

*На правах рукописи*

**БАХТИН**

**Виктор Михайлович**

**РОЛЬ ДЕФИЦИТА МАГНИЯ В РАЗВИТИИ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ  
РЕАКЦИЙ СО СТОРОНЫ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ  
ПРИ ТЕРАПИИ ФТОРХИНОЛОНАМИ**

3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

**Казань – 2024**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент

**Изможерова Надежда Владимировна**

**Официальные оппоненты:**

**Журавлева Марина Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Решетько Ольга Вилоровна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.012.01 при ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России по адресу: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России по адресу: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49Б и на сайте: <https://kazan-gmu.ru>

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

**Хасанова Гульшат Рашатовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Фторхинолоны – антибактериальные агенты широкого спектра (Lee C.C. et al., 2018), занимающие одно из ведущих мест по объёму потребления в стационарах (Яковлева С.В. и др., 2018) и амбулаторной практике (Мудрицкая, Т.Н. и др., 2021). Фторхинолоны рассматриваются как препараты резерва, в т. ч. ввиду способности вызывать тяжёлые нежелательные реакции. Особого внимания требует изучение влияния фторхинолонов на сердечно-сосудистую систему ввиду высокого популяционного кардиоваскулярного риска в Российской Федерации (Кухарчук В.В. и др., 2020). Описана кардиотоксичность фторхинолонов в виде удлинения скорректированного интервала QT (QTc) на электрокардиограмме и повышения риска желудочковой тахикардии по типу «пируэт» (torsade de pointes) (Jaillon P., 1996; Yap Y.G. et Camm J., 2000).

В последние 10 лет в литературе появились данные о способности фторхинолонов вызывать повреждение аорты по типу аневризмы и диссекции. Риски выше у пациентов с имеющимся поражением аорты и сердечно-сосудистыми заболеваниями (Lee C.C., 2015; Pasternak B. et al., 2018; Dai X.C. et al., 2020; Daneman N. et al., 2020). В условиях широкого распространения атеросклеротического поражения аорты среди населения Российской Федерации изучение данной нежелательной реакции является актуальным.

Учитывая клиническую значимость фторхинолонов, повышение безопасности терапии этими препаратами представляет собой важную задачу. Профилактика нежелательных реакций со стороны сердечно-сосудистой системы и своевременная коррекция факторов их развития способны повысить переносимость терапии и, как следствие, её эффективность. Разработка способов профилактики нежелательных реакций требует изучения механизмов их развития.

### Степень разработанности темы исследования

Повышение риска поражения аорты при терапии фторхинолонами, в особенности левофлоксацином, показано в крупных исследованиях (Meng L. et al., 2019; Sommet A. et al., 2019). Основными механизмами формирования аневризмы и диссекции аорты считаются повышение активности матриксных металлопротеиназ (ММП) за счёт снижения активности их тканевых ингибиторов (ТИМР) с последующей деградацией внеклеточного матрикса и снижением прочности стенки сосуда (LeMaire S.A. et al., 2018; Lee C.C. et al.,

2018; Guzzardi D.G. et al., 2019; Campana P. et al., 2020). Поражение других соединительнотканых структур – сухожилий и хрящей – обусловлено нарушением обмена магния в тканях вследствие формирования комплексных соединений со фторхинолонами (Förster C. et al., 1997; Shakibaei M. et al., 2000; Egerbacher M. et al., 2001; Lozo E. et al., 2002; Pfister K. et al., 2007; Bode K. et al., 2010). В условиях дефицита магния активность ММР существенно повышается, что приводит к деградации внеклеточного матрикса (Cher R. et al., 2018; Yao H., 2019). Не было найдено работ, посвящённых исследованию роли дефицита магния в формировании аортопатий при терапии фторхинолонами.

Комплексообразование фторхинолонов с ионами  $Mg^{2+}$  изучено на качественном уровне, однако недостаточно работ, посвящённых количественной оценке комплексообразующих свойств фторхинолонов в сравнении с биоорганическими лигандами магния.

Кардиотоксичность фторхинолонов, проявляющаяся удлинением интервала QT, связывается со способностью блокировать  $\alpha$ -субъединицы каналов быстрого компонента калиевого тока замедленного внешнего выпрямления hERG (human ether-a-go-go-related gene). Имеются данные о роли ионов  $Mg^{2+}$  в функционировании hERG, однако не найдено работ, демонстрирующих взаимосвязь комплексообразующих свойств фторхинолонов по отношению к магнию с нарушением ионной проводимости.

### **Цель исследования**

Оценка роли дефицита магния в развитии нежелательных реакций при применении фторхинолонов со стороны сердечно-сосудистой системы.

### **Задачи исследования**

1. Анализ комплексообразующих свойств фторхинолонов по отношению к ионам магния.
2. Оценка обмена магния под действием фторхинолонов в модельном эксперименте на лабораторных животных.
3. Анализ кардиотоксических свойств фторхинолонов в модельном эксперименте.
4. Определение особенностей токсического действия фторхинолонов на аорту лабораторных животных.
5. Анализ влияния препаратов магния на токсическое действие фторхинолонов по отношению к проводящей системе сердца и аорте в эксперименте на лабораторных животных на основе созданной модели.

## **Методология и методы исследования**

Проведено исследование свойств наиболее часто используемых фторхинолонов: ципрофлоксацина, левофлоксацина, моксифлоксацина. Комплексообразующие свойства оценивались с использованием специально разработанной и запатентованной методики. В двух экспериментах на кроликах оценивались особенности токсического действия фторхинолонов по отношению к аорте и проводящей системе сердца, а также возможность предотвращения развития возникающих нежелательных реакций с помощью оротата магния. Использовались разнообразные и современные методы исследования, в т. ч. биохимический, иммуноферментный анализ, электрокардиография. Содержание магния оценивалось методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Прочность аорты определялась в механическом испытании на одноосное растяжение.

## **Научная новизна**

Разработана авторская методика анализа комплексообразующих свойств органических лигандов по отношению к ионам магния (патент RU 2680519 С1, опубл. 22.02.2019). Впервые показано, что комплексообразующая активность левофлоксацина и моксифлоксацина по отношению к ионам магния значительно выше, чем у глицина и цитрата.

Впервые создана экспериментальная модель для изучения действия фторхинолонов на сердечно-сосудистую систему, в рамках которой проанализировано воздействие ципрофлоксацина и левофлоксацина на вне- и внутриклеточное содержание магния, сердечную проводимость, сывороточный уровень ММР-9, морфологические особенности и механическую прочность грудного отдела аорты лабораторных кроликов.

Впервые показана способность левофлоксацина индуцировать внутриклеточный дефицит магния и снижать магний-кальциевое соотношение.

Впервые продемонстрирована возможность предотвращения повреждения аорты лабораторных кроликов левофлоксацином с помощью оротата магния.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

С помощью разработанной методики оценки комплексообразующей активности лекарственных средств по отношению к ионам магния обоснован механизм нарушения обмена магния при терапии фторхинолонами.

Проведённые эксперименты продемонстрировали особенности токсического действия ципрофлоксацина и левофлоксацина на проводящую систему сердца и аорту и показали возможность профилактики поражения аорты при терапии левофлоксацином с помощью препаратов магния.

Результаты, полученные при выполнении исследования, имеют фундаментальное значение в понимании механизмов развития нежелательных реакций при терапии фторхинолонами со стороны сердечно-сосудистой системы и демонстрируют возможность применения препаратов магния с целью повышения безопасности терапии фторхинолонами.

Результаты настоящего исследования в перспективе могут быть использованы как научный базис в разработке способов профилактики нежелательных реакций при терапии фторхинолонами в клинической практике.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Магний образует с левофлоксацином и моксифлоксацином комплексные соединения, сопоставимые по прочности с этилендиаминтетраацетатными и существенно превышающие по прочности комплексы с биоорганическими лигандами – цитратом и глицином; образование комплексов происходит при физиологическом значении рН 7,40.

2. В эксперименте на лабораторных кроликах левофлоксацин индуцирует внутриклеточный дефицит магния и значительно повреждает стенку аорты; ципрофлоксацин вызывает кардиотоксический эффект.

3. В эксперименте на лабораторных кроликах применение оротата магния позволяет предотвратить развитие внутриклеточного дефицита магния и повреждение аорты под действием левофлоксацина.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Степень достоверности результатов определяется использованием в работе современных методов исследования, проведением экспериментов *in vitro* и *in vivo*, достаточным объёмом экспериментального материала, выбором адекватных методов статистического анализа полученных результатов.

Результаты работы представлены на Первом медицинском профессорском форуме «Межотраслевая интеграция и передовые технологии в здравоохранении» (г. Ярославль, 2018 г.), II Научной конференции молодых ученых «Актуальные исследования в фармакологии» (г. Москва (в заочном формате), 2021 г.), VI, VII, VIII Международных научно-практических конференциях «Актуальные вопросы современной медицинской науки и

здравоохранения» (г. Екатеринбург, 2021, 2022, 2023 гг.), LXIV Международной конференции «Актуальные проблемы прочности» (г. Екатеринбург, 2022 г.), III Межрегиональной научно-практической конференции «Июльские росы: освежающий семинар клинических фармакологов» (онлайн-формат, 2022 г.), открытом конкурсе молодых учёных «Научная высота» Института высокотемпературной электрохимии Уральского отделения Российской Академии Наук (г. Екатеринбург, 2023 г.), конференции «Инновационные технологии в фармакологии и фармацевтике», посвящённой 90-летию кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (г. Екатеринбург, 2023 г.).

По теме исследования опубликовано 19 научных работ, из них 5 – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, в т. ч. 1 – в издании, индексируемом в базе цитирования Scopus.

### **Внедрение результатов диссертационной работы в практику**

Результаты работы используются в учебном процессе кафедры фармакологии и клинической фармакологии, кафедры общей химии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, а также при подборе антибактериальных препаратов в ЧУЗ «КБ «РЖД-Медицина» г. Екатеринбург».

### **Личный вклад автора**

Автор лично участвовал в планировании исследования и выполнении всех разделов работы, в т. ч. проводил эксперименты *in vivo* и *in vitro*, биохимические, гистологические, морфометрические исследования, механические испытания, выполнял статистическую обработку данных с последующим анализом результатов, готовил материалы докладов и текст публикаций, составлял текст диссертации, участвовал во внедрении результатов диссертационной работы в практическую деятельность.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертация изложена на 159 страницах машинописного текста, включает в себя введение, обзор литературы, главу с описанием материалов и методов исследования, три главы с представлением результатов исследования, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, перечень сокращений и условных обозначений, список

литературы, включающий 250 источников, список иллюстративного материала, приложение. Работа содержит 29 иллюстраций и 15 таблиц.

## СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Материалы и методы исследования

Исследованы свойства наиболее часто используемых фторхинолонов: ципрофлоксацина, левофлоксацина, моксифлоксацина. Экспериментальная часть работы была разделена на 3 этапа.

**На первом этапе** оценивались комплексообразующие свойства по отношению к ионам магния двух фторхинолонов: левофлоксацина и моксифлоксацина, для которых в литературе не было найдено соответствующих исследований.

Значение pH, оптимальное для образования комплексов (2,0, 7,4 или 9,5), анализировалось спектрофотометрически по детекции сдвига характеристических полос поглощения фторхинолонов. Количественная оценка комплексообразующей активности проводилась по авторской методике (патент RU 2680519 С1), в основе которой лежит процесс формирования грубодисперсной системы (ГДС) фосфатов магния согласно уравнению (1):



Скорость реакции (1) оценивается турбидиметрически по снижению светопропускания за 3 минуты. При введении лиганда ( $\text{Lig}^-$ ) происходит формирование соединений состава  $[\text{MgLig}]^+$ , а реакция протекает согласно уравнению (2):



С увеличением активности лиганда и прочности формирующихся комплексов снижается количество свободных ионов магния, что смещает равновесие реакции (2) влево и тормозит формирование ГДС. Свойства фторхинолонов оценивались в сравнении с динатрия этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА), активность которого принималась равной 1,0, а также глицином и цитратом натрия.

Обработка результатов проведена в программе Statistica 13.0. С учётом нормальности распределения данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение, методом двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) строили модель зависимости относительной активности от типа и концентрации вещества, парные сравнения проводили с помощью критерия Шеффе. Критический уровень  $p = 0,050$ .

**На втором этапе** анализировались особенности токсического действия ципрофлоксацина и левофлоксацина, влияние которых на соединительнотканые структуры и проводящую систему сердца различается по данным литературного обзора. Проведён эксперимент на 20 кроликах, рандомизированных на 3 группы:

1. Контроль: 6 животных, которые получали композицию-носитель без фторхинолонов в течение 14 дней перорально;
2. Ципрофлоксацин: 7 животных, которые получали ципрофлоксацин 150 мг/кг/сут перорально 14 дней;
3. Левофлоксацин: 7 животных, которые получали левофлоксацин 150 мг/кг/сут перорально 14 дней.

На 0 и 15 сутки эксперимента выполнялась электрокардиография (ЭКГ). На 15 день отбиралась кровь; в сыворотке определялась концентрация ММР-9, альбумина, креатинина, магния, активность креатинфосфокиназы МВ (КФК-МВ), аланинаминотрансферазы (АЛТ). В форменных элементах крови с помощью масс-спектропии с индуктивно связанной плазмой определялось внутриклеточное содержание магния и кальция, а также соотношение их концентраций. На 15 сутки кролики выводились из эксперимента, в ходе аутопсии выделялась грудная часть аорты, восходящий отдел которой исследовался гистологически и морфометрически. Нисходящий отдел подвергался механическому испытанию на одноосное растяжение.

Обработка результатов проводилась в программе Statistica 13.0. С учётом типа распределения показатели ЭКГ представлены как медиана (25%; 75%) и анализировались с использованием критериев Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни и Вилкоксона; остальные данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение, для проверки гипотез о различии признаков применялись ANOVA, критерии Даннета, Тьюки, точный критерий Фишера. Критический уровень  $p = 0,050$ .

**На третьем этапе** оценивалась возможность предотвращения токсического действия фторхинолонов по отношению к аорте и проводящей системе сердца с помощью препаратов магния. В качестве исследуемого фторхинолона был выбран левофлоксацин как препарат с наиболее выраженным повреждающим действием на аорту по данным литературного обзора и по результатам эксперимента второго этапа.

30 кроликов были рандомизированы на 3 группы:

1. Контроль: 10 животных, получавших раствор-носитель перорально 14 дней;
2. Левофлоксацин: 10 животных, получавших левофлоксацин 150 мг/кг/сутки перорально 14 дней;

3. Левофлоксацин + магний: 10 животных, получавших левофлоксацин 150 мг/кг/сутки и магния оротат 140 мг/кг/сутки перорально 14 дней.

В соответствии с протоколом эксперимента второго этапа выполнялась электрокардиография, биохимическое исследование крови (оценивались сывороточная концентрация альбумина, креатинина, магния, ММР-9, ТИМР-1, соотношение ММР-9 / ТИМР-1, активность КФК-МВ, АЛТ), измерение внутриклеточного содержания магния и кальция в форменных элементах крови, проводилось морфологическое исследование и механическое испытание аорты.

Обработка результатов эксперимента проводилась в программе Jamovi 2.3.26. Методы анализа данных аналогичны использованным на предыдущем этапе.

## Результаты исследования и их обсуждение

### 1. Анализ комплексообразующих свойств фторхинолонов по отношению к ионам магния

#### 1.1. Анализ рН комплексообразования фторхинолонов с ионами магния

У спектров фторхинолонов обнаруживалось до 4 полос поглощения ( $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4$ ) в зависимости от рН среды.

В кислой среде с рН = 2,0 спектры имели по две полосы поглощения ( $\lambda_1, \lambda_3$ ), не смещающиеся при добавлении в систему  $MgSO_4$ , что говорит об отсутствии образования комплексов в данной среде.

В среде с рН = 7,4 введение  $MgSO_4$  в раствор левофлоксацина сопровождалось статистически значимым сдвигом среднего значения  $\lambda_4$  с 331,7 на 1,1 нм влево ( $p < 0,001$ ). Добавление  $MgSO_4$  к раствору моксифлоксацина приводило к значимому смещению средней  $\lambda_1 = 206,1$  нм на 0,9 нм влево ( $p = 0,011$ ),  $\lambda_2 = 245,8$  нм на 9,2 нм влево ( $p < 0,001$ ) и средней  $\lambda_3 = 287,3$  нм на 1 нм вправо ( $p < 0,001$ ).

При рН = 9,5 у спектров левофлоксацина обнаруживалось 3 полосы поглощения ( $\lambda_1, \lambda_3, \lambda_4$ ). При добавлении магния наблюдался сдвиг средней  $\lambda_3 = 287,8$  нм на 1,8 нм вправо, средней  $\lambda_4 = 332,2$  на 3,9 нм влево ( $p < 0,001$  в обоих случаях). У спектров моксифлоксацина наблюдалось 4 полосы поглощения ( $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4$ ). При введении в систему  $MgSO_4$   $\lambda_1$  не определялась;  $\lambda_2 = 244,0$  нм расщеплялась на две полосы  $\lambda_2^1 = 234,1$  нм и  $\lambda_2^2 = 241,3$  нм;  $\lambda_3 = 289,8$  нм смещалась на 2,4 нм вправо;  $\lambda_4 = 340,3$  нм расщеплялась на две полосы  $\lambda_4^1 = 335,2$  нм и  $\lambda_4^2 = 362,3$  нм ( $p < 0,001$  во всех случаях).

Показано комплексообразование левофлоксацина и моксифлоксацина в слабощелочной среде, в т. ч. при физиологическом значении  $\text{pH} = 7,4$ . Во внутренней среде организма имеются оптимальные условия для образования комплексов фторхинолонов с магнием.

## **1.2. Анализ комплексообразующей активности фторхинолонов по отношению к ионам магния**

На рисунке 1 представлены экспериментальные кривые, описывающие зависимость относительной активности исследованных веществ от концентрации. Оба фторхинолона в диапазоне  $0,0 - 0,4$  ммоль/л демонстрировали меньшие комплексообразующие свойства, чем ЭДТА ( $p < 0,001$  во всех случаях). В концентрациях  $0,6 - 1,00$  ммоль/л активность фторхинолонов и ЭДТА была сопоставимой ( $p > 0,050$  во всех случаях), что говорит о возможности образования прочных магниевых комплексов этих веществ. Учитывая, что фторхинолоны создают высокие концентрации в органах (Sartini I. et al., 2021), имеются физико-химические предпосылки для формирования тканевого дефицита  $\text{Mg}^{2+}$  при терапии этими препаратами.

Левофлоксацин демонстрировал более выраженные комплексообразующие свойства, чем цитрат и глицин в концентрациях от  $0,4$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ). Активность моксифлоксацина была больше, чем у глицина, от концентрации  $0,4$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ), и больше, чем у цитрата натрия, от концентрации  $0,2$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ). Предполагается возможность ионообменной конкуренции за  $\text{Mg}^{2+}$  между фторхинолонами и магниезависимыми клеточными субстратами, такими как аминокислотные остатки белков, нуклеиновые кислоты и др.

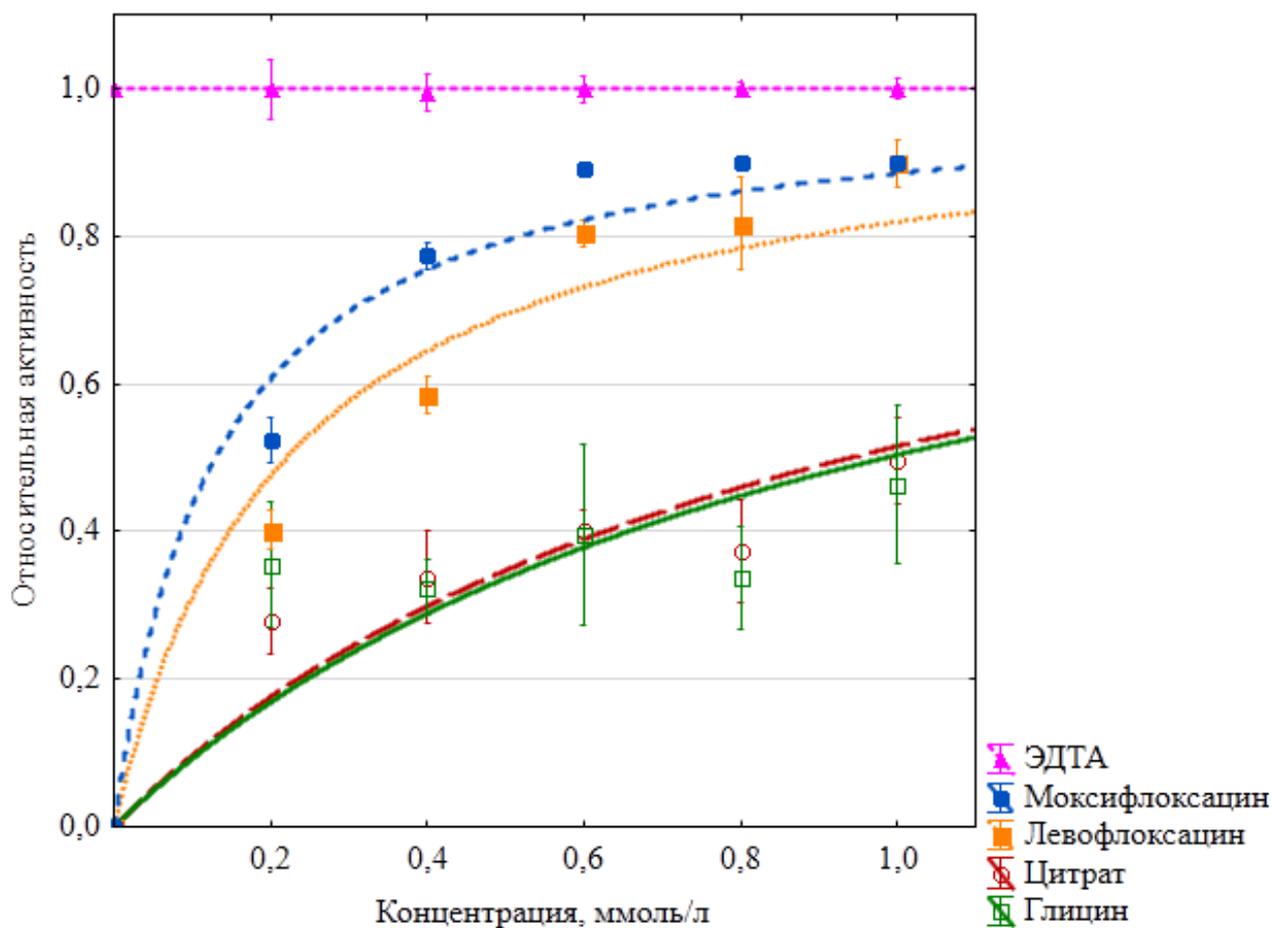


Рисунок 1 – Относительная комплексообразующая активность исследованных лигандов по отношению к  $Mg^{2+}$

Примечание: данные представлены как  $M \pm s$ . Изображённые кривые соответствуют подгоночным функциям Михаэлиса-Ментен.

Фторхинолоны способны образовывать комплексные соединения с магнием при физиологическом значении pH. Выраженные комплексообразующие свойства фторхинолонов обуславливают возможность конкуренции с биоорганическими соединениями за ионы  $Mg^{2+}$ , что нарушает магний-зависимые процессы. Высокая комплексообразующая активность фторхинолонов относительно  $Mg^{2+}$  может приводить к развитию серьёзных нежелательных реакций.

## 2. Создание модели и анализ особенностей токсического действия фторхинолонов

В проведённом эксперименте второго этапа у кроликов, получавших ципрофлоксацин, было обнаружено повышение концентрации ММР-9 в сыворотке ( $70,2 \pm 20,9$  нг/мл против  $38,1 \pm 16,0$  нг/мл в контроле,  $p = 0,019$ , критерий Даннета), что указывает на деструкцию соединительной ткани.

Использование левофлоксацина также сопровождалось увеличением сывороточного содержания ММР-9 до  $63,9 \pm 22,0$  нг/мл, однако различие с контролем не достигло значимости ( $p = 0,070$ ).

Сывороточные уровни магния не различались между группами животных ( $p = 0,336$ , ANOVA). Применение левофлоксацина сопровождалось развитием внутриклеточного дефицита магния: у контрольных животных содержание  $Mg^{2+}$  в форменных элементах составило  $84,0 \pm 9,2$  мг/л, у получавших левофлоксацин –  $66,0 \pm 11,8$  мг/л ( $p = 0,013$ , критерий Даннета).

У получавших ципрофлоксацин кроликов наблюдалась пролонгация QTс: у контрольных животных QTс (формула Базетта) составил 271,7 (255,2; 285,8) мс, у экспериментальных – 306,2 (285,8; 319,8) мс ( $p = 0,022$ ), при расчёте QTс по формуле Фредерика наблюдались схожие изменения. Использование левофлоксацина также сопровождалось удлинением QTс, не достигшим значимости.

При морфометрии было обнаружено увеличение количества мембран в промежуточной оболочке аорты у кроликов, получавших ципрофлоксацин ( $26,8 \pm 4,1$  шт. в контрольной группе и  $35,0 \pm 5,9$  шт. в группе ципрофлоксацина,  $p = 0,029$ ). Полученный результат может быть объяснён повышением активности лизилоксидазы и ММР на фоне внутриклеточного дефицита магния, действие которых сопровождается интенсификацией образования поперечных коллагеновых сшивок и фрагментации волокон, что приводит к и расслоению соединительной ткани на пластинки (Торшин И.Ю. и Громова О.А., 2008).

В ходе механического испытания строились деформационные кривые, отражающие зависимость прикладываемой к образцу силы от деформации. Графики растяжения образцов аорты всех 6 животных контрольной группы имели типичный вид, говорящий об упругом характере деформации. Неупругое поведение демонстрировали 1 из 7 образцов группы ципрофлоксацина ( $p = 1,000$  при сравнении с контролем) и 5 из 7 образцов группы левофлоксацина ( $p = 0,021$  при сравнении с контролем). Ципрофлоксацин не изменял количественные показатели прочности нисходящей части грудного отдела аорты лабораторных кроликов. Использование левофлоксацина сопровождалось статистически значимым снижением работы разрушения образцов до  $21,1 \pm 10,2$  мДж по сравнению с контролем ( $46,6 \pm 17,4$  мДж,  $p = 0,011$ ). Наблюдалась тенденция к снижению предела прочности аорты в этой же группе, не достигшая статистической значимости ( $p = 0,057$ ).

Отмечено снижение удельного предела прочности одной эластической мембраны в группе ципрофлоксацина на 41,2%, в группе левофлоксацина на 48,4% по сравнению с контролем ( $p = 0,040$  и  $0,016$  соответственно). Средняя работа разрушения одной мембраны также различалась между тремя группами

(ANOVA:  $p = 0,015$ ), значимое снижение на 55,8% по сравнению с контролем было достигнуто в группе левофлоксацина ( $p = 0,008$ ).

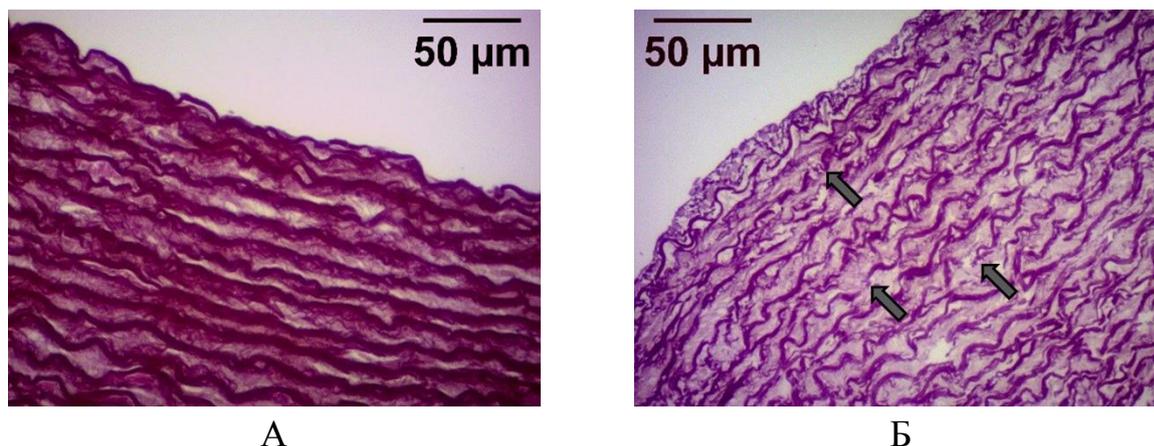
Таким образом, в эксперименте на лабораторных кроликах ципрофлоксацин в дозе 150 мг/кг/сутки индуцирует кардиотоксический эффект; левофлоксацин в той же дозе вызывает внутриклеточный дефицит магния и повреждает стенку аорты.

### **3. Влияние терапии оротатом магния на токсические свойства левофлоксацина у лабораторных животных**

В эксперименте третьего этапа уровни MMP-9, TIMP-1 и отношение их концентраций между тремя группами не различалось. В литературе также не было найдено источников, демонстрирующих изменение уровней MMP и TIMP в сыворотке крови при использовании фторхинолонов. Опубликованные работы, например, (Guzzardi D.G. et al., 2019; LeMaire S.A., 2018), демонстрируют нарушение баланса экспрессии MMP-9 и TIMP-1 в клетках и тканях лабораторных животных, но не в крови. Можно предположить, что воздействие левофлоксацина повышает тканевое соотношение MMP / TIMP без его изменения в сыворотке.

В группе левофлоксацина внутриклеточная концентрация магния была значимо ниже, чем у контрольных животных:  $73,1 \pm 10,8$  мг/л против  $81,8 \pm 8,0$  мг/л ( $p = 0,044$ ). Отмечалось также снижение магний-кальциевого соотношения с  $2,8 \pm 0,8$  до  $2,2 \pm 0,6$  в группе левофлоксацина. В группе кроликов, получавших левофлоксацин и магния оротат, содержание  $Mg^{2+}$  не изменилось по сравнению с контролем ( $p = 0,048$ ). Сопутствующая терапия оротатом магния сохраняла внутриклеточное содержание магния ( $75,9 \pm 9,9$  мг/л) и магний-кальциевое соотношение ( $2,4 \pm 0,5$ ) на одном уровне с контрольными животными ( $p > 0,050$  для обоих параметров).

При оценке дезорганизации структуры промежуточной оболочки были обнаружены участки умеренной фрагментации эластических мембран у 5 из 10 животных, получавших левофлоксацин, 1 из 10 животных, получавших левофлоксацин / магний, и ни у одного из 10 кроликов контрольной группы ( $\chi^2 = 8,75$ , 2 степени свободы,  $p = 0,013$ ). Примеры микрофотографий препаратов аорты контрольного животного и кролика, получавшего только левофлоксацин, представлены на рисунке 2.



А

Б

Рисунок 2 – Микрофотографии средней оболочки аорты

Примечание: А – средняя оболочка аорты одного из животных контрольной группы; Б – средняя оболочка аорты одного из животных, получавших левофлоксацин, стрелками отмечены участки фрагментации волокон. Препараты окрашены по Вейгерту на эластин, увеличение  $\times 40$ , отрезки соответствуют 50 мкм

Морфометрические параметры аорты кроликов представлены в таблице 1. У животных, получавших левофлоксацин, доля эластических элементов в стенке аорты была ниже, чем у контрольных животных, в 1,26 раза и на 12,3 абс. % ( $p = 0,022$ ). Применение левофлоксацина приводило также и к снижению средней толщины эластических мембран на 1,4 мкм по сравнению с контрольной группой ( $p = 0,022$ ) и на 1,3 мкм по сравнению с животными, получавшими левофлоксацин в сочетании с магния оротатом ( $p = 0,019$ ).

Таблица 1 – Морфометрические параметры аорты

Параметр	Контроль	Левофлоксацин	Левофлоксацин / магний	Р (К/Л/ЛМ)	Р (К/Л)	Р (К/ЛМ)	Р (Л/ЛМ)
Толщина средней оболочки, мкм	338,4 ± 96,0	394,6 ± 19,3	418,4 ± 23,7	0,084	0,264	0,077	0,780
Количество мембран	26,5 ± 8,0	29,6 ± 6,4	30,0 ± 4,3	0,419	0,531	0,449	0,989

Продолжение таблицы 1

Параметр	Контроль	Левифлоксацин	Левифлоксацин / магний	р (К/Л/ЛМ)	р (К/Л)	р (К/ЛМ)	р (Л/ЛМ)
Доля эластических мембран в средней оболочке, %	59,8 ± 11,4	47,5 ± 8,2	55,1 ± 6,3	0,015*	0,012*	0,470	0,155
Средняя толщина эластической мембраны, мкм	7,6 ± 1,1	6,4 ± 0,8	7,7 ± 1,1	0,010*	0,022*	0,997	0,019*

Примечания: р (К/Л/ЛМ) – значимость различий между тремя группами (ANOVA); р (К/Л) – значимость различий между контрольной группой и животными, получавшими левофлоксацин (критерий Тьюки); р (К/ЛМ) – значимость различий между контрольной группой и животными, получавшими левофлоксацин и магния оротат; р (Л/ЛМ) – значимость различий между животными, получавшими левофлоксацин и левофлоксацин с магния оротатом; \* – значимое различие при  $p < 0,050$

Оротат магния сохранял прочностные свойства нисходящего отдела аорты при воздействии левофлоксацина. При одноосном растяжении упругое поведение демонстрировали 8 из 10 образцов контрольной группы, 8 из 10 группы левофлоксацина / магния и 3 из 10 образцов группы левофлоксацина ( $\chi^2 = 7,18$ , 2 степени свободы,  $p = 0,028$ ). Применение магния оротата у кроликов, получающих левофлоксацин, повышало предел прочности грудной аорты по сравнению с животными, получающими только фторхинолон, в среднем в 1,63 раза ( $4,8 \pm 1,7$  Н в группе левофлоксацина и  $7,8 \pm 3,2$  Н в группе левофлоксацина / магния,  $p = 0,041$ ). Наблюдались схожие изменения работы разрушения образцов, однако их значимость не достигла критического уровня.

Таким образом, в эксперименте на лабораторных кроликах показана способность оротата магния предотвращать повреждение аорты, возникающее под действием левофлоксацина.

## ВЫВОДЫ

1. Левофлоксацин и моксифлоксацин образуют прочные комплексы с магнием при физиологическом рН 7,4; в высокой концентрации 1 ммоль/л комплексообразующая активность фторхинолонов относительно ЭДТА достигает 90% и значительно превышает активность глицина и цитрата. Результат говорит о возможности конкуренции фторхинолонов с клеточными субстратами за ион  $Mg^{2+}$ , приводящей к снижению доступности  $Mg^{2+}$  для клетки и формированию тканевого дефицита магния.

2. Использование левофлоксацина в дозе 150 мг/кг/сутки в течение 14 дней снижает массово-объемное содержание магния в форменных элементах крови кроликов более чем на 20%.

3. В эксперименте на лабораторных кроликах ципрофлоксацин оказывает кардиотоксический эффект, проявляющийся удлинением интервала QTc более чем на 30 мс и ускорением внутрисердечного проведения.

4. Формирующийся внутриклеточный дефицит магния сопровождается дезорганизацией соединительной ткани стенки аорты, уменьшением содержания эластина, толщины мембран и предела прочности более чем в 2 раза, работы разрушения более чем в 1,5 раза. Применение ципрофлоксацина более безопасно в отношении повреждения аорты в сравнении с левофлоксацином.

5. Применение магния оротата в терапевтической дозе 140 мг/кг/сутки предотвращает нарушение морфологических и прочностных свойств стенки аорты в условиях действия левофлоксацина.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанная и запатентованная методика оценки комплексообразующих свойств лекарственных препаратов по отношению к ионам магния может быть использована при исследовании механизмов развития токсических эффектов других лекарственных соединений.

2. Применение фторхинолонов не должно рекомендоваться у пациентов с повреждением аорты в анамнезе.

3. Рекомендуется дальнейшее изучение препаратов магния как средств для предотвращения развития нежелательных реакций при терапии фторхинолонами.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В выполненной диссертационной работе была продемонстрирована способность фторхинолонов образовывать прочные комплексные соединения с ионами  $Mg^{2+}$ , нарушать обмен магния в организме лабораторных животных и вызывать связанное с этим поражение стенки аорты. Дальнейшие исследования могут быть направлены на анализ влияния препаратов магния на антибактериальную эффективность фторхинолонов, а также на оценку частоты выявления аортопатий в реальной клинической практике.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Изможерова, Н. В. Токсичность антибактериальных средств, связанная с дефицитом магния: химическое исследование *in vitro* / Н. В. Изможерова, Н. А. Белоконова, В. М. Бахтин // Медицинские науки. – 2018. – № 1 (1). – С. 11–17.
2. Патент № 2680519 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/15. Способ оценки комплексообразующих свойств лекарственных веществ по отношению к соединениям магния : № 2017138727 : заявл. 07.11.2017 : опубл. 22.02.2019 / Н. А. Белоконова, Н. В. Изможерова, В. М. Бахтин ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России). – 7 с.
3. Бахтин, В. М. Экспериментальная оценка химической активности фторхинолонов по отношению к ионам магния / В. М. Бахтин, Н. А. Белоконова, Н. В. Изможерова. – Текст : электронный // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : материалы V Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов, посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне, 90-летию УГМУ и 100-летию медицинского образования на Урале, Екатеринбург, 9–10 апреля 2020 года. В 3 т. Т. 3 / ответственный редактор Н. А. Цап. – Екатеринбург, 2020. – С. 443–446. – URL: <http://elib.usma.ru/handle/usma/3442> (дата обращения: 16.03.2024).
4. Изможерова, Н. В. Анализ комплексообразования левофлоксацина с ионами магния / Н. В. Изможерова, Н. А. Белоконова, В. М. Бахтин // Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии : сборник тезисов докладов Шестой Междисциплинарной конференции, Нижний Новгород, 27–30 сентября 2020 года / под ред. К. В. Кудрявцева и Е. М. Паниной. – Москва, 2020. – С. 10.

5. Экспериментальная оценка влияния фторхинолонов на интервал QT у кроликов / Е. В. Маркова, С. А. Батурин, И. А. Пономарев, А. Н. Иванова, А. О. Кирьянова, В. М. Бахтин, Н. В. Изможерова. – Текст : электронный // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : материалы V Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов, посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне, 90-летию УГМУ и 100-летию медицинского образования на Урале, Екатеринбург, 09–10 апреля 2020 года. В 3 т. Т. 3 / ответственный редактор Н. А. Цап. – Екатеринбург, 2020. – С. 545–550. – URL: <http://elib.usma.ru/handle/usma/3487> (дата обращения: 16.03.2024).
6. Комплексообразующие свойства аминогликозидов и фторхинолонов по отношению к ионам магния / К. А. Кабанова, В. М. Бахтин, Н. А. Белоконова, Н. В. Изможерова. – Текст : электронный // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : материалы VI Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов, посвященной году науки и технологий, Екатеринбург, 8-9 апреля 2021 г. В 3 т. Том 2 / ответственный редактор Н. А. Цап. – Екатеринбург, 2021. – С. 987–992. – URL: <http://elib.usma.ru/handle/usma/5976> (дата обращения: 16.03.2024).
7. Математическое моделирование дозозависимости химической активности антибактериальных средств по отношению к ионам магния / Н. В. Изможерова, А. Н. Вараксин, Н. А. Белоконова, В. М. Бахтин // Актуальные исследования в фармакологии : материалы II Научной конференции молодых учёных с международным участием, ФГБНУ "НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, 28-29 октября 2021 г. – С. 100–102. – (Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии ; приложение).
- 8. Поражение аорты при терапии фторхинолонами / Н. В. Изможерова, А. А. Попов, В. М. Бахтин, Е. В. Маркова // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2021. – Т. 9, № 2. – С. 69–74.**
9. Роль магния в интегрин-коллагеновых взаимодействиях / А. Н. Черникова, В. О. Поздеева, В. М. Бахтин, М. А. Шамбатов, Н. В. Изможерова. – Текст : электронный // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : материалы VI Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов, посвященной году науки и технологий, Екатеринбург, 8–9 апреля 2021 г. В 3 т. Т. 2 / ответственный редактор Н. А. Цап. – Екатеринбург, 2021. – С. 1154–1157. – URL: <http://elib.usma.ru/handle/usma/6065> (дата обращения: 16.03.2024).
10. Роль магния в функционировании калиевых каналов миокарда / Ю. К. Кондрашова, Ю. Ш. Тагоев, В. М. Бахтин, Н. В. Изможерова. – Текст : электронный // Актуальные вопросы современной медицинской науки и

здравоохранения : материалы VI Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов, посвященной году науки и технологий, Екатеринбург, 8–9 апреля 2021 года. В 3 т. Т. 2 / ответственный редактор Н. А. Цап. – Екатеринбург, 2021. – С. 1000–1005. – URL: <http://elib.usma.ru/handle/usma/5997> (дата обращения: 16.03.2024).

11. Бахтин, В. М. Взаимосвязь сывороточного уровня магния и механической прочности грудной аорты лабораторных кроликов в условиях воздействия фторхинолонов / В. М. Бахтин, Н. В. Изможерова, Д. В. Зайцев. – Текст : электронный // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : сборник статей VII Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, Екатеринбург, 17–18 мая 2022 года / ответственный редактор Я. Г. Божко. – Екатеринбург, 2022. – С. 2719–2724. – URL: <http://elib.usma.ru/handle/usma/10330> (дата обращения: 16.03.2024).

**12. Бахтин, В. М. Комплексообразование фторхинолонов с ионами магния / В. М. Бахтин, Н. В. Изможерова, Н. А. Белоконова // Бюллетень сибирской медицины. – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 6–12.**

13. Зайцев, Д. В. Влияние фторхинолонов на механическую прочность соединительнотканых структур лабораторных кроликов при одноосном растяжении / Д. В. Зайцев, Н. В. Изможерова, В. М. Бахтин // Актуальные вопросы прочности : сборник тезисов LXIV Международной конференции, Екатеринбург, 4–8 апреля 2022 г. / отв. редактор Д. В. Зайцев. – Екатеринбург, 2022. – С. 376–378.

**14. Анализ токсического действия фторхинолонов на модели лабораторных кроликов / Н. В. Изможерова, В. В. Базарный, В. М. Бахтин, Л. Г. Полушина, А. Ю. Максимова // Уральский медицинский журнал. – 2023. – Т. 22, № 4. – С. 61–68.**

15. Бахтин, В. М. Влияние оротата магния на прочность грудной аорты лабораторных кроликов, получающих левофлоксацин / В. М. Бахтин, Н. В. Изможерова. – Текст : электронный // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : сборник статей VIII Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, Екатеринбург, 19–20 апреля 2023 года / ответственный редактор Я. Г. Божко. – Екатеринбург, 2023. – С. 2951–2956. – URL: <http://elib.usma.ru/handle/usma/14457> (дата обращения: 16.03.2024).

16. Бахтин, В. М. Дефицит магния и механическая прочность аорты при терапии фторхинолонами / В. М. Бахтин, Н. В. Изможерова, Д. В. Зайцев // Открытый конкурс молодых ученых "Научная высота" : сборник тезисов докладов, Екатеринбург, 20–21 апреля 2023 года / Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высокотемпературной электрохимии

Уральского отделения Российской академии наук. – Екатеринбург, 2023. – С. 61–63.

17. Взаимосвязь электрокардиографических параметров и уровня магния у лабораторных кроликов, получающих левофлоксацин / М. А. Башинджагян, А. А. Яковлева, В. М. Бахтин, Н. В. Изможерова. – Текст : электронный // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : сборник статей VIII Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, Екатеринбург, 19–20 апреля 2023 года / ответственный редактор Я. Г. Божко. – Екатеринбург, 2023. – С. 2956–2961. – URL: <http://elib.usma.ru/handle/usma/14458> (дата обращения: 16.03.2024).

**18. Влияние фторхинолонов на состояние сердечно-сосудистой системы лабораторных кроликов / Н. В. Изможерова, В. М. Бахтин, А. А. Яковлева, М. А. Башинджагян, Е. А. Макаров, К. А. Кабанова // Уральский медицинский журнал. – 2023. – Т. 22, № 1. – С. 72–77.**

**19. Изможерова, Н. В. Влияние фторхинолонов на механическую прочность грудной аорты и сывороточный уровень магния у лабораторных кроликов / Н. В. Изможерова, Д. В. Зайцев, В. М. Бахтин // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2023. – Т. 22, № 3. – С. 20-26.**

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

ГДС – грубодисперсная система

КФК-МВ – креатинфосфокиназа МВ

ЭДТА – этилендиаминтетраацетат

ЭКГ – электрокардиография

ANOVA – дисперсионный анализ

hERG – калиевый канал быстрого компонента замедленного тока внешнего выпрямления

ММР – матриксная металлопротеиназа

QTc – скорректированный интервал QT

ТИМР – тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ