat{\lambda}_z})SE_m^2},}$$

Таблица 1

Экспериментальные данные концентрации ресвератрола после внутрижелудочного введения различных композиций
препарата в дозе 50 мг/кг

Лек. форма	T	Концентрация, нг/мл Среднее SD							SD
Ref		38	20	44	13	204	66	64	71
I	0,17	700	376	442	450	331	843	524	202
V		120	666	309	843	587	450	496	259
Ref		53	39	131	110	13	470	136	170
I	0,5	404	372	257	259	149	293	289	91
V		385	572	160	1421	744	418	617	440
Ref		45	79	124	68	34	100	75	34
I	1	56	48	59	65	65	51	57	7
V		48	29	90	92	60	97	69	28
Ref		38	38	80	35	44	88	54	24
I	2	42	150	39	37	50	41	60	44
V		23	673	117	71	29	45	160	254
Ref		21	31	31	20	18	5	21	10
I	4	53	69	59	60	50	55	58	7
V		305	41	291	25	22	24	118	140
Ref		26	2	16	11	20	24	17	9
I	8	28	26	21	25	19	26	24	3
V		9	13	57	40	56	9	31	23
Примечание: SD —	среднеквадра	атичное от	клонение	•					

29

Nº 2. 2020 ■

Таблица 2

Значения ФК-параметров ресвератрола, полученные пуловым методом

ΦV		Лек. форма					
ФК-параметр	Ref	I	v				
Константа элиминации λz , ч ⁻¹	0,262	0,161	0,284				
Период полувыведения $T_{1/2}$, ч	2,65	4,32	2,44				
Время максимума концентрации Т _{тах} , ч	0,5	0,17	0,5				
Максимум концентрации Стах, нг/мл	136	524	607				
AUC_{0-8} , ч×нг/мл	305	605	1086				
$\mathrm{AUC}_{0-\infty}$, ч×нг/мл	368	755	1194				
Объём распределения V/F, л/кг	517	412	147				
Клиренс Cl/F, (л/ч)/кг	135	66	41,8				
Среднее резидентное время MRT, ч	4,05	4,67	3,21				

Примечания: AUC — площадь под ФК-кривой «концентрация—время»; оценки объёма распределения и клиренса для внесосудистого пути введения приводятся в виде величин, зависимых от биодоступности (F).

где: SE_j — стандартная ошибка концентрации Cj, взятой во временную точку j;

m — общее число временных точек для забора биоматериала;

t — время после введения препарата.

Рассмотрим набор данных концентраций ресвератрола, измеренных после введения стандартной субстанции (Ref, табл. 1, первый столбец). Образцы плазмы крови были получены от 36 животных: 6 мышей на 6 временных точках. Первым 6 животным присваиваются фактические значения из табл. 1. Значения концентрации в последующие временные точки выбираются случайным образом из имеющихся в распоряжении 6 чисел.

В Excel подобную процедуру выполняют с использованием функции:

=ИНДЕКС(\$B\$X:\$B\$Y;СЛУЧМЕЖДУ(1;СЧЁТ(\$B\$X:\$B\$Y)))

где: B — столбец, соответствующий экспериментальным значениям;

[X; Y] — диапазон 6 концентраций в таблице.

В результате первая строка табл. З заполняется следующим образом: 0,17 ч — 38 нг/мл, измеренная величина. Далее следует процедура ресемплинга 0,5 ч — $\mathbb{N} 26$ (470); 1 ч — $\mathbb{N} 24$ (68); 2 ч — $\mathbb{N} 26$ (88); 4 ч — $\mathbb{N} 24$ (121); 8 ч — $\mathbb{N} 24$ (20). В дальнейшем эту операцию повторяют 36 раз для каждой из сравниваемых композиций. Смоделированные с помощью ресемплинга $\mathbb{N} 24$ ч — $\mathbb{N} 24$ славниваемых композиций. Смоделированные с помощью ресемплинга $\mathbb{N} 24$ ч — $\mathbb{N} 24$ ч — $\mathbb{N} 24$ ч — $\mathbb{N} 24$ славниваемых композиций. Смоделированные с помощью ресемплинга $\mathbb{N} 24$ ч — $\mathbb{N} 24$

Статистический анализ сгенерированных данных выполняли с помощью программы Stata v. 12.

Результаты и обсуждения

В результате процедуры ресемплинга были получены выборки из 36 наборов значений концентрации для каждой лекарственной формы, позволившие рассчитать индивидуальные ΦK -параметры для каждого

Таблица 3 Пример смоделированных путём ресемплинга данных по концентрации ресвератрола (после введения Ref)

».c	Время после введения препарата (ч)							
№	0,17	0,5	1	2	4	8		
1	38	470	68	88	21	20		
2	20	39	34	38	20	20		
3	44	470	34	38	21	2		
16	44	13	68	88	21	24		
25	20	470	100	44	21	11		
35	204	470	45	44	21	20		
36	38	131	34	35	31	24		
Среднее	63	153	78	54	22	17		
SD	60	176	33	22	8	8		

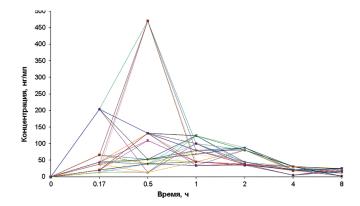


Рис. 1. Фармакокинетические профили ресвератрола, полученные на основе процедуры ресемплинга (после введения субстанции Ref)

 Таблица 4

 Описательная статистика концентрации композиций ресвератрола после ресемплинга

Лек. форма	Время, ч	Среднее	SD	SE	Минимум	Медиана	Максимум	Размах
D. C	0,17	64	66	11	13	41	204	191
	0,5	134	157	26	13	53	470	457
	1	76	31	5	34	79	124	90
Ref	2	55	22	4	35	44	88	53
	4	22	9	1	5	21	31	26
	8	18	8	1	2	18	26	24
	0,17	508	164	27	331	450	843	512
	0,5	292	81	13	149	293	404	255
T	1	60	6	1	48	62	65	17
I	2	59	41	7	37	41	150	113
	4	58	7	1	50	57	69	19
	8	24	3	1	19	26	28	9
V	0,17	512	227	38	120	587	843	723
	0,5	638	432	72	160	572	1421	1261
	1	74	22	4	29	90	97	68
V	2	155	237	39	23	45	673	650
	4	73	103	17	22	25	305	283
	8	28	21	4	9	13	57	48

 Таблица 5

 Описательная статистика ФК-параметров разных лекарственных композиций ресвератрола

ФК-параметр	Лек. форма	Среднее	SD	SE	Минимум	Медиана	Максимум	Размах
λz	I	0,22	0,09	0,01	0,10	0,26	0,34	0,24
	Ref	0,24	0,15	0,03	0,06	0,21	0,62	0,56
	V	0,29	0,11	0,02	0,14	0,27	0,68	0,54
	I	3,89	1,76	0,29	2,07	2,62	7,18	5,11
$T_{1/2}$	Ref	3,92	2,43	0,40	1,11	3,37	11,46	10,35
,	V	2,72	0,87	0,15	1,02	2,62	5,08	4,05
	I	68	8	1	50	69	84	33
Cl/F	Ref	128	41	7	69	122	245	176
	V	58	25	4	21	56	111	90
	I	2,31	0,18	0,03	1,83	2,32	2,63	0,79
MRT	Ref	2,63	0,50	0,08	1,53	2,63	3,63	2,10
	V	2,03	0,62	0,10	0,97	2,04	3,18	2,21
	I	0,20	0,09	0,02	0,17	0,17	0,50	0,33
T_{max}	Ref	0,79	0,57	0,09	0,17	0,50	2,00	1,83
	V	0,45	0,42	0,07	0,17	0,50	2,00	1,83
	I	376	154	26	183	294	637	454
V/F	Ref	648	273	45	148	595	1204	1056
	V	242	143	24	31	251	531	501
	I	605	81	13	481	595	781	300
AUC	Ref	312	91	15	170	287	538	368
	V	955	548	91	392	690	2408	2015
	I	513	160	27	331	450	843	512
C_{max}	Ref	176	140	23	45	124	470	425
	V	770	361	60	160	673	1421	1261

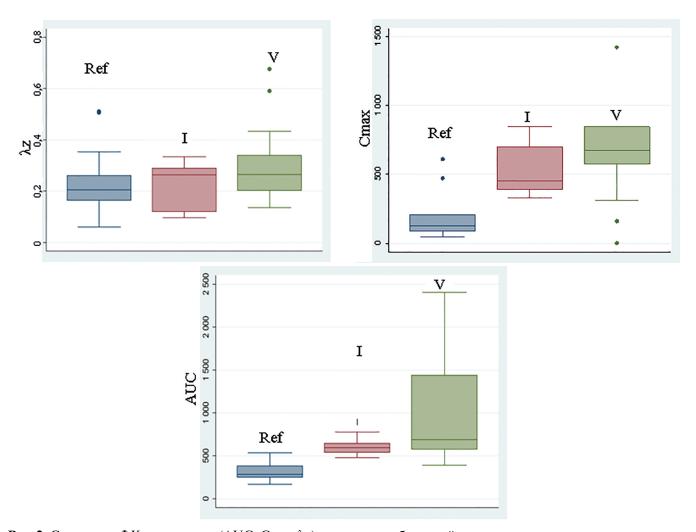


Рис. 2. Сравнение Φ К-параметров (AUC, C_{max} и λz) изучаемых субстанций ресвератрола

животного. Данные выборки подвергали статистическому анализу, включающему оценку распределения и его основных характеристик (средних, стандартного отклонения (SD)).

Описательная статистика величины концентраций приведена в табл. 4, а Φ K-параметров — в табл. 5.

Графическая интерпретация анализа значений λz , C_{max} и AUC представлена на рис. 2. концентрации и AUC ресвератрола в трёх выборках (Ref - I - V).

Для дальнейшего анализа, данные были проверены на их принадлежность к нормальному распределению при помощи теста Шапиро—Уилка. Результаты проверки показали, что распределение этих данных существенно отличаются от нормального (p-величина для всех Φ K-параметров была меньше 0,05).

Поскольку полученные значения параметров не соответствуют нормальному распределению, для проверки их различий в трёх группах использовали критерий Краскела-Уоллиса, иногда ещё называемый непараметрическим дисперсионным анализом [10].

Анализ данных при помощи критерия Краскела-Уоллиса показал, что эти параметры отличаются для 3 исследованных групп. Для последующего попарного

Varrance	ФК-параметры					
Критерий	λz	C _{max}	AUC			
Краскела—Уоллиса (все группы)	0,018	p < 0,001	p < 0,001			
Данна (REF vs. I)	0,830	<i>p</i> < 0,001	p < 0,001			
Данна (REF vs. V)	0,030	p < 0,001	p < 0,001			
Данна (I vs. V)	0,030	0,008	0,120			

сравнения между группами использовали тест Данна (с учётом поправки на множественность сравнений). Результаты выполненных тестов в виде достигнутого уровня значимости (*p*-величины) приведены в табл. 6.

Заключение

Метод ресемплинга, примененный к набору рассеянных данных, позволяет рассчитать значения ФК- параметров, провести их статистическую обработку и дать адекватную оценку различий между экспериментальными группами.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Конфликт интересов. Статья не имела спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за

предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мирошниченко Игорь Иванович

ORCID ID: 0000-0003-4950-5336

SPIN-код: 4117-9703

д. м. н., зав. лабораторией фармакокинетики

ФГБНУ НЦПЗ, Россия, Москва

Симонов Анатолий Никифорович

ORCID ID: 0000-0003-0564-932X

SPIN-код: 7087-8653

к. б. н., в. н. с. лаборатории доказательной

медицины и биостатистики ФГБНУ НЦПЗ, Россия, Москва

Кузьмин Иван Игоревич

ORCID ID: 0000-0002-9326-4683

SPIN-код: 1442-0325

м. н. с. лаборатории лаборатории

доказательной медицины и биостатистики,

ФГБНУ НЦПЗ, Россия, Москва

Платова Ангелина Игоревна Автор, ответственный за переписку

e-mail: platova@psychiatry.ru ORCID ID: 0000-0002-9682-4623

SPIN-код: 6656-2194

м. н. с. лаборатории фармакокинетики

ФГБНУ НЦПЗ, Россия, Москва

Miroshnichenko Igor I.

ORCID ID: 0000-0003-4950-5336

SPIN code: 4117-9703

D. Sci. in Medicine, Head of pharmacokinetics

laboratory, FSBSI MHRC, Russia, Moscow

Simonov Anatoliy N.

ORCID ID: 0000-0003-0564-932X

SPIN code: 7087-8653

Candidate of Biological Sciences, Head of laboratory of evidence-based medicine and biostatistics,

FSBSI MHRC, Russia, Moscow

Kuzmin Ivan I.

ORCID ID: 0000-0002-9326-4683

SPIN code: 1442-0325

Research assistant of laboratory of evidence-based medicine and biostatistics, FSBSI MHRC, Russia,

Moscow

Platova Angelina I. Corresponding author

e-mail: platova@psychiatry.ru ORCID ID: 0000-0002-9682-4623

SPIN code: 6656-2194

Research assistant of pharmacokinetics laboratory,

FSBSI MHRC, Russia, Moscow

Литература / References

- 1. Gabrielsson J, Weiner D. Non-compartmental Analysis. In: Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.). *Methods Mol Biol.* 2012;(929):377–389. DOI: 10.1007/978-1-62703-050-2_16
- 2. Madrigal-Bujaidar E, Pérez-Montoya E, García-Medina S, et al. Pharmacokinetic parameters of ifosfamide in mouse pre-administered with grapefruit juice or naringin. *Sci Rep.* 2019;9(1). DOI: 10.1038/s41598-019-53204-3
- 3. Оганесян ЕА, Мирошниченко ИИ, Вихриева НС, и др. Повышение системной биодоступности транс-резвератрола с использованием наночастиц // *Химико-фармацевтический журнал.* −2010. Т. 44. № 2. С. 25—28. [Oganesyan EA, Miroshnichenko II, Vihrieva NS, et al. Enhanced systemic bioavailability of nanoparticle based formulations of trans-resveratrol. *Himiko-farmacevticheskij zhurnal.* 2010;44(2):25—28 (In Russ).] DOI: 10.30906/0023-1134-2010-44-2-25-28
- 4. Сергиенко В.И., Джеллифф Р. Бондарева И.Б. Прикладная Фармакокинетика: *Основные Положения и Клиническое Применение.* — М.: Издательство РАМН; 2003. [Sergienko VI, Dzhelliff R, Bondareva IB. Prikladnaya Farmakokinetika: *Osnovnye Polozheniya i Klinicheskoe Primenenie*. Moscow: Izdatel'stvo RAMN; 2003. (In Russ).]

- 5. Chauzy A, Nadji A, Combes J-C, et al. Cerebrospinal fluid pharmacokinetics of ceftaroline in neurosurgical patients with an external ventricular drain. *J Antimicrob Chemother*. 2018;74(3):675–681. DOI: 10.1093/jac/dky489
- 6. Chu H-M, Ette EI. A random sampling approach for robust estimation of tissue-to-plasma ratio from extremely sparse data. AAPS J. 2005;7(1): E249-E258. DOI: 10.1208/aapsj070124
- 7. Mahmood I. Naive pooled-data approach for pharmacokinetic studies in pediatrics with a very small sample size. *Am J Ther.* 2014;21(4):269–274. DOI: 10.1097/MJT.0b013e31824ddee3
- 8. Raje AA, Mahajan V, Pathade V V, et al. Capillary microsampling in mice: effective way to move from sparse sampling to serial sampling in pharmacokinetics profiling. Xenobiotica. 2020;50(6):663–669. DOI: 10.1080/00498254.2019.1683259
- 9. Wang T, Baron K, Zhong W, Brundage R, Elmquist W. Bayesian approach to estimate AUC, partition coefficient and drug targeting index for studies with serial sacrifice design. Pharm Res. 2014;31(3):649–659. DOI: 10.1007/s11095-013-1187-0
- 10. Гржибовский МА. Анализ трех и более независимых групп количественных данных // Экология человека. -2008. № 3. С. 50—58. [Grzhibovskij MA. Analysis of three and more independent groups of quantitative data. *Ekologiya cheloveka*. 2008;(3):50—58. (In Russ).]

Статья поступила в июне 2020 г.

Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксичности таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 (N-бензил-N-метил-1-фениопирроло[1,2-а]пиразин-3-карбоксамида)

Коваленко Л. П., Коржова К. В., Журиков Р. В., Дурнев А. Д.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Аннотация. Проведено исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксического действия таблетированной лекарственной формы препарата ГМЛ-1(N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-а]пиразин-3-карбоксамида), лиганда транслокаторного белка(ТSPO), обладающего выраженной анксиолитической активностью. Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксического действия ГМЛ-1 выполнено на самцах морских свинок альбиносов массой 250–300 г и на самцах мышей линий СВА, C57BL/6, гибридах F₁(CBAxC57BL/6). При оценке иммунотоксичности ГМЛ-1 вводили мышам перорально 14 дней в дозах 2,2 мг/кг и 22 мг/кг, при изучении аллергенности ГМЛ-1 морским свинкам альбиносам вводили препарат в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, согласно стандартным схемам иммунизации. Результаты проведённого исследования иммунотоксичности и аллергенности ГМЛ-1 позволяют заключить, что введение таблетированной лекарственной формы препарата ГМЛ-1 в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия и не обладает аллергизирующими свойствами.

Ключевые слова: таблетированная лекарственная форма ГСБ-106; фагоцитоз; хемилюминесценция; гуморальный иммунный ответ; клеточный иммунный ответ; иммунотоксичность; реакция системной анафилаксии; гиперчувствительность замедленного типа; реакция воспаления на Кон А

Для цитирования:

Коваленко Л. П., Коржова К. В., Журиков Р. В., Дурнев А. Д. Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксичности таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 (N-бензил-N-метил-1-фениопирроло[1,2-а]пиразин-3-карбоксамида) // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 2. – С. 34–36. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-34-36

Evaluation of allergenic properties and immunotoxicity tablet dosage form GML-1 (N-benzyl-N-methyl-1-phenylpyrrolo[1,2-a]pyrazin-3-carboxamide)

Kovalenko LP, Korzhova KV, Zhurikov RV, Durnev AD FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Abstract. The study of allergenic properties and immunotoxic effects of the ready-to-use drug form of GML-1 (N-benzyl-N-methyl-1-phenylpyrrolo[1,2-a] pyrazin-3-carboxamide), compounds with high TSPO affinity and pronounced anxiolytic activity, was carried out. The study of allergenic properties and immunotoxicity of GML-1 was performed on male albino guinea pigs weighing 250-300 g and on male CBA, C57BL / 6, F1 hybrids (CBAxC57BL/6) mice. When assessing immunotoxicity, GML-1 was inject to mice per os for 14 days in doses of 2.2 mg / kg and 22 mg / kg. When studying the allergenicity, GML-1 was injected to albino guinea pigs in doses of 1 mg / kg and 10 mg / kg according to standard regimens of immunization. The results of the study of the immuno-toxicity and allergenicity of GML-1 allow us to conclude that the injection of tablet dosage form of GML-1 in the range of studied doses does not have an immunotoxic effect and allergenic properties.

Keywords: tablet dosage form of GML-1 (N-benzyl-N-methyl-1-phenylpyrrolo[1;2-a]pyrazin-3-carboxamide); phagocytosis; chemiluminescence; humoral immune response; cellular immune response; immunotoxicity; systemic anaphylaxis; delayed hypersensitivity; concanavalin A-induced inflammation

For citations:

Kovalenko LP, Korzhova KV, Zhurikov RV, Durnev AD. Evaluation of allergenic properties and immunotoxicity tablet dosage form GML-1 (N-benzyl-N-methyl-1-phenylpyrrolo[1,2-a]pyrazin-3-carboxamide). Farmakokinetika i farmakodinamika. 2020;(2):34–36. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-34-36

Введение

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» синтезировано оригинальное соединение N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-а]пиразин-3-карбоксамид (ГМЛ-1), лиганд транслокаторного белка (ТЅРО), обладающее выраженной анксиолитической активностью. Экспериментами в приподнятом крестообразном лабиринте было установлено, что анксиолитический эффект ГМЛ-1 полностью блокируется ингибиторами ферментов нейростероидогенеза трилостаном и финастеридом [1, 2].

Целью данной работы являлось доклиническое изучение аллергизирующих свойств и иммунотоксического действия таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1.

Материалы и методы

Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксического действия таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 выполнено на сертифицированных лабораторных животных: самцах мышей линий СВА, С57BL/6, гибридах F1(CBAxC57BL/6) массой

18—20 г., самцах морских свинок альбиносов массой 250—300 г., клинически здоровых особях, полученных из питомников «Столбовая» и «Андреевка».

При оценке иммунотоксичности ГМЛ-1 мышам опытных групп 14 дней перорально вводили лекарственную форму препарата в дозах 2,2 и 22 мг/кг (активного вещества), при изучении аллергенности ГМЛ-1 морским свинкам альбиносам вводили препарат в дозах 1 и 10 мг/кг, согласно стандартным схемам иммунизации. При изучении иммунотоксичности в качестве контроля мышам контрольных групп вводили дистиллированную воду, при изучении аллергенности — воду для инъекций. Каждая группа включала 10 животных.

При изучении иммунотоксичности ГМЛ-1 использовали следующие методы:

- определение массы и клеточности органов иммунной системы мышей-гибридов F_1 (CBA×C57BL/6);
- оценка фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мышей-гибридов F_1 (CBA×C57BL/6);
- оценка активности нейтрофилов в тесте хемилюминесценции на мышах-гибридах F₁ (CBA×C57BL/6);
- постановка реакции гиперчувствительности замедленного типа на мышах-гибридах $F_i(CBA \times C57BL/6)$;
- постановка реакции гемагтлютинации на мышах линии CBA и линии C57BL/6 [3, 4].

При оценке аллергенности ГМЛ-1 проводили постановку реакции общей системной анафилаксии и активной кожной анафилаксии на морских свинках альбиносах; при изучении реакции гиперчувствительности замедленного типа морских свинок альбиносов иммунизировали ГМЛ-1 в смеси с полным адъювантом Фрейнда. Наличие псевдоаллергических реакций на таблетированную лекарственную форму ГМЛ-1 изучали в реакции воспаления на неиммунологический активатор конканавалин А (Кон А) на мышах линии СВА [2]. Для всех показателей иммунотоксикологических исследований с нормальным распределением проводили межгрупповые сравнения по непарному *t*-критерию Стьюдента. Для множественных сравнений показателей с распределением, отличающимся от нормального, применяли непараметрический критерий Манна-Уитни, различия считали статистически значимыми при p < 0.05.

Результаты и обсуждение

При оценке иммунотоксичности ГМЛ-1 было выявлено, что 14-дневное пероральное введение препарата в дозах 2,2 мг/кг и 22 мг/кг мышам-гибридам F_1 (CBA×C57BL/6) не оказывало значимого влияния на массу и клеточность тимуса, селезёнки и подколенных лимфатических узлов.

Курсовое введение ГМЛ-1 в дозах 2,2 и 22 мг/кг не влияло на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у мышей-гибридов F_1 (CBA×C57BL/6).

Двухнедельное пероральное введение ГМЛ-1 в дозах 2,2 и 22 мг/кг не оказывало достоверного влияния на параметры хемилюминесценции полиморфноядерных гранулоцитов, активированных опсонизированным зимозаном.

Введение ГМЛ-1 на протяжении 14 дней в дозах 2,2 и 22 мг/кг перорально мышам линий СВА и С57ВL/6 не вызывало значимого влияния на антителообразование по сравнению с данными контрольных групп. Двухнедельное пероральное введение ГМЛ-1 в дозах 2,2 и 22 мг/кг мышам гибридам F1 (СВА×С57ВL/6) также не вызывало значимой стимуляции клеточного иммунитета по сравнению с контрольной группой.

Результаты проведённого исследования иммунотоксичности ГМЛ-1 позволяют заключить, что введение препарата ГМЛ-1 в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия.

При оценке аллергенности введение ГМЛ-1 по стандартной схеме иммунизации в дозах 1 и 10 мг/кг (по активному веществу) не вызывало у морских свинокальбиносов системной реакции анафилаксии и реакции активной кожной анафилаксии. После иммунизации морских свинок препаратом ГМЛ-1 в дозах 1 и 10 мг/кг в смеси с полным адъювантом Фрейнда (ПАФ) на 21-й день опыта у всех животных опытных групп при внутрикожном (в/к) введении разрешающей дозы препарата не выявлено аллергических реакций замедленного типа.

Однократное пероральное введение ГМЛ-1 в дозах 2,2 и 22 мг/кг мышам линии СВА не вызывало значимого уменьшения реакции воспаления на Кон А по сравнению с данными контрольной группы.

Проведённое исследование не установило данных, препятствующих клиническому испытанию таблетированной лекарственной формы препарата ГМЛ-1.

Заключение

Результаты проведённого комплексного исследования позволяют заключить, что таблетированная лекарственная форма потенциального анксиолитика ГМЛ-1 в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия, не вызывает системной реакции анафилаксии, активной кожной анафилаксии, гиперчувствительности замедленного типа и псевдоаллергических реакций.

Проведённое исследование не установило данных, препятствующих клиническому испытанию таблетированной лекарственной формы ГМЛ.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Конфликт интересов. Исследование выполнено в рамках Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу». Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Коваленко Лариса Петровна Автор, ответственный за переписку

e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru ORCID ID: 0000-0002-2083-0832

SPIN-код: 5185-4250

д. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Коржова Ксения Витальевна

ORCID ID: 0000-0002-8087-4976

SPIN-код: 3831-3782

м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Россия, Москва

Журиков Руслан Валерьевич

ORCID ID: 0000-0003-1084-690X

SPIN-код: 6648-1794

м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Дурнев Андрей Дмитриевич

ORCID ID: 0000-0003-0218-8580

SPIN-код: 8426-0380

д. м. н., профессор, член-корр. РАН, зав. отдела лекарственной токсикологии, директор ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

Kovalenko Larisa P. Corresponding author

e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru ORCID ID: 0000-0002-2083-0832

SPIN code: 5185-4250

D. Sci. in Biology, Leading Researcher of drug toxicology department FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Russia, Moscow

Korzhova Ksenia V.

ORCID ID: 0000-0002-8087-4976

SPIN code: 3831-3782

Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology»,

Russia, Moscow

Zhurikov Ruslan V.

ORCID ID: 0000-0003-1084-690X

SPIN code: 6648-1794

Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology»,

Russia, Moscow

Durnev Andrei D.

ORCID ID: 0000-0003-0218-8580

SPIN code: 8426-0380

D. Sci. in Medicine, professor, RAS corre-sponding member of the RAS, Head of the department of drug toxicology, Director FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Russia, Moscow

Литература / References

- 1. Яркова М.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Анксиолитическое действие оригинальных производных пирроло[1,2-а] пиразина, лигандов ТЅРО, зависит от биосинтеза нейростероидов // *Химико-фармацевтический журнал.* 2016. Т. 50. № 8. С. 3—6. [Yarkova MA, Mokrov GV, Gudasheva TA, Seredenin SB. Molecular-biological problems of drug design and mechanism of drug action: novel pyrrolo[1,2-A]pyrazines (tspo ligands) with anxiolytic activity dependent on neurosteroid biosynthesis. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2016;50(8): 3—6. (In Russ).]
- 2. Яркова М. А., Литвин А. А., Колыванов Г. Б., Жердев В. П., Середенин С. Б., Гегечкори В. И. Поиск взаимосвязи между анксиолитическим действием оригинального производного пирроло [1,2-а] пиразина, лиганда ТЅРО ГМЛ-1 и его концентрациями в плазме крови крыс // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2018. №2. С. 52—58. [Yarkova MA, Litvin AA, Kolyvanov GB, Zherdev VP, Seredenin SB, Gegechkori VI. Search of the correlation between anxiolytic effect of original derivative of pyrrolo[1,2-a]pyrazine TЅРО-ligand (GML-1) and its concentrations in the rat blood plasma. Farmakokinetika i farmakodinamika. 2018;(2):52—58. (In Russ).] DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10014
- 3. Коваленко Л.П., Федосеева В.Н., Дурнев А.Д. и др. Методические рекомендации по оценке аллергизирующих свойств лекарственных

средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. — М.: Гриф и K, 2012. — Гл.2. — С. 51—63. [Kovalenko LP, Fedoseeva VN, Durnev AD, et al. Metodicheskie recomendacii po otsenke allergiziruushchih svoistv lekarstvennih sredstv. Rukovodstvo po provedeniu doklinicheskih issledovanii lekarstvennih sredstv. Ch.1. Moscow: Grif i K, 2012; Ch.2:51—63. (In Russ).]

- 4. Хаитов Р.М., Иванова А.С., Коваленко Л.П. и др. Методические рекомендации по оценке иммунотоксического действия лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и K, 2012. Гл.3. С. 64—79. [Haitov RM, Ivanova AS, Kovalenko LP, et al. Metodicheskie recomendacii po otsenke immunotoksicheskogo deistviia farma-kologicheskih veshchestv. Rukovodstvo po provedeniu doklinicheskih issledovanii lekarstvennih sredstv. Ch.1. Moscow: Grif i K, 2012; Ch.3:64—79. (In Russ).]
- 5. Хаитов Р.М., Гущин И.С., Пинегин Б.В. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению иммунотропной активности фармакологических веществ. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. Гл. 38. С. 624—639. [Haitov RM, Gushchin IS, Pinegin BV, et al. Metodicheskie recomendacii po doklinicheskomu izucheniin munotropnoi aktivnosti farmakologicheskih veshchestv. Rukovodstvo po provedeniu doklinicheskih issledovanii lekarstvennih sredstv. Ch.1. Moscow: Grif i K. 2012; Ch.38:624—639. (In Russ).]

Статья поступила в июне 2020 г.

Роль уровня BDNF в формировании когнитивных нарушений у лиц среднего возраста

Пепеляев Е. Г.¹, Семенов В. А.¹, Громова О. А.²

¹ – ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Кемерово ² – ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, Иваново

Аннотация. *Актуальность*: рассматривается проблема когнитивных нарушений у лиц среднего возраста со стенозирующим атеросклерозом брахиоцефальных артерий и взаимосвязь между уровнем BDNF и когнитивным нарушением у данной группы лиц. *Материалы и методы*: в исследовании приняли участие 50 пациентов, средний возраст 52 года, с проявлениями стенозирующего атеросклероза брахиоцефальных артерий. В контрольную группу вошли 50 человек со средним возрастом 50 лет без признаков атеросклероза брахиоцефальных артерий. Всем пациентам проводилось нейропсихологическое тестирование и исследование уровня BDNF. *Результаты*: на основании наших наблюдений, выявленные особенности когнитивных нарушений у пациентов среднего возраста, гемодинамических характеристик, уровня содержания BDNF в плазме крови на додементных стадиях цереброваскулярных расстройств целесообразно учитывать при обследовании и планировании подходов к лечению больных с данной патологией.

Ключевые слова: когнитивные нарушения; BDNF; стенозирующий атеросклероз брахиоцефальных артерий

Для цитирования:

Пепеляев Е. Г., Семенов В. А., Громова О. А. Роль уровня BDNF в формировании когнитивных нарушений у лиц среднего возраста // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 2. – С. 37–41. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-37-41

BDNF level role in formation of cognitive violations at middle-aged persons

Pepelyaev EG¹, Semenov VA¹, Gromova OA²

- 1 FSBOU VO KemGMU Ministry of Health of Russia, Kemerovo;
- ² FSBOU VO IvGMA of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo

Abstract. *Relevance*: the problem of cognitive violations at middle-aged persons with stenoziruyushchy atherosclerosis of brakhiotsefalny arteries and interrelation between the BDNF level and cognitive violation at this group of persons is considered. *Materials and methods*: 50 patients whose average age 52 years with displays of stenoziruyushchy atherosclerosis of brakhiotsefalny arteries took part in research. The control group included 50 people with average age of 50 years without symptoms of atherosclerosis of brakhiotsefalny arteries. To all patients neuropsychological testing and research of the BDNF level was conducted. *Results*: on the basis of our supervision, it is expedient to consider the revealed features of cognitive violations at patients of middle age, haemo dynamic characteristics, level of maintenance of BDNF in blood plasma at dodementny stages of tserebrovaskulyarny frustration at inspection and planning of approaches to treatment of patients with this pathology.

Keywords: cognitive violations; BDNF; stenoziruyushchy atherosclerosis of brakhiotsefalny arteries

For citations:

Pepelyaev EG, Semenov VA, Gromova OA. BDNF level role in formation of cognitive violations at middle-aged persons. Farmakokinetika i farmakodinamika. 2020;(2): 37–41. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-37-41

Введение

Когнитивная функция — одна из наиболее сложных функций головного мозга. С её помощью осуществляется взаимосвязь человека с окружающим миром, а именно реализуются такие процессы, как восприятие, мышление, внимание, речь, память и двигательные навыки. Таким образом, когнитивная дисфункция представляет собой одну из наиболее актуальных проблем современной медицины.

Сосудистые когнитивные нарушения, по данным Яхно Н.Н. с соавт., состоят из следующих этапов формирования:

- сердечно-сосудистые заболевания без поражения головного мозга;
- клинически бессимптомные сосудистые поражения головного мозга;
 - лёгкие когнитивные нарушения;
 - умеренные когнитивные нарушения;
 - сосудистая деменция [9].

Лёгкие когнитивные нарушения, как понятие, в международной классификации отсутствует. Напротив, только лишь умеренные когнитивные нарушения и деменция, как структура заболевания, рассматриваются в настоящее время. Вследствие чего, дифференциация когнитивной недостаточности на стадии имеет формальный характер, так как речь идет о состояниях, фактически, плавно перетекающих из одного в другое [4].

В состоянии утомления или эмоционального страха наблюдаются отдельные симптомы в виде быстрой утомляемости при умственной деятельности, трудности сосредоточиться на чем-либо, повышенной забывчивости, которые не являются единым синдромом, но определяются как лёгкие когнитивные нарушения. Таким образом, использование нейропсихологических методов диагностики часто не выявляет отклонений от среднестатистических нормативов, либо эти отклонения не имеют значимости. В связи с чем, лёгкие когнитивные нарушения трудно объективизировать.

Но в то же время пациент, воспринимающий снижение своих интеллектуальных способностей по сравнению с исходным уровнем, может предъявлять жалобы когнитивного характера. Лёгкие когнитивные нарушения не оказывают влияния на социальную, бытовую и профессиональную деятельность пациента. Заподозрить лёгкое когнитивное нарушение можно на основании жалоб пациента. При этом, соответственно, необходимо выполнить оценку эмоционального статуса, с целью исключения депрессии. При наличии вышеперечисленных состояний необходимо провести терапию, которая возможно приведёт к улучшению не только эмоционального статуса, но и когнитивных функций [4].

Расстройства когнитивных функций, которые значительно выходят за рамки среднестатистической возрастной нормы, но не сопровождаются нарушением адаптации в повседневной жизни, но могут приводить к затруднениям в необычных и сложных для пациента ситуациях, характеризуются как умеренные когнитивные нарушения. По сравнению с лёгкими когнитивными нарушениями, умеренные представляют собой клинически очерченный синдром, а не отдельные симптомы. Вместе с тем, когнитивные расстройства имеют как субъективный, так и объективный характер. Умеренные когнитивные нарушения приводят к избыточному психофизиологическому перенапряжению при интеллектуальной работе, при этом не вызывают расстройств социально-бытовой и профессиональной адаптации пациента. Впервые, в 1999 году специалистами из клиники Мейо, США, были предложены диагностические критерии и термин синдрома умеренных когнитивных расстройств. Изначально эта формулировка диагноза предназначалась для определения додементных когнитивных нарушений идиопатической этиологии, предположительно имеющей связь с продромальными стадиями болезни Альцгеймера [4].

Для диагностики умеренных когнитивных расстройств в новых критериях [4, 16] не обязательно наличие нарушения памяти, так же могут страдать и другие когнитивные сферы, такие как речь, гнозис, праксис, управляющие функции:

- наличие умеренного когнитивного дефицита, не достигающего выраженности деменции;
- свидетельства от третьих лиц о когнитивных нарушениях или жалобы когнитивного характера самого пациента;
- по данным нейропсихологических методов исследования, объективные свидетельства когнитивных нарушений;
- отсутствие выраженных нарушений повседневной активности

По результатам международных эпидемиологических исследований, от 3 до 24 % лиц старше 60 лет имеют изменения, которые соответствуют критериям синдрома умеренных когнитивных нарушений [4].

В Российской Федерации распространённость додементных когнитивных нарушений составила 44 %, согласно результатам исследования «Прометей» [3].

Достаточно серьёзное значение в прогностическом отношении имеет диагноз «синдром умеренных когнитивных нарушений». Согласно ретроспективным данным, у 10-15~% пациентов с данным диагнозом в течение года развивается деменция, что в 5-15 раз чаще среднестатистических популяционных показателей (1-2~%) [4, 15]. На стадию деменции переходят до 80~% пациентов за 6~ лет наблюдения.

Тяжёлые когнитивные нарушения — это расстройства когнитивных функций, приводящие к частичной или полной утрате самостоятельности пациента в социально-бытовой и профессиональной сферах, а также вызывают зависимость от посторонней помощи в повседневной жизни. К тяжёлым когнитивным нарушениям относятся деменция и выраженные монофункциональные когнитивные расстройства: агнозия или апраксия, грубая афазия, корсаковский синдром. Наличие деменции или других видов тяжёлых когнитивных нарушений свидетельствует о значительном поражении головного мозга, чаще всего развивающегося на фоне длительно текущего патологического процесса. В большинстве случаев прогноз неблагоприятный, в связи с тем, что тяжёлые когнитивные расстройства чаще всего носят прогрессирующий характер [4].

В основном, цереброваскулярные нарушения выявляются только у лиц пожилого возраста. Однако в последние годы отмечается тенденция к увеличению встречаемости данной патологии среди трудоспособных лиц молодого и среднего возраста [7]. Таким образом, в настоящее время очень важна своевременная диагностика умеренных когнитивных нарушений, потому что терапевтические вмешательства имеют наибольшую эффективность именно на этой стадии.

В последние годы выявлена тенденция роста числа больных с когнитивными расстройствами. Эти проявления приводят не только к снижению качества жизни, нарушению профессиональной и социальной деятельности человека, но и в ряде случаев к инвалидности пациента, развитию у него полной зависимости от окружающих. В связи с чем, когнитивные нарушения в настоящее время имеют огромную социально-экономическую значимость.

По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), деменция, как тяжёлая форма когнитивных нарушений, входит в число самых «дорогих» болезней для общества, наряду с онкологическими и кардиологическими заболеваниями [2].

Формированию когнитивных нарушений способствует атеросклеротическое поражение магистральных артерий головного мозга, в результате которого происходит изменение мозгового кровообращения, развиваются стенозирующие и окклюзионные поражения артерий головного мозга. Возникает снижение возможности коллатерального кровотока и происходит

увеличение периферического сосудистого сопротивления [8]. Вышеперечисленные изменения мозгового кровообращения способствуют возникновению гипоксии головного мозга, а в результате и развитию когнитивных расстройств [2, 5, 9]. Ключевым звеном патогенеза разнообразных заболеваний и патологических состояний является гипоксия. Гиппокамп, являющийся частью лимбической системы, особенно чувствителен к гипоксии. Среди факторов, способных контролировать метаболизм клеток головного мозга при кислородной недостаточности, выделяют нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), действие которого осуществляется через LNGFR и TrkB-рецепроры [12]. BDNF способствует выживанию клеток, т. е. нейропластичности и обладает широким рядом функциональных свойств. В период развития BDNF принимает участие в дифференцировке нейронов, их функциональной матурации, а также в синаптогенезе. Во взрослом организме одной из наиболее значимых ролей нейротрофического фактора головного мозга является нейропротекция, а именно осуществление защиты нейронов головного мозга от ишемических атак и мотонейронов от гибели, индуцируемой аксотомией [10, 11, 13, 14].

Целью настоящего исследования явилось изучение количественного содержание мозгового нейротрофического фактора сыворотки крови человека (BDNF) и его влияния на когнитивные функции пациентов среднего возраста со стенозирующим атеросклерозом брахиоцефальных артерий.

Материалы и методы

В клиническом наблюдении, проведённом на базе клинического госпиталя МСЧ МВД России по Кемеровской области, приняли участие 100 человек после подписания информированного согласия. Были сформированы две группы.

Первая группа в количестве 50 человек, средний возраст которых составил 52 года, с проявлениями стенозирующего церебрального атеросклероза брахиоцефальных артерий. Вторая группа в количестве 50 человек со средним возрастом 50 лет без проявлений церебрального атеросклероза брахиоцефальных артерий.

Группы сопоставимы по полу, возрасту, трудовому и образовательному статусу, вредным привычкам, качеству жизни.

Критериями исключения были: наличие в анамнезе тяжёлых ЧМТ, ОНМК, беременности, период лактации, тяжёлое течение СД, печёночная, почечная, сердечно-сосудистая недостаточность, онкологические заболевания.

Использовались: опросник «качество жизни — неврологический модуль», шкала BDI, методика А.Р. Лурия «10 слов», методика «таблица Шульте», таблица ММSE, методика исследования зрительнопространственного гнозиса.

Всем пациентам проводился неврологический осмотр, исследовался общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимические показатели крови для исключения сопутствующей патологии, проводились ЭКГ, допплероскопия брахиоцефальных артерий, при необходимости МРТ головного мозга. У всех пациентов осуществлялся забор крови для исследования уровня BDNF.

Для исследования уровня BDNF в плазме крови на основе количественного иммуноферментного метода сэндвичевого типа твёрдофазным иммуноферментным методом (ELISA) использованы наборы для количественного определения BDNF человека в плазме; использовался иммуноферментный фотомер ImmunoGlum-2100 (США). Использованы стандарты — 3 флакона (8 нг/флакон), содержащих рекомбинантный человеческий BDNF в белковом буфере с консервантами, лиофилизированный на 96 проб. Предварительное одностадийное разбавление образцов в соотношении 1:20. Общее время инкубации — 210 мин при 20—25 °C. Минимальное среднее детектируемое количество BDNF — менее 20 пг/мл.

Грант РФФИ №19-07-00356.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью STATISTICA 6,0 для Windows. При статистической обработке данных различия считались значимыми при p < 0.05.

Результаты и обсуждение

В результате исследования мы отметили, что женщины с проявлениями церебрального атеросклероза в большей степени, по сравнению с мужчинами, предъявляют жалобы на ухудшение памяти, внимания и различные эмоциональные нарушения (78 и 52 %, соответственно).

В результате исследования у большинства пациентов первой группы преимущественно преобладал астено-невротический синдром в виде быстрой утомляемости, общей слабости, снижения памяти, раздражительности, головных болей, нарушение сна. В неврологическом статусе была незначительная рассеянная неврологическая симптоматика. Во второй группе пациентов астено-невротический синдром встречался редко.

При использовании шкалы Бека (BDI) не было выявлено депрессивных проявлений у пациентов в первой и во второй группах в 58 и 72 % случаев, соответственно (p > 0.05).

Результаты тестов Шульте на эффективность работы (ЭР) оказались достоверно ниже в первой группе, где пациенты набрали 3 балла в 40 % случаях, по сравнению со второй группой: 5 баллов в 40 % случаях (p < 0.01) (рис. 1).

В первой группе достоверно меньше психическая устойчивость (ПУ) к выполнению заданий по сравнению со второй группой (p < 0.01) (рис. 2).

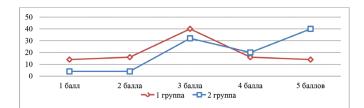


Рис. 1. Таблица Шульте ЭР

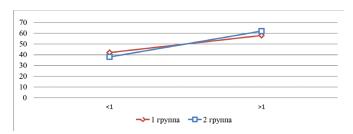


Рис. 2. Таблица Шульте ПУ

При исследовании уровня памяти методом А.Р. Лурия «10 слов» (непосредственное, отсроченное и суммарный балл): достоверно хуже в первой группе, результат составил всего 60 %, тогда как во второй — 80 % (p < 0.001) (рис. 3).

По данным теста MMSE, лёгкие когнитивные расстройства выявлены у пациентов в первой группе в 58 % случаев, а во второй группе — в 40 % случаев (p < 0.01) (рис. 4).

При определении содержания уровня BDNF в сыворотке крови у наблюдаемых пациентов было достоверно установлено, что в первой группе данный показатель значительно ниже (26,8 пг/мл) по сравнению со второй группой (35,5 пг/мл) (p < 0,01).

В результате проведённого исследования установлено, что уровень содержания BDNF в плазме крови у пациентов среднего возраста с проявлениями стенозирующего атеросклероза брахиоцефальных артерий и лёгкими когнитивными расстройствами достоверно ниже.

По данным литературы, снижение уровня нейротрофического фактора характерно для лиц старческого возраста, когда имеются явные признаки когнитивных нарушений на фоне хронической ишемии головного мозга [17]. Известно, что дефицит церебральных нейротрофических факторов считается результатом угнетения их синтеза в условиях гипоксии вещества головного мозга. Поэтому уровень BDNF у

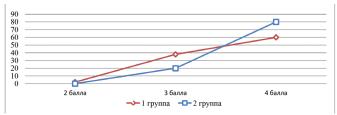


Рис. 3. Методика А.Р. Лурия «10 слов»

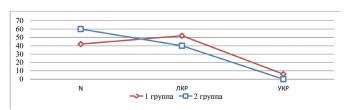


Рис. 4. Шкала MMSE

лиц среднего возраста, в том числе у пациентов с начальными проявлениями когнитивной дисфункции можно рассматривать в качестве прогностического маркера для пациента с цереброваскулярными заболеваниями [1, 6].

Выводы

Таким образом, выявленные особенности когнитивных нарушений, гемодинамических характеристик, уровня содержания BDNF в плазме крови на додементных стадиях цереброваскулярных расстройств целесообразно учитывать при обследовании и планировании подходов к лечению больных с данной патологией.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Конфликт интересов. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пепеляев Евгений Геннадьевич Автор, ответственный за переписку

e-mail: nevropep@yandex.ru ORCID ID: 0000-0002-9574-2474 аспирант кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, Кемерово

Pepelyaev Evgeniy Corresponding author

e-mail: nevropep@yandex.ru ORCID ID: 0000-0002-9574-2474 graduate student of department of neurology, neurosurgery and medical genetics FSBOU VO KemGMU Ministry of Health of Russia, Kemerovo

Семенов Владимир Александрович

ORCID ID: 0000-0002-8958-6495

SPIN-код: 9741-3771

д. м. н., профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, Кемерово

Громова Ольга Алексеевна

ORCID ID: 0000-0002-7663-710X

SPIN-код: 6317-9833

д. м. н, профессор кафедры фармакологии с клинической фармакологией, ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России, Иваново

Semenov Vladimir

ORCID ID: 0000-0002-8958-6495

SPIN code: 9741-3771

DM, professor, manager of department of neurology, neurosurgery and medical genetics FSBOU VO KemGMU Ministry of Health of Russia, Kemerovo

Gromova Olga

ORCID ID: 0000-0002-7663-710X

SPIN code: 6317-9833

DM, professor of department of pharmacology with clinical pharmacology, FSBOU VO IvGMA of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo

Литература / References

- 1. Боголепова АН, Чуканова ЕИ. Проблема нейропластичности в неврологии // Журнал неврологии и психиатрии. -2010.-T.110.-№ 8.-C.72-75. [Bogolepova AN, Chukanova EI. Problem of neuroplasticity in neurology. *Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakov.* 2010;110(8):72-75. (In Russ).]
- 2. Гусев ЕИ, Боголепова АН. Когнитивные нарушения при цереброваскулярных заболеваниях. М.: МЕДпресс-информ; 2013. 160 с. [Gusev EI, Bogolepova AN. Cognitive violations at tserebrovaskulyarny diseases. Moscow: Medical press-inform; 2013. (In Russ).]
- 3. Захаров В.В. Всероссийская программа исследований эпидемиологии и терапии когнитивных расстройств в пожилом возрасте («Прометей») // Неврологический журнал 2006. Т. 11. № 2. С. 27—32. [Zakharov VV. All-Russia epidemiological and therapeutic investigation concerning cognitive impairment in the elderly ("Prometheus"). Neurological Journal. 2006;11(2):27—32. (In Russ).]
- 4. Парфенов В.А., Захаров В.В., Преображенская И.С. Когнитивные расстройства. М.: Группа ремедиум; 2014. 192c. [Parfyonov WA, Zakharov VV, Preobrazhenskiy IS. Cognitive frustration. Moscow: Group remedium; 2014. (In Russ).]
- 5. Старчина Ю.А., Парфенов В.А. Когнитивные расстройства при цереброваскулярных заболеваниях: диагноз и лечение // PMM. He-врология. 2008. T. 16. № 12. C. 1-3. [Starchina YuA, Parfyonov WA. Kognitivnye rasstrojstva pri cerebrovaskulyarnyh zabolevaniyah: diagnoz i lechenie. RMZh. Neurology. 2008;16(12):1-3. (In Russ).]
- 6. Субботин А.В., Семенов В.А., Гетманенко И.М., и др. Диагностика когнитивных нарушений на ранних стадиях сосудистых заболеваний головного мозга // Клиническая неврология. 2009. 1009. 1009. [Subbotin AV, Semenov WA, Getmanenko YM, et al. Diagnostics of cognitive violations at early stages of vascular diseases of a brain. Clinical neurology. 1009. 1009. [Clinical neurology. 1009.]
- 7. Топчий Н.В., Мовшич Б.Л., Денисова Н.В. Возможности врача общей практики в профилактике и лечении цереброваскулярных расстройств // PMЖ. Heврология. -2006. Т. 14. № 29. С. 2065-2074. [Topchy NV, Movshich BL, Denisova NV. Vozmozhnosti vracha obshchej

praktiki v profilaktike i lechenii cerebrovaskulyarnyh rasstrojstv. *RMZh. Neurology*. 2006;14(29):2065–2074. (In Russ).]

- 8. Тул Дж. Ф. Сосудистые заболевания головного мозга; руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 590с. [Toole JF. Sosudistye zabolevaniya golovnogo mozga; rukovodstvo dlya vrachej. Moscow: GEOTAR-media; 2007. (In Russ).]
- 9. Деменции: руководство для врачей / Н.Н. Яхно, В.В. Захаров, А.Б. Локшина, Н.Н. Коберская, Э.А. Мхитарян. М.: МЕД-пресс-информ; 2010. 272c. [Demencii: rukovodstvo dlya vrachej. Yakhno NN, Zakharov VV, Loshkina AB, Mkhitaryan EA. Moscow: MEDpress-inform; 2010. (In Russ).]
- 10. Castren E, Võikar V, Rantamäki T. Role of neurotrophic factors in depression. Curr Opin Pharmacol. 2007;7(1):18–21. DOI: 10.1016/j. coph.2006.08.009
- 11. Kuipers SD, Dramham CR. Brain-derived neurotrophic factor mechanisms and function in adult synaptic plasticity: new insights and implications for therapy. Curr Opin Drug Discov Devel. 2006;9(5):580–586.
- 12. Leibrock J, Lottspeich F, Hohn A, et al. Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nature*. 1989;34(6238): 149–152. DOI: 10.1038/341149a0
- 13. Martinowich K, Manjj H, Lu B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nat. Neurosci.* 2007;10(9):1089–1093. DOI: 10.1038/nn1971
- 14. Pearse AG. The common peptides and the cytochemistry of their cells of origin. *Basic Appl. Histochem.* 1989;(24):63–73.
- 15. Petersen RS, Smith GE, Waring SC, et al. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *JAMA Neurology*. 1999;56(3): 303–308. DOI: 10.1001/archneur.56.6.760
- 16. Portet F, Ousset PJ, Visser PJ et al. Mild cognitive impairment (MCI) in clinical practice: a critical review of the concept and new diagnostic procedure. Report of the MCI working group of the European consortium on Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiat*. 2006;77:714–718. DOI: 10.1136/jnnp.2005.085332
- 17. Waterhous EG, Xu B. New insights into the role of brain-derived neurotrophic factor in synaptic plasticity. *Mol Cell Neurosci.* 2009;42(2): 81–89. DOI: 10.1016/j.mcn.2009.06.009.

Статья поступила в декабре 2019 г.

No 2. 2020 **■**

О взаимосвязях между уровнями нейротрофического фактора мозга в крови, микроэлементов в волосах в молодом возрасте

Пепеляев Е. Г.¹, Семенов В. А.¹, Торшин И. Ю.², Громова О. А.³

- ¹ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, Кемерово
- ² ФИЦ Информатики и Управления РАН (Институт современных информационных технологий в медицине), Россия, Москва
 - ³ ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, Иваново

Аннотация. Проведено обследование здоровых молодых добровольцев 22 ± 1 ,4 лет (n=50) и определены уровни 48 микроэлементов в волосах. Показано, что уровни нейротрофического фактора мозга в плазме крови прямо пропорциональны уровням лития и меди в волосах. Рассмотрены нейротропные эффекты этих микроэлементов.

Ключевые слова: нейротрофический фактор мозга; микроэлементный состав волос; нейротропный эффект микроэлементов; молодой возраст

Для цитирования:

Пепеляев Е.Г., Семенов В.А., Торшин И.Ю., Громова О.А. О взаимосвязях между уровнями нейротрофического фактора мозга в крови, микроэлементов в волосах в молодом возрасте // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 2. – С. 42–48. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-42-48

About interrelations between levels of a neurotrophic factor of a brain in blood, microelements in hair at young age

Pepelyaev EG¹, Semenov VA¹, Torshin IYu², Gromova OA³

- ¹ FSBOU VO KemGMU Ministry of Health of Russia, Kemerovo
- $^2- Federal\ Research\ Center\ «Computer\ Science\ and\ Control»\ of\ the\ Russian\ Academy\ of\ Sciences,\ Russia,\ Moscow$
 - ³ FSBOU VO IvGMA of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo

Abstract. Examination of healthy young volunteers of 22 ± 1.4 years (n=50) is conducted and levels of 48 microelements in hair are determined. It is shown that levels of a neurotrophic factor of a brain in a blood plasma are directly proportional to levels of lithium and copper in hair. Neurotropic effects of these microelements are considered.

Keywords: neurotrophic factor of a brain; microelement structure of hair; neurotropic effect of microelements; young age

For citations:

No 2. 2020 ■

Pepelyaev EA, Semenov VA, Torshin IYu, Gromova OA. About interrelations between levels of a neurotrophic factor of a brain in blood, microelements in hair at young age. Farmakokinetika i farmakodinamika. 2020;(2):42–48. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-42-48

42

Введение

Определение уровней микроэлементов в различных биосубстратах (крови, волосах, и др.) является перспективным направлением изучения нейропатологических факторов риска и маркёров эффективности терапии. Микроэлементы играют значимую роль в обменных процессах при нормальном функционировании нервной системы, являясь, таким образом, химической основой функционирования ЦНС [1]. В частности, ранее были изучены различные аспекты взаимосвязи микроэлементного состава волос и риска ишемического инсульта [2], взаимосвязь уровней микроэлементов в различных отделах мозга с тяжестью ишемического поражения мозга [3, 4], взаимосвязи между уровнями микроэлементов в крови и состоянием пациентов с хронической ишемией мозга [5, 6].

В настоящей работе представлены результаты анализа взаимосвязи между профилем содержания микроэлементов в волосах, уровнями нейротрофического фактора мозга (BDNF) в плазме крови.

Материалы и методы

В исследовании принимали участие после подписания информированного согласия здоровые добровольцы (n=50), средний возраст 22 года (студенты медицинской академии), 54 % юношей. У участников были определены уровни BDNF в плазме крови и содержание в волосах 44 микроэлементов (Li, Be, B, Na, Al, Si, P, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Rh, Pd, Ag, Cd, Sn, Sb, Te, Cs, Ba, Hg, Tl, Pb, Bi, Th, U).

Забор крови осуществлялся натощак с 8:00 до 9:00 из локтевой вены в количестве 5 мл в вакуумные пробирки (вакутейнеры) без наполнителя. Пробирки маркировали, плазма крови выделялась по стандартной методике и помещалась в холодильник. Для исследования уровня BDNF в плазме крови на основе количественного иммуноферментного метода сэндвичевого типа твёрдофазным иммуноферментным методом (ELISA) использованы наборы для количественного определения мозгового нейротрофического фактора (BDNF)

человека в плазме; использовался иммуноферментный фотомер ImmunoGlum-2100 (США). Использованы стандарты — 3 флакона (8 нг/флакон), содержащие рекомбинантный человеческий BDNF в белковом буфере с консервантами, лиофилизированный на 96 проб. Предварительное одностадийное разбавление образцов в соотношении 1:20. Общее время инкубации — 210 мин при 20—25 °С. Минимальное среднее детектируемое количество BDNF — менее 20 пг/мл.

Всем пациентам проводилось определение микроэлементного состава волос. Анализировалось содержание Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Rb, Sr, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Te, Cs, Ba, Hg, Tl, Pb, Bi, Th, U. Образцы волос были высушены при t = 105 °C в течение 6 ч в сушильном шкафу. После этого было проведено взвешивание на аналитических весах Perkin Elmer AD-6 Autobalance с точностью до 0,1 мг. Навески материала переносили в автоклав (тефлоновый сосуд Весселя) и добавляли 1 мл 70 % НОО3 (ОСЧ), прошедшей вторичную перегонку, затем автоклав помещался в микроволновую систему пробоподготовки MD-2000 (СЕМ, США) обеспечивающую высокое давление и температуру кипения HNO₃. После охлаждения полученных растворов в течение 60 мин от них были отобраны образцы в объёме 1 мл в пластиковые сосуды и разбавлены в 5 раз бидистиллированной и деионизированной водой. Для контроля чистоты анализа отдельно был приготовлен раствор «холостой пробы» с содержанием HNO_3 , H_2O_2 , Н₂О в пропорциях, идентичных содержанию этих реагентов в исследуемых образцах. Описанная выше методика пробоподготовки с использованием СВЧ нагрева в тефлоновых «бомбах» позволяет проводить быстрое «вскрытие» биопробы, с высокой эффективностью разложить биологическую матрицу, влияющую на результаты анализа. В качестве внутреннего стандарта в растворы вводили индий в концентрации 25 мкг/л. Калибровочные растворы были приготовлены из стандартных растворов фирмы VTRC с известным содержанием в диапазоне 5-1000 мкг/л (10-7%). Полученные растворы анализировались на массспектрометре с ионизацией в индуктивно-связанной плазме VG Plasma Quad PQ2 Turbo (Англия), рабочая мощность СВЧ генератора 1,3 кВт, расход плазмообразующего газа (аргон) 14 л/мин, расход транспортирующего газа 0,89 мл/мин. Проводилось 3 экспозиции каждого образца, время интегрирования сигнала 60 с. Результаты анализа «холостой пробы» автоматически вычитались в анализе. Единицы измерения – мкг/кг (ppb). Данный метод позволяет с высокой точностью проводить количественный анализ содержания 48 элементов периодической системы Д.И. Менделеева в волосах и других биосубстратах [7].

Грант РФФИ №19-07-00356.

Для стандартной обработки результатов исследования использовались методы математической статистики, включающие расчёт числовых характеристик

случайных величин, проверки статистических гипотез с использованием параметрических и непараметрических критериев, корреляционного и дисперсионного анализов. Сравнение прогнозируемых и наблюдаемых частот встречаемости исследуемых признаков проводилось с помощью критерия хи-квадрат, Т-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и тест Стьюдента. Использовалась прикладная программа STATISTICA 6.0 и электронные таблицы Microsoft Excel. Помимо стандартных методов статистики, в ходе анализа данных скрининга были использованы новые математические подходы для установления интервалов информативных значений численных параметров, нахождение метрических сгущений в пространстве параметров биомедицинского исследования и построения метрических карт [8, 9]. Был проведён регрессионный анализ различных показателей, описывающих состояние обследуемых здоровых добровольцев, и уровнями нейротрофического фактора BDNF в плазме крови.

Результаты

Характеристики изучаемой группы молодых здоровых добровольцев суммированы в таблицах 1 и 2. Группа обследованных состояла, преимущественно, из европеоидов, 54 % юношей, для которых были измерены уровни BDNF в плазме крови, уровни микроэлементов в волосах и проведено простое скрининговое психоневрологическое тестирование (см. табл. 2).

Tаблица 1 Характеристики изучаемой группы молодых здоровых добровольцев (n=50)

Группа показателей	Показатель	Значение
Демография	Европеоиды	36 (72 %)
	Монголоиды (буряты)	14 (18 %)
	Возраст, лет	$21,68 \pm 1,42$
	Пол, М	27 (54%)
Уровни BDNF	BDNF, пк/мл	$35\ 549\pm5382$

Примечание: Приведены средние значения исследованных характеристик (в формате « $M\pm m$ ») или же соответствующие числа пациентов.

В таблице 2 приведены средние уровни микроэлементов в волосах, упорядоченные в соответствии с вариабельностью уровней микроэлемента (m/M). Наименьшей вариабельностью отличались эссенциальные элементы P, Si, Cu, Zn, Li, Fe, Ca, Na, Mg, K, Mo, Co, B, Mn, Se (m/M=0,21..0,43) и токсический элемент свинец (m/M=0,20). В то же время большинство других токсических элементов (Th, Hg, Be, Tl, As, Bi, U, Te, Cd) отличались весьма высокой вариабельностью (m/M > 1,0). Более низкая вариабельность содержания того или иного микроэлемента соответствует большей значимости уровней этого микроэлемента как воспроизводимого биомаркёра.

Таблица 2 Средние уровни микроэлементов в волосах (мкг/кг) в группе молодых здоровых добровольцев (n=50)

Элемент	M	m	m/M
Pb	1,6520	0,3365	0,20
P	172,63	35,94	0,21
Si	20,2081	4,6476	0,23
Cu	16,6335	4,0919	0,25
Zn	165,18	40,65	0,25
Li	0,0149	0,0037	0,25
Fe	18,1815	4,7052	0,26
Al	18,0239	5,0138	0,28
Ca	810,23	226,56	0,28
Na	1390,59	397,15	0,29
Mg	36,82	10,95	0,30
K	627,38	224,15	0,36
Mo	0,0134	0,0049	0,36
Co	0,0135	0,0049	0,36
В	5,72	2,41	0,42
Mn	0,6046	0,2576	0,43
Se	0,6238	0,2675	0,43
Cr	0,5376	0,2684	0,50
Ni	0,0107	0,0056	0,53
Ba	4,0415	2,2386	0,55
Sr	3,5788	2,2425	0,63
Ga	0,0036	0,0025	0,70
Sc	0,0106	0,0079	0,75
Sn	0,6004	0,4563	0,76
V	0,0160	0,0140	0,87
Nb	0,0050	0,0045	0,89
Rh	0,0030	0,0030	1,01
Ge	0,0024	0,0027	1,16
Pd	0,0030	0,0035	1,20
Cs	0,0024	0,0030	1,24
Rb	0,1791	0,2221	1,24
Zr	0,0221	0,0286	1,30
Sb	0,0053	0,0069	1,30
Th	0,0009	0,0013	1,39
Hg	0,0082	0,0130	1,59
Be	0,0018	0,0029	1,65
Tl	0,0007	0,0012	1,71
As	0,0049	0,0087	1,79
Ag	0,0121	0,0258	2,14
Bi	0,0052	0,0115	2,21
U	0,0066	0,0172	2,63
Te	0,0293	0,0950	3,25
Cd	0,0072	0,0305	4,21
Ti	0,0720	0,4250	5,90
Y	0,0441	0,2914	6,60

Примечание: Элементы упорядочены по возрастанию значений m/M, т. е. величины вариабельности уровней микроэлемента в волосах.

В результате проведённого анализа собранных данных были установлены достоверные корреляции между уровнями микроэлементов в волосах, демографическими и другими показателями обследованных (табл. 3–5). В частности, результаты анализа показали, что у монголоидов (бурятов), по сравнению с европеоидами, наблюдаются достоверно более высокие уровни магния (+10 мкг/кг, p = 0.014) и цинка (+21 мкг/кг, p = 0.018) в волосах (табл. 3). В то же время у европеоидов отмечено более высокое содержания кальция в волосах (+156 мкг/кг, p = 0.057), что, вероятно, обусловлено большим потреблением молочных продуктов. *Таблица 3*

Достоверные ассоциации между уровнями микроэлементов в волосах и расово-этнической принадлежностью обследованных здоровых добровольцев (n = 50)

Показатель	P	Монголоиды (буряты)	Европеоиды (русские, белорусы)
Мд, мкг/кг	0.0143	29,74±8,02	39,2±10,89
Zn, мкг/кг	0.0177	179±41	158±38
Са, мкг/кг	0.0571	691±231	847±207

Примечания: p, статистическая достоверность ассоциации (по критерию Колмогорова—Смирнова для числовых показателей, по критерию χ^2 — для категорных показателей). Ассоциации упорядочены в соответствии со значениями p.

Анализ гендерных различий показал: у женщин были отмечены более высокие уровни кальция (+120 мкг/кг, p = 0.0174), рубидия (+0.14 мкг/кг, p = 0.0078), иттрия (+0.091 мкг/кг, p = 0.0069 и ниобия (+0.0016 мкг/кг, p = 0.0072) в волосах (табл. 4).

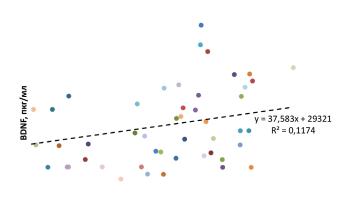
Таблица 4 Достоверные ассоциации между уровнями микроэлементов в волосах и гендерными различиями обследованных

Показатель	P	Мужчины	Женщины	
В, мкг/кг	0,0013	6,2±2,067	5,01±2,55	
Na, мкг/кг	0,0431	1430±416	1312±379	
Са, мкг/кг	0,0174	748±1989	868±239	
Rb, мкг/кг	0,0078	0,11±0,15	$0,25\pm0,24$	
Ү, мкг/кг	0,0069	0,0023±0,0017	$0,093\pm0,42$	
Nb, мкг/кг	0,0072	0,0042±0,0050	$0,0058\pm0,0034$	
Pd, мкг/кг	0,0386	$0,0038\pm0,0038$	$0,0019\pm0,0027$	
Ад, мкг/кг	0,0118	0,0168±0,0301	0,0049±0,0125	
Примечания: р, статистическая достоверность ассоциации. Ассоци-				

В результате были установлены достоверные прямые корреляции между уровнями BDNF в крови и содержанием фосфора, меди и лития в волосах (рис. 1—4).

ации упорядочены в соответствии со значениями р.

Установлено существование корреляции между содержанием фосфора в волосах и концентрацией BDNF в плазме крови (рис. 1, $R^2 = 0.13$, т. е. коэффициент корреляции R = 0.36). Регрессионная формула





Содержание Р в волосах, мкг/кг

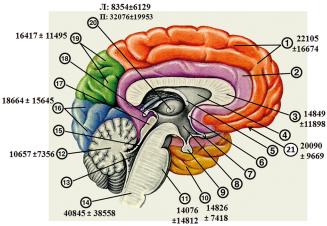
Рис. 1. Корреляция между содержанием фосфора в волосах и концентрацией BDNF в плазме крови. Показана регрессионная формула и значение квадрата коэф-

фициента корреляции (R^2)

21 - ножки

Содержание Си в волосах, мкг/кг

Рис. 2. Корреляция между содержанием меди в волосах и концентрацией BDNF в плазме крови. Показана регрессионная формула и значение квадрата коэффициента корреляции (R^2)



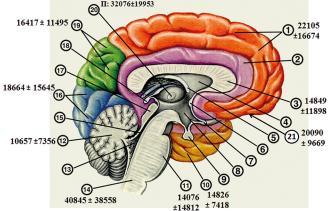


Рис. 3. Распределение содержания меди (мкг/кг) в различных отделах головного мозга (контрольная группа) *Примечания*: Здесь и далее: 1 — добная доля: 2 — поясная извидина: мозолистое тело; 4 — прозрачная перегородка (septum pellucidum); 5 – свод; 6 – передняя спайка; 7 – зрительный перекрест; 8 – подталамическая область; 9 – гипофиз; 10 – височная доля; 11 – мост; 12 — продолговатый мозг; 13 — четвертый желудочек; 14 — мозжечок; 15 — водопровод мозга; 16 — затылочная доля; 17 — пластинка крыши; 18 — шишковидное тело; 19 — теменная доля; 20 — таламус;

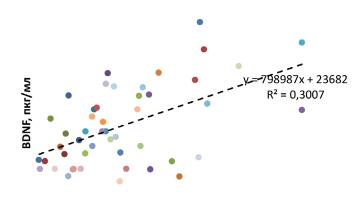


Рис. 4. Корреляция между содержанием лития в волосах и концентрацией BDNF в плазме крови. Показана регрессионная формула и значение квадрата коэффици-

Содержание Li в волосах, мкг/кг

показывает, что увеличению содержания фосфора в волосах на каждые 10 мкг/кг соответствует повышение уровней BDNF в крови, в среднем, на 500 пкг/мл.

Установлено существование корреляции между содержанием меди в волосах и концентрацией BDNF в плазме крови (рис. 2, $R^2 = 0.13$, т. е. коэффициент корреляции R = 0,36). Регрессионная формула показывает, что увеличению содержания меди в волосах на каждые 10 мкг/кг соответствует повышение уровней BDNF в крови, в среднем, на 4 725 пкг/мл.

Медь – эссенциальный микроэлемент, имеющий прямое отношение к процессам клеточного дыхания BDNF (эксп), пкг/мл = 1.0009x - 21.39 $R^2 = 0.2654$

ента корреляции (R²)

BDNF (теор), пкг/мл

Рис. 5. Корреляция между вычисленными (теоретическими) и экспериментально определёнными уровнями BDNF в плазме крови. Показана регрессионная формула и значение квадрата коэффициента корреляции (R²)

нейронов [10]. Медь входит в состав десятков ферментов, задействованных в окислительно-восстановительных реакциях, синтезе нейротрансмиттеров, активации пептидных гормонов. К наиболее известным медь-зависимым ферментам относятся цитохром С оксидаза (перенос электронов в дыхательной цепи митохондрий) и Cu/Zn-супероксид дисмутаза (антиоксидантный эффект). Проведённое нами ранее исследование микроэлементного состава мозга показало, что наибольшее содержание меди отмечается в мозжечке (40845±38558 мкг/кг) и в правополушарном таламусе (32076±19953 мкг/кг) [4] (рис. 3).

Установлено существование корреляции между содержанием лития в волосах и концентрацией BDNF в плазме крови (рис. 4, $R^2 = 0.30$, т. е. коэффициент корреляции R = 0.55). Регрессионная формула показывает, что увеличению содержания лития в волосах на каждые 0.01 мкг/кг соответствует повышение уровней BDNF в крови почти на 800 пкг/мл.

Экспериментальные и клинические исследования неорганических и органических солей лития указали на нейропротективный эффект ионов лития в условиях ишемии мозга и дефицита глюкозы [11], при избыточном апоптозе нейронов гиппокампа в экспериментальной модели менингита. Обработка нейронов ионами лития повышает экспрессию мозгового нейротрофического фактора BDNF и нейротрофина-3 [12] в головном мозге. Ионы лития активируют TrkB-рецептор нейротрофического фактора BDNF в качестве важного шага для нейропротекции против эксайтотоксичности [13]. Одним из основных механизмов действия лития на нейроны является модуляция гомеостаза ионозитолфосфатов. В частности, ионы лития ингибируют фермент инозитол монофосфатазу (ген IMPA1) [14]. Ионы лития подавляют активность гликоген-синтазыкиназы-3 бета (ГСК-3Б) в нейронах, что, в частности, защищает клетки от нейротоксичности посредством активации сигнальных путей РКВ/ГСК-3Б и катенин/Wnt [15]. Ионы лития активируют сигнальные пути Wnt и РІЗК/РКВ, стимулируя выживание нейронов и других типов клеток нервной системы [16].

Таким образом, уровни нейротрофического фактора мозга (BDNF) в плазме крови прямо пропорциональны уровням лития и меди в волосах. На основании этого наблюдения мы разработали и протестировали регрессионную формулу, позволяющую прогнозировать уровни BDNF в плазме крови на основании уровней этих трёх элементов в волосах:

BDNF (пкг/мл) = $33 \times P(MK\Gamma/K\Gamma) + 45 \times Cu(MK\Gamma/K\Gamma) + 48178 \times Li(MK\Gamma/K\Gamma) + 23810$

Данная формула характеризуется приемлемыми показателями качества регрессии: коэффициент корреляции между вычисленными (теоретическими) и экспериментально определёнными уровнями BDNF составил R=0,52, среднеквадратичного отклонения (ср. кв. откл.) уровней BDNF — 4 566 пкг/мл. Заметим, что значения ср. кв. откл. уровней BDNF для формул на основе содержания отдельных микроэлементов были существенно хуже. Например, для формулы BDNF (пкг/мл) = 79 898 × Li (мкг/кг) + 23 682 ср. кв. откл. уровней BDNF составило 11 867 пкг/мл, а для соответствующих формул для P (мкг/кг) и Cu (мкг/кг) — более 15 000 пкг/мл.

Обсуждение

Проведённое нами исследование здоровых молодых добровольцев показало, что более высокий балл в тесте на заучивание слов был ассоциирован с более высокими уровнями меди (+3.4 мкг/кг, p = 0.01), хрома (+0.05 мкг/кг, тренд, p = 0.08) и никеля (+0.006 мкг/кг,p = 0.013) и более низкими уровнями токсичного урана (-0.005 мг/кг, тренд, p = 0.092) в волосах. Установлено, что уровни нейротрофического фактора мозга (BDNF) в плазме крови прямо пропорциональны уровням лития, фосфора и меди в волосах. Активность нейротрофического фактора мозга BDNF важна для поддержки когнитивных функций и памяти. Синтез BDNF зависит от степени физической активности, тренировки памяти, логического мышления и микронутриентной обеспеченности организма. Наиболее выражена была корреляция между содержанием лития в волосах и концентрацией BDNF в плазме крови (коэффициент корреляции R = 0.55), согласно которой увеличению содержания лития в волосах на каждые 0,01 мкг/кг соответствует повышение уровней BDNF в крови, в среднем, на 800 пкг/мл. Разработана и протестирована регрессионная формула, позволяющая оценить уровни BDNF в плазме крови на основании уровней этих трёх элементов в волосах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Конфликт интересов. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пепеляев Евгений Геннадьевич Автор, ответственный за переписку

e-mail: nevropep@yandex.ru ORCID ID: 0000-0002-9574-2474 аспирант кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, Россия, Кемерово

Семенов Владимир Александрович

ORCID ID: 0000-0002-8958-6495

SPIN-код: 9741-3771

д. м. н., профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, Россия, Кемерово

Торшин Иван Юрьевич

ORCID ID 0000-0002-2659-7998 SPIN-код: 1375-1114 к. х. н., с. н. с., ФИЦ ИУ РАН, Россия, Москва

Громова Ольга Алексеевна

ORCID ID: 0000-0002-7663-710X SPIN-код: 6317-9833 д. м. н, профессор кафедры фармакологии с клинической фармакологией, ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России, Россия, Иваново

Pepelyaev Evgeniy Corresponding author

e-mail: nevropep@yandex.ru ORCID ID: 0000-0002-9574-2474 graduate student of department of neurology, neurosurgery and medical genetics FSBOU VO KemGMU Ministry of Health of Russia, Russia, Kemerovo

Semenov Vladimir

ORCID ID: 0000-0002-8958-6495

SPIN code: 9741-3771

DM, professor, manager of department of neurology, neurosurgery and medical genetics FSBOU VO KemGMU Ministry of Health of Russia,

Russia, Kemerovo

Torshin Ivan

ORCID ID 0000-0002-2659-7998

SPIN code: 1375-1114

Candidate of Chemical Sciences, Senior researcher in of Institute of Pharmacoinformatics at the Department of Intellectual Systems FRC CSC

RAS, Russia, Moscow

Gromova Olga

ORCID ID: 0000-0002-7663-710X

SPIN code: 6317-9833

DM, professor of department of pharmacology with clinical pharmacology, FSBOU VO IvGMA of the Ministry of Health of Russia, Russia,

Ivanovo

Литература / References

- 1. Торшин И.Ю., Громова О.А. Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии. — М.: МЦНМО; 2012. 747 с. [Torshin IYu, Gromova OA. Ekspertnyj analiz dannyh v molekulyarnoj farmakologii. Moscow: MCNMO; 2012. (In Russ).]
- 2. Курамшина Д.Б., Новикова Л.Б., Никонов А.А., и др. Нарушение баланса микроэлементов у пациентов с ишемическим инсультом на фоне артериальной гипертонии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуск. – 2012. – Т. 112. – № 3. – С.42–46. [Kuramshina DB, Novikova LB, Nikonov AA, et al. Analysis of a disturbance of trace element balance in patients with ischemic stroke with arterial hypertension. Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S.S. Korsakova. Specvypusk. 2012;112(3):42-46. (In Russ).]
- 3. Зангиева З.К., Гусев Е.И., Громова О.А., и др. Сравнительный анализ микроэлементных профилей 10 отделов головного мозга при ишемическом инсульте и без ишемических повреждений // Земский Врач. – 2013. – Т. 21. – № 4. – С. 21–30. [Zangieva ZK, Gusev EI, Gromova OA, et al. Comparative analysis of the trace element profiles of the 10 brain regions in ischemic stroke and without the ischemic injury. Zemskij Vrach. 2013;21(4):21-30. (In Russ).]
- 4. Зангиева З.К., Торшин И.Ю., Громова О.А., Никонов А.А. Содержание микроэлементов в нервной ткани и ишемический инсульт // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2013. T. 113. - № 3. - C. 30–36. [Zangieva ZK, Torshin IYu, Gromova OA, Nikono AA. Trace elements in the nervous tissue and ischemic stroke. Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S.S. Korsakova. 2013;113(3):30-36. (In Russ).]
- 5. Прокопович О., Торшин И., Громова О., Гусев Е. Коморбидность дисциркуляторной энцефалопатии с диабетической полинейропатией, лобной атаксией и уровнями микроэлементов в крови // Врач. -2016. – № 3. – C. 6–11. [Prokopovich O, Torshin I, Gromova O, Gusev E, Nikonov A. Comorbidity of dyscircula tory encephalopathy with diabetic polyneuropathy, frontal ataxia, and blood levels of trace elements. Vrach. 2016;(3):6-11. (In Russ).]
- 6. Прокопович О.А., Волков А.Ю., Торшин И.Ю., и др. Микроэлементный состав крови пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией // Медицинский алфавит. – 2016. – Т. 1. – № 3. – С. 42–48. [Prokopovich OA, Volkov AYu, Torshin IYu. Icroelement composition of the blood of patients with dyscirculatory encephalopathy. Medicinskij alfavit. 2016;1(3):42-48. (In Russ).]
- 7. Волков А.Ю., Тогузов Р.Т. Микроэлементы в медицине. М.: 2002. 230 C. [Volkov AYu, Toguzov RT. Mikroelementy v medicine. Moscow: 2002. (In Russ).]

- 8. Громова О.А., Калачева А.Г., Торшин И.Ю., и др. Недостаточность магния достоверный фактор риска коморбидных состояний: результаты крупномасштабного скрининга магниевого статуса в регионах России // Фарматека. 2013. Т. 259. № 6. —С. 115—129. [Gromova OA, Kalacheva AG, Torshin IYu, et al. Nedostatochnost' magniya dosvovernyj faktor riska komorbidnyh sostoyanij: rezul'taty krupnomasshtabnogo skrininga magnievogo statusa v regionah Rossii. Farmateka. 2013;259(6):112—129. (In Russ).]
- 9. Керимкулова Н.В., Никифорова Н.В., Торшин И.Ю., и др. Беременность и роды у женщин с дисплазией соединительной ткани и железодефицитной анемией // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2014. Т. 13. № 5. С. 11—21. [Kerimkulova NV, Nikiforova NV, Torshin IYu. Pregnancy and labour in women with connective tissue dysplasia and iron-deficiency anaemia. Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii. 2014;13(5):11—21. (In Russ).]
- 10. Reeves PG, DeMars LCS. Copper deficiency reduces iron absorption and biological half-life in male rats. J Nutr. 2004 Aug;134(8):1953—1957. DOI: 10.1093/jn/134.8.1953
- 11. Cimarosti H, Rodnight R, Tavares A, et al. An investigation of the neuroprotective effect of lithium in organotypic slice cultures of rat hippocampus exposed to oxygen and glucose deprivation. Neurosci Lett. 2001 Nov 23;315(1–2):33–36. DOI:10.1016/S0304-3940(01)02310-2

- 12. Walz JC, Frey BN, Andreazza AC, et al. Effects of lithium and valproate on serum and hippocampal neurotrophin-3 levels in an animal model of mania. J Psychiatr Res. 2008 Apr;42(5):416–421. DOI: 10.1016/j. jpsychires.2007.03.005
- 13. Hashimoto R, Takei N, Shimazu K, et al. Lithium induces brain-derived neurotrophic factor and activates TrkB in rodent cortical neurons: an essential step for neuroprotection against glutamate excitotoxicity. Neuropharmacology. 2002 Dec;43(7):1173–1179. DOI: 10.1016/s0028-3908(02)00217-4
- 14. Sarkar S, Floto RA, Berger Z, et al. Lithium induces autophagy by inhibiting inositol monophosphatase. J Cell Biol. 2005 Sep 26;170(7):1101–1111. DOI: 10.1083/jcb.200504035
- 15. Wu J, Zhu D, Zhang J, et al. Lithium protects against methamphetamine-induced neurotoxicity in PC12 cells via Akt/GSK3β/mTOR pathway. Biochem Biophys Res Commun. 2015 Sep 25;465(3):368–373. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.08.005
- 16. Sinha D, Wang Z, Ruchalski KL, et al. Lithium activates the Wnt and phosphatidylinositol 3-kinase Akt signaling pathways to promote cell survival in the absence of soluble survival factors. Am J Physiol. Renal Physiol. 2005 Apr;288(4):F703-13. DOI: 10.1152/ajprenal.00189.2004

Статья поступила в декабре 2019 г.



www.HealthEconomics.ru

19 Лет работы

230+ Исследований

220+ Публикаций

ЗЭ Партнёров

Комплексная оценка для включения в ограничительные перечни



Оценка эффективности и безопасности



Фармакоэкономический анализ

- систематический обзор и метаанализ
- сетевой метаанализ

- анализ "затраты-эффективность"
- анализ "затраты-полезность"
- анализ "минимизации затрат"
- анализ влияния на бюджет



Разработка моделей в MS Excel



Подготовка досье на включение в

- модель "дерево решений"
- модель Маркова
- гибридная модель
- калькулятор

- перечень ЖНВЛП
 - перечень ОНЛС
 - перечень ВЗН
 - минимальный ассортимент

Также Центр занимается:

- оценкой технологий здравоохранения
- фармакоэпидемиологическими исследованиями
- изучением качества жизни, связанного со здоровьем
- неинтервенционными исследованиями

По вопросам сотрудничества обращаться к:



Белоусов Дмитрий ЮрьевичВедущий специалист
+ 7 (910) 449-22-73
clinvest@mail.ru



Чеберда Алексей ЕвгеньевичИсполнительный директор
+ 7 (963) 999-77-69
aecheberda@healtheconomics.ru



Афанасьева Елена Владимировна
Генеральный директор
+ 7 (910) 400-88-87
eva88@list.ru

УЧЕБНЫЕ ПОСОБИЯ



«УПРАВЛЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИМИ ИССЛЕДОВАНИЯМИ» описывает методологию эффективного управления проектом по изысканию, разработке и выводу на фармацевтический рынок лекарственных средств, начиная с этапа поиска перспективных химических соединений, проведения доклинических испытаний веществ-кандидатов, клинических исследований лекарств-кандидатов, фармаконадзора, управления данными, анализа полученных данных, составления окончательного отчёта об исследовании, получения регистрационного удостоверения, публикации результатов, заканчивая организацией пострегистрационных исследований безопасности, проведением неинтервенционных и фармакоэпидемиологических исследований, а также процесс обеспечения качества, проведения аудита и инспекций уполномоченных органов здравоохранения, создания стандартных операционных процедур, архивирования документов исследования. Изложенный материал основывается на современных регулирующих требованиях законодательства Российской Федерации и государств – членов Евразийского экономического союза.



«ФАРМАКОНАДЗОР» описывает методологию фармаконадзора, организацию пострегистрационных исследований безопасности, фармакоэпидемиологических и неинтервенционных исследований, организация системы фамаконадзора в фармацевтической компании, чрезвычайные ситуации в клинических исследованиях, особенности фармаконадзора у беременных и кормящих. Изложенный материал основывается на современных регулирующих требованиях законодательства Российской Федерации и государств – членов Евразийского экономического союза.



«ВКЛЮЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ОГРАНИЧИТЕЛЬНЫЕ ПЕРЕЧНИ: ПОШАГОВЫЙ АЛГОРИТМ» —

это невероятно полезный и компактный ресурс по подготовке Предложения на включение в ограничительные Перечни лекарственных препаратов. После прочтения этой книги процесс включения в Перечни сложится из разрозненных пазлов в единую картину. На страницах книги авторы профессионально, шаг за шагом, подробно и доходчиво объясняют методы сбора доказательной базы, рассказывают о методологии проведения сравнительной оценки эффективности и безопасности, клинико-экономических исследований и анализа влияния на бюджет, современных рекомендациях по подготовке Предложения на включение в ограничительные Перечни. Изложенный материал основывается на современных регулирующих требованиях законодательства Российской Федерации.



«ИССЛЕДОВАНИЯ РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ»

освещает правовые вопросы, методологию планирования и проведения исследований реальной клинической практики для формирования основанных на них доказательств, методы сбора данных, этическую экспертизу и статистический анализ таких исследований. Впервые в России обобщены термины и определения касаемо исследований реальной клинической практики.