

<https://doi.org/10.34883/PI.2022.12.3.018>



Афлитонов М.А.<sup>1</sup> ✉, Стрельникова Е.Г.<sup>2</sup>, Безрукова Е.В.<sup>2</sup>, Артюшкин С.А.<sup>2</sup>, Воронов А.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

<sup>2</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи, Санкт-Петербург, Россия

## Терапевтический лекарственный мониторинг топических глюкокортикостероидов: использование метода высокoeffективной жидкостной хроматографии для обнаружения мометазона фууроата в полипах носа

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Афлитонов М.А., Артюшкин С.А. – концепция и дизайн исследования, редактирование; Афлитонов М.А., Стрельникова Е.Г., Безрукова Е.В., Воронов А.В. – сбор материала, обработка, написание текста.

Подана: 12.06.2022

Принята: 12.09.2022

Контакты: maksim-aflitonov@yandex.ru

### Резюме

**Введение.** Стратификация истинной (биологической) резистентности к тГКС и ложной (кондуктивной) является критической задачей при лечении резистентных форм хронического полипозного риносинусита (ХПРС). Достоверное определение содержания тГКС в полипозной ткани может стать объективным методом контроля терапии при ХПРС.

**Цель.** Определить качественное и количественное содержание мометазона фууроата в полипах носа методом высокoeffективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

**Материалы и методы.** Проведено обследование фрагментов нативных тканей 101 пациента с ХПРС, возраст пациентов от 19 до 56 лет. Средний возраст составил (37,5±9,1) года. Среди них мужчин – 53 (52,47%), женщин – 48 (47,53%). Концентрацию мометазона фууроата определяли методом ВЭЖХ диализата полипозной ткани. Диализат полипозной ткани получали методом микродиализа нативных тканей человека.

**Результаты.** С помощью метода ВЭЖХ при ХПРС на примере мометазона фууроата достоверно подтверждено наличие мометазона в полипозной, гипертрофированной и нативной ткани пациентов.

**Заключение.** Разработан метод терапевтического лекарственного мониторинга при ХПРС на примере мометазона фууроата и ВЭЖХ, дающий достоверную информацию о концентрации действующего вещества в полипозной ткани пациента.

**Ключевые слова:** терапевтический лекарственный мониторинг, высокoeffективная жидкостная хроматография, полипы носа, хронический риносинусит, мометазон фууроат

Aflitonov M.<sup>1</sup> ✉, Strelnicova E.<sup>2</sup>, Bezrukova E.<sup>2</sup>, Artyushkin S.<sup>2</sup>, Voronov A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

<sup>2</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Saint-Petersburg Research Institute of Ear, Throat, Nose and Speech, Saint-Petersburg, Russia

## Therapeutic Drug Monitoring for Topical Glucocorticoids: Using High-Performance Liquid Chromatography Method for Mometasone Furoate Detecting in Nasal Polyps

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Aflitonov M., Artyushkin S. – research concept and design, editing; Aflitonov M., Strelnicova E., Bezrukova E., Voronov A. – collecting material, processing, writing text.

Submitted: 12.06.2022

Accepted: 12.09.2022

Contacts: maksim-aflitonov@yandex.ru

### Abstract

---

**Introduction.** Stratification of true (biological) resistance for topical glucocorticoids from false (conductive) is an urgent task in the treatment of resistant forms of chronic rhinosinusitis with nasal polyps.

**Purpose.** The main goal of the study is to determine the quantitative and qualitative content of topical glucocorticoids in nasal polyps.

**Materials and methods.** 101 patients were examined, the age of patients was from 19 to 56 years. The average age was  $(37.5 \pm 9.1)$  years. Men – 53 (52.47%), women – 48 (47.53%). Mometasone concentration was determined by HPLC method of polyposis tissue dialysate. Polypous tissue dialysate was obtained by microdialysis of native human tissues.

**Results.** Using the HPLC method in CPRS, using mometasone furoate as an example, the presence of mometasone in healthy, hypertrophied and native tissue of patients was reliably confirmed.

**Conclusion.** Therapeutic drug monitoring method for chronic rhinosinusitis with nasal polyps using mometasone furoate and high performance liquid chromatography has been developed. Drug monitoring provides reliable information about active substance concentration in the polyposis tissue of the patient. Topical agents testing model has been created (consisting of native polyps fragments, dialysis microtubules system and dialysate collection tank with micropump). Testing model allows new drugs pharmacodynamics and pharmacokinetics studying.

**Keywords:** therapeutic drug monitoring, high-performance liquid chromatography, nasal polyps, chronic rhinosinusitis

---

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Во многих случаях наблюдается резистентность хронического полипозного риносинусита к топическим глюкокортикостероидам. При составлении EPOS-2020 был введен термин «трудно поддающийся лечению хронический риносинусит», при котором использование тГКС бывает недостаточно для поддержания длительной и стабильной ремиссии после хирургического лечения. Большая межиндивидуальная (фармакокинетическая) вариация между дозой и эффектом присутствует, когда существует коморбидность с астмой, послеоперационная трансформация слизистой оболочки, бактериальное контаминирование, образование биопленок. При резистентных формах особо ценной информацией является определение концентрации действующего вещества в полипозных тканях для стратификации истинной (биологической) резистентности к тГКС и ложной (кондуктивной) [1]. Осуществление рутинного измерения концентрации лекарственного средства в месте действия затруднено по многим причинам, однако при резистентных формах трудозатраты могут быть нивелированы сохраненной стоимостью тГКС. Лекарственный мониторинг при ХПРС может позволять измерять концентрацию лекарств как в полипозной ткани, так и в здоровой слизистой носа. Полученная информация должна быть использована для индивидуального подбора дозы, поддержания концентрации лекарственного средства в пределах целевого диапазона, выбора тактики применения системных ГКС или моноклональной терапии [2].

Терапевтический лекарственный мониторинг при ХПРС должен включать не только измерение концентрации лекарственного средства, но и клиническую интерпретацию результата для определения дальнейшей тактики лечения. Для разработки методов индивидуального подбора лекарственного средства требуется создание новых подходов терапевтического лекарственного мониторинга тГКС, уточнение фармакокинетики, преаналитического этапа и разработка апробационных моделей для их тестирования [3].

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить качественное и количественное содержание мометазона фууроата в полипах носа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

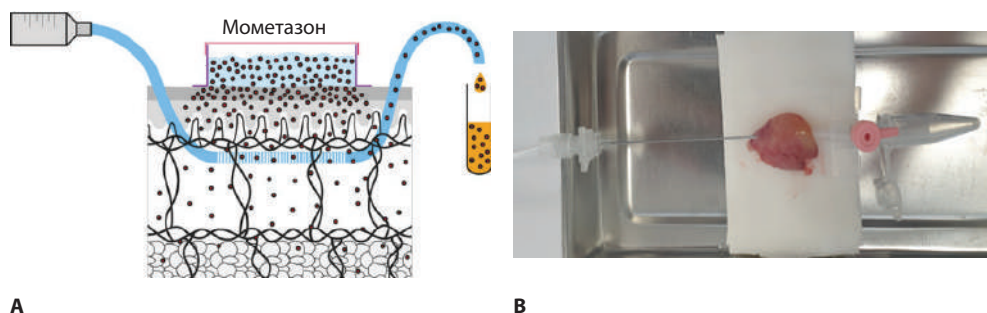
Исследование проводилось *in vitro*, для лабораторных тестов использовался операционный материал 101 пациента с ХПРС, возраст пациентов от 19 до 56 лет. Средний возраст составил  $(37,5 \pm 9,1)$  года. Среди них мужчин – 53 (52,47%), женщин – 48 (47,53%). Исследование шло по 2 направлениям. В первой группе проводилось исследование динамики биораспределения мометазона во фрагментах слизистой пациентов, не получавших мометазон на догоспитальном этапе (мометазон инсталлировался на площадки обмена в ходе эксперимента,  $n=24$  пациента). В апробации методики приняли участие 8 пациентов с ХПРС; 7 пациентов с гипертрофией носовых раковин; 9 пациентов с нативной слизистой носовых раковин (фрагменты конхотомии буллезных раковин).

Во второй группе использовался материал пациентов, находящихся на топической терапии мометазоном фууроатом: в течение 3 месяцев – 23 пациента;

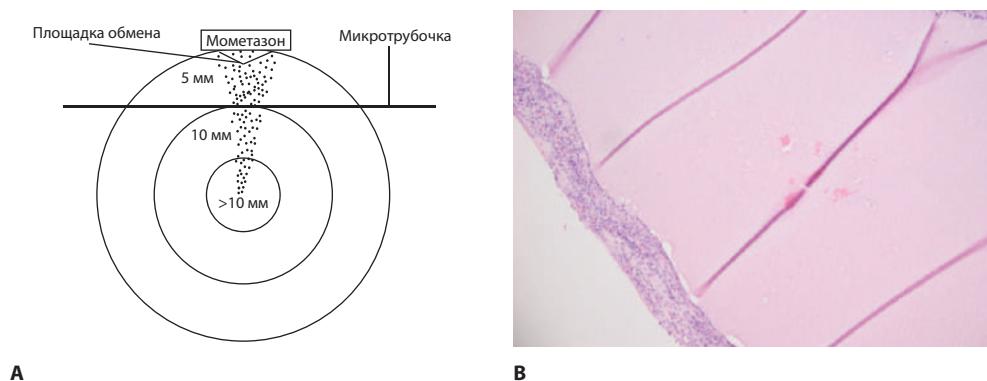
6 месяцев – 19 пациентов; 12 месяцев – 35 пациентов. В качестве группы контроля использовались фрагменты носовых раковин, полученные в процессе задней конхотомии, размерами до 22 мм – 9 пациентов. У всех пациентов отсутствовал анамнез оперативного лечения до госпитализации. Эозинофильный тип полипоза по данным гистологии наблюдался у 53 (68,8%) пациентов, нейтрофильный – у 18 (23,3%) и лимфоплазмочитарный – у 6 (7,7%).

Для получения биологической жидкости, содержащей мометазон, использовалась методика микродиализа тканей. Фрагменты полипозной ткани из полости носа пациентов забирались в процессе полипотомии. Схема эксперимента представлена на рис. 1. Диализат получали посредством пропускания перфузата сквозь зонды диаметром 0,55 мм и площадки обмена длиной 5 мм.

Средняя глубина установки микротрубочек составляла 5 мм. Установка микротрубочек для диализа производилась по схеме на рис. 2, А, гистологические снимки



**Рис. 1. Методика микродиализа полипозной ткани: А – схема установки для микродиализа; В – фото установки для микродиализа**  
**Fig. 1. Technique of microdialysis of polypoid tissue: А – diagram of the installation for microdialysis; В – photo of the microdialysis unit**

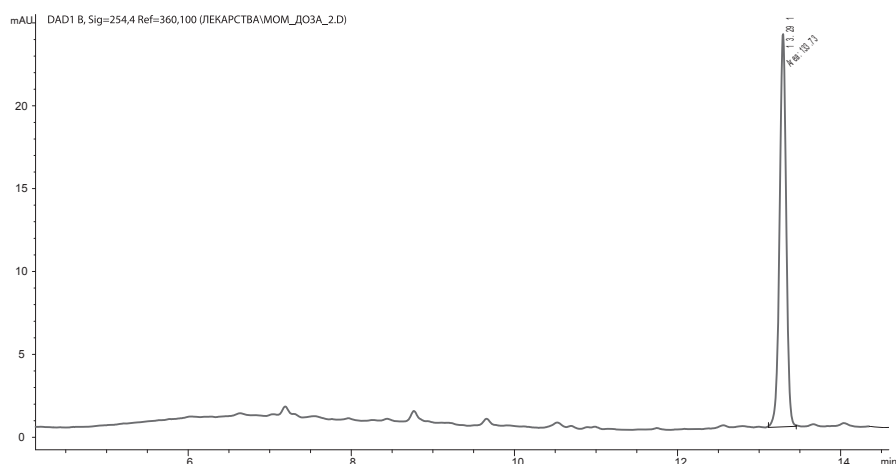


**Рис. 2. Установка микротрубочек для диализа: А – схема установки микротрубочек; В – гистологические срезы микропрепаратов, содержащих микротрубочки**  
**Fig. 2. Installation of microtubules for dialysis: А – diagram of the installation of microtubules; В – histological sections of micropreparations containing microtubules**

полипозной ткани с микротрубочками представлены на рис. 2, В. В первой группе осуществлялась инсталляция двух доз мометазона на площадку обмена. Во второй группе площадка обмена отсутствовала. В одной дозе содержалось 50 мкг мометазона. Перфузат (дихлорметан) пропускали с помощью перистальтического насоса через нативные образцы до получения 1 мл диализата. Полученные пробы (20 мкл) хранили в холодильнике при  $-40^{\circ}\text{C}$  в центрифужных пробирках Eppendorf до аналитического этапа.

Собранный органический экстракт выпаривали в токе воздуха до сухого остатка. Полученный сухой остаток растворяли в 60 мкл подвижной фазы и переносили в микроцифры для ВЭЖХ. Хроматографический анализ выполняли на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1260 Infinityс диодно-матричным детектором. Условия проведения анализа: колонка Phenomenex Luna C18 (2),  $150 \times 2,00$  мм, 5 мкм при температуре  $28^{\circ}\text{C}$  и предколонка Eclipse XDB-C18  $4,6 \times 12,5$  мм, 5 мкм. В качестве подвижной фазы в режиме градиентного элюирования использовали смесь ацетонитрила в бидистиллированной воде (от 25 до 80% ацетонитрила). Скорость потока подвижной фазы – 0,3 мл/мин. Объем вводимой пробы – 20 мкл. Время хроматографирования – 15 мин. УФ-детектирование проводили при длине волны  $(254 \pm 1,2)$  нм (рис. 3). Фармацевтическая лекарственная форма – мометазона фуруат спрей назальный 50 мкг/доза (серия № GLG122), помеченный как содержащий 50 мкг на одно нажатие, был изготовлен «Тева» (Израиль) и получен на российском рынке. Все реагенты, использованные в работе, были аналитической чистоты, а растворители для ВЭЖХ – квалификации ВЭЖХ. Дихлорметан (сорт ос. ч. для жидкостной хроматографии, «Экос-1», Россия), ацетонитрил (сорт «0», «Криохром», Россия). Для построения калибровочной зависимости по методу абсолютной градуировки использовался раствор мометазона фуруата (препарат «Элоком», Канада) различной концентрации.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программ Microsoft Excel 2010, Statsoft Statistica 10.0. При сравнении групп для выборок с нормальным распределением использовался t-критерий Стьюдента,



**Рис. 3. Пик на хроматограмме, соответствующий стандартному раствору мометазона фуруата**  
**Fig. 3. Peak in the chromatogram corresponding to the mometasone furoate standard solution**

для непараметрических выборок – U-критерий Манна – Уитни, W-критерий Вилкоксона применялся для сравнения парных связанных групп, если распределение показателей хотя бы в одной группе отличалось от нормального. Оценка нормальности распределения проводилась с помощью теста Колмогорова – Смирнова, для оценки корреляции использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех случаях удалось получить мометазон, содержащий диализат при перфузии нативных фрагментов полипозной ткани. Пример хроматограммы представлен на рис. 3. Максимальные цифры концентрации мометазона у пациентов первой группы получены при гипертрофированной слизистой носовых раковин. Минимальные значения концентрации при ХПРС. Концентрация мометазона в неизменной слизистой была (160,2±400,6) нг/мл. Данные концентраций показывают пониженную способность мометазона к биораспределению в полипозной ткани при кратковременном воздействии с площадки обмена. Затруднение биораспределения препаратов в полипозной слизистой отмечает ряд других авторов [4, 5]. Концентрацию мометазона в неизменной слизистой пациентов первой группы можно использовать для разработки референсных значений.

Во второй группе получены сопоставимые данные по концентрации мометазона между гипертрофированной слизистой и полипозной тканью после 3, 6, 12 месяцев применения. Прослеживается тенденция к уменьшению концентрации мометазона в полипозной ткани по сравнению с гипертрофированной слизистой, что подтверждает устойчивость полипозного риносинусита к медикаментозной терапии [6, 7].

При полипозе носа наблюдается неравномерное распределение содержания мометазона, что может обуславливать пониженную концентрацию в пробах. В литературе наличие неоднородности полипозной ткани описано достаточно широко.

Таблица 1  
Содержание мометазона в первой группе; M±m  
Table 1  
Mometasone concentration in 1 group; M±m

| Содержание мометазона в подгруппах (нг/мл) |                       |                                      |
|--------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| ХПРС                                       | Гипертрофия слизистой | Слизистая носовых раковин (контроль) |
| 110,3±20,3                                 | 240,9±70,1            | 160,2±40,6                           |

Примечание: достоверные различия между пациентами в подгруппах (p<0,05).

Таблица 2  
Содержание мометазона на протяжении 3, 6, 12 месяцев во второй группе; M±m  
Table 2  
Mometasone concentration in 2 group (3, 6, 12 months); M±m

| Время использования | Содержание мометазона в исследуемых группах (нг/мл) |                       |
|---------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------|
|                     | ХПРС                                                | Гипертрофия слизистой |
| 3 месяца            | 90,8±10,9                                           | 100,46±9,1            |
| 6 месяцев           | 92,1±16,1                                           | 111,36±12,5           |
| 12 месяцев          | 110,3±20,7                                          | 130,93±10,3           |

Примечание: достоверные различия между пациентами в подгруппах (p<0,05).

Таблица 3  
Содержание мометазона при разных гистологических типах полипоза; M±m  
Table 3  
Mometasone concentration in 2 group (different histological types); M±m

| Время использо-<br>вания | Содержание мометазона в исследуемых группах (нг/мл) |                         |                          |
|--------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------|
|                          | ХПРС эозинофиль-<br>ный                             | ХПРС нейтрофиль-<br>ный | ХПРС лимфоплазмоцитарный |
| 12 месяцев               | 90,7±10,3                                           | 120,5±40,2              | 110,7±30,7               |

Примечание: достоверные различия между пациентами в подгруппах (p<0,05).

Полипы имеют в своей структуре инфекционные микроабсцессы, очаги асептического некроза (обусловленные локальной ишемией) и широкую сеть поствоспалительной рубцовой ткани. Данные эффекты, по всей видимости, и обуславливают неравномерное распределение мометазона в тканях при ХПРС [8].

Разница в концентрации в первой и второй группе обусловлена дозозависимым эффектом. По всей видимости, доза поступления при интраназальном применении мометазона значительно ниже дозы, инсталлируемой на площадку обмена. Однако концентрации при инсталляции на нативную слизистую и при длительном применении были сопоставимы, что требует дополнительного изучения.

Оценивая распределение мометазона при различных гистологических типах строения полипоза, отмечается сопоставимое значение концентраций при нейтрофильном и лимфоплазмоцитарном типе. Минимальные значения концентрации получены при эозинофильном типе.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан и апробирован терапевтический лекарственный мониторинг интраназальных глюкокортикостероидов техникой определения мометазона фууроата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии диализата полипозной ткани. Разработана и апробирована биологическая модель для лекарственного мониторинга интраназальных глюкокортикостероидов, состоящая из фрагментов нативных полипов, системы диализных микротрубочек, емкости сбора диализата, микропомпы. Концентрация мометазона фууроата достигает стабильности к третьему месяцу применения и стабильна на протяжении 12 месяцев.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bezrukova E.V., Khmel'nizkaya M.A., Afritonov M.A. Modern aspects of immunopathogenesis of chronic polyposis rhinosinusitis. *Russian otorhinolaryngology*. 2017;1(3):16–23. (in Russian)

2. Lee S.I., Lane A.O. Chronic rhinosinusitis as a multifactorial inflammatory disorder. *Current Infectious Disease Reports*. 2011;13(2):159–168.

3. Drumond J.B., Allegro B.N., Novo N.K., Miranda S.S., Sendyk W.W. Evaluation of the Prevalence of Maxillary Sinuses Abnormalities through Spiral Computed Tomography. *Archive of International Archives of Otorhinolaryngology*. 2017;21 (2):126–133.

4. Varyushina E.V. Bezrukova E.V. Vorobeychikov E.V. Kravchenko Yu.V. Sukhareva M.A. Afritonov A.S. Simbirtsev. Study of local inflammatory response in different clinical forms of chronic polyposis rhinosinusitis. *Medical Immunology (Russia)*. 2022;24(3):621–636. (in Russian)

5. Leopold D.A., Elkayam D., Messina J.C., NAVIGATE II: randomized, double-blind trial of the exhalation delivery system with fluticasone for nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;143(1):126–134.

6. Afritonov M.A., Artyushkin S.A., Partsernyak S.A. Verification and treatment of resistant chronic rhinosinusitis with nasal polyps at multimorbid cardiovascular pathology. *HERALD of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2017;9(2):90–96. (in Russian)

7. Afritonov M.A., Artyushkin S.A., Partsernyak S.A., Naumov S.Y., Partsernyak A.S., Topanova A.A. Specific features of melatonin metabolism in chronic rhinosinusitis with nasal polyps associated with multimorbid cardiovascular pathology. *Russian otorhinolaryngology*. 2016;5(84):14–21. (in Russian)

8. Bachert C., Akdis C.A. Phenotypes and emerging endotypes of chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;1(4):621–628.