



Сравнительная оценка биодоступности компонентной смеси ботулотоксина А и тизоля с раствором ботулотоксина А для слизистой мочевого пузыря в эксперименте

© Сергей В. Поройский¹, Дмитрий В. Перлин^{1,2}, Ольга Г. Струссовская¹, Николай А. Гончаров^{1,3}, Александр А. Кузнецов¹, Егор А. Морозов¹

¹ Волгоградский государственный медицинский университет [Волгоград, Россия]

² Волгоградский областной уронефрологический центр [Волжский, Волгоградская область, Россия]

³ Волгоградская областная клиническая больница №1 [Волгоград, Россия]

Аннотация

Введение. Для лечения синдрома гиперактивного мочевого пузыря показано инъекционное введение ботулотоксина типа А (BoT-A) в стенку мочевого пузыря. Разработка менее инвазивного способа введения BoT-A позволила бы существенно расширить возможности коррекции синдрома гиперактивного мочевого пузыря.

Цель исследования. Определить влияние тизоля на биологическую доступность BoT-A для слизистой мочевого пузыря, сравнить её с биодоступностью BoT-A.

Материалы и методы. В качестве экспериментальной модели для изучения изменения биодоступности BoT-A в комплексе с тизолем и без в эксперименте *in vitro*, использовали модель диализа через слизистую оболочку мочевого пузыря телёнка. После проведённого диализа с помощью спектрофотометра определяли концентрацию BoT-A в обоих образцах. В соответствии с полученными данными строили кривые диализа. Для определения биологической доступности BoT-A использовали метод равновесного диализа по Кривчинскому. Для определения содержания BoT-A в акцепторной среде применяли метод УФ-спектрофотометрии по реакции BoT-A с реактивом Benedict.

Результаты. Установлено, что максимальное количество BoT-A диффундировало в акцепторную среду из смеси исследуемого вещества с тизолем через 9 часов. Площадь под кривой диализа смеси BoT-A с тизолем превышает площадь под кривой BoT-A почти на 20%, что свидетельствует об улучшении биологической доступности препарата в присутствии тизоля.

Заключение. Компонентная смесь тизоля и BoT-A обладает большей биодоступностью чем раствор чистого BoT-A. Однако скорость диффузии компонентной смеси достаточна низка.

Ключевые слова: ботулотоксин А; тизоль; глицеросольват титана; уротелий; гиперактивный мочевой пузырь

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям (№ 19043ГУ/2023 от 21 февраля 2024). **Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов: С.В. Поройский — научное руководство, концепция исследования, разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста рукописи; Д.В. Перлин — разработка дизайна исследования, анализ данных, научное редактирование; О.Г. Струссовская — разработка дизайна исследования, разработка и проведение эксперимента, работа с биологическим материалом, анализ данных, статистическая обработка данных; Н.А. Гончаров — концепция исследования, разработка дизайна исследования, сбор данных, анализ данных, статистическая обработка данных, разработка и проведение эксперимента, работа с биологическим материалом, написание текста рукописи, критический обзор; А.А. Кузнецов — обзор литературы, научное редактирование, софтверная поддержка; Е.А. Морозов — анализ данных, статистическая обработка данных, обзор литературы, научное редактирование, софтверная поддержка.

✉ **Корреспондирующий автор:** Николай Александрович Гончаров; goncharov1773@gmail.com

Поступила в редакцию: 13.08.2023. **Принята к публикации:** 12.03.2024. **Опубликована:** 26.06.2024.

Для цитирования: Поройский С.В., Перлин Д.В., Струссовская О.Г., Гончаров Н.А., Кузнецов А.А., Морозов Е.А. Сравнительная оценка биодоступности компонентной смеси ботулотоксина А и тизоля с раствором ботулотоксина А для слизистой мочевого пузыря в эксперименте. *Вестник урологии*. 2024;12(3):79-87. DOI: 10.21886/2308-6424-2024-12-3-79-87.

Comparative evaluation of bioavailability of Botulinum toxin A complexed with Tizol (titanium glycerosolvate aquacomplex) versus pure Botulinum toxin A solution for bladder mucosa: an experimental study

© Sergey V. Poroykiy¹, Dmitriy V. Perlin^{1,2}, Olga G. Srussovskaya¹,
Nikolai A. Goncharov^{1,3}, Alexander A. Kuznetsov¹, Egor A. Morozov¹

¹ Volgograd State Medical University [Volgograd, Russian Federation]

² Volgograd Regional Urology and Nephrology Centre [Volzhsky, Volgograd region, Russian Federation]

³ Volgograd Regional Hospital No. 1 [Volgograd, Russian Federation]

Abstract

Introduction. For the treatment of overactive bladder syndrome (OAB), injection of botulinum toxin A (BoNT-A) has been shown to be effective. However, there is a need for a less invasive method for administering BoNT-A, which could significantly expand the treatment options for OAB.

Objective. To assess the impact of tizol on the absorption of BoNT-A by the bladder mucosa and compare it to the individual absorption of BoNT-A.

Materials & Methods. Dialysis through the mucous membrane of the calf bladder was used as an experimental model to study changes in bioavailability of BoNT-A complexed with tizol (BoNT-A + T) and pure BoNT-A solution during in vitro experiment. After dialysis, the BoNT-A concentration in both samples was determined using a spectrophotometer. Dialysis curves were plotted according to the data obtained. Kruvchinsky equilibrium dialysis method was used to determine botulinum toxin A bioavailability. The UV spectrophotometry method was used to determine the concentration of BoNT-A in the acceptor medium by reaction of BoNT-A with Benedict's reagent.

Results. It was established that the maximum concentration of BoNT-A diffused into the acceptor medium from the blend of the test substance with tizol after nine hours. The area under the curve for dialysis of BoNT-A + T exceeds the area under the curve of pure BoNT-A by almost 20%, suggesting an improvement in the drug's bioavailability when blended with tizol.

Conclusion. Based on our experiment, it was found out that the BoNT-A + T has greater bioavailability than a solution of pure BoNT-A. However, the diffusion rate of the component mixture is sufficiently low.

Keywords: botulinum toxin A; tizol, titanium glycerosolvate; urothelium; hyperactive bladder

Financing. The research was supported by FASIE (No 19043GU/2023 dated February 21, 2024). **Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest.

Authors' contribution: S.V. Poroykiy — supervision, study concept, study design development, data analysis, drafting the manuscript; D.V. Perlin — study design development, data analysis, software; O.G. Srussovskaya — study design development, experiment design and implementation, biological material processing, data analysis, statistical data processing; N.A. Goncharov — study concept, study design development, data acquisition, data analysis, statistical data processing, experiment design and implementation, biological material processing, drafting the manuscript, critical review; A.A. Kuznetsov — literature review, scientific editing, software; E.A. Morozov — data analysis, statistical data processing, literature review, scientific editing, software.

✉ **Corresponding author:** Nikolay A. Goncharov; goncharov1773@gmail.com

Received: 08/13/2023. **Accepted:** 03/12/2024. **Published:** 06/26/2024.

For citation: Poroykiy S.V., Perlin D.V., Srussovskaya O.G., Goncharov N.A., Kuznetsov A.A., Morozov E.A. Comparative evaluation of bioavailability of Botulinum toxin A complexed with Tizol (titanium glycerosolvate aquacomplex) versus pure Botulinum toxin A solution for bladder mucosa: an experimental study. *Urology Herald*. 2024;12(3):79-87. (In Russ.). DOI: 10.21886/2308-6424-2024-12-3-79-87.

Введение

Мочевой пузырь является полым мышечным органом и выполняет две основные задачи: накопление мочи (большую часть времени без повышения внутрипузырного давления) и выведение мочи. Внутренняя поверхность мочевого пузыря выстлана переходно-клеточной эпителиальной оболочкой — уротелием, который выполняет важную функцию хранения мочи в течение длительного периода времени, сохраняя при этом её состав, аналогичный составу мочи, выделяемому почками [1].

Уротелий состоит из трёх слоёв: слой базальных клеток, промежуточно-клеточный слой и слой зонтичных клеток [2]. Слой

зонтичных клеток является единственным уротелиальным слоем, который образует плотные адгезионные соединения, отвечающие за барьерную функцию [3]. Этот барьер сложный и включает в себя три компонента: апикальный, латеральный и базальный. Апикальный мембранный барьер состоит из белков уроплакинов, которые собраны в гексагональные уротелиальные бляшки. Уротелиальная бляшка представляет до 90% поверхности просвета и придает трансцеллюлярную резистентность, ограничивая проницаемость для воды, растворённых веществ и токсинов [4]. Плотные соединения зонтичных клеток образуют латеральный барьер [5]. Апикальные соединения представляют собой специали-

зированные эпителиальные структуры; как отличительная черта поляризованных эпителиальных клеток, они играют решающую роль в регуляции парацеллюлярного транспорта [2]. Мембраны эпителиальных клеток образуют барьер для макромолекул и гидрофильных растворов, включая ионы и воду; однако эти молекулы потенциально могут перемещаться по парацеллюлярному пути в клеточных соединениях. Адгезивные соединения и десмосомы имеют решающее значение для связи межклеточной адгезии с актиновыми или промежуточными филаментами цитоскелета и соединения соседних эпителиальных клеток. Тем не менее эти соединения не закрывают парацеллюлярный путь, так как он контролируется плотными соединениями, компонентом апикального соединительного комплекса, граничащего с просветом [6].

Несмотря на непроницаемость апикальной мембраны, уротелий экспрессирует белки аквапорины, которые могут переносить небольшое количество различных веществ [7].

Хотя исторически уротелий рассматривался в первую очередь как «барьер», его всё чаще оценивают как реагирующую структуру, способную обнаруживать физиологические и химические стимулы, высвобождая ряд сигнальных молекул. Данные, накопленные за последние несколько лет, показывают, что уротелиальные клетки обладают рядом свойств, сходных с сенсорными нейронами (ноцицепторами / механорецепторами) и что оба типа клеток используют различные механизмы передачи сигналов для обнаружения физиологических стимулов [8]. Уротелий экспрессирует различные виды рецепторов: холинергические, пуринергические, адренергические, а также кислотночувствительные ионные каналы, каналы временного рецепторного потенциала. Экспрессия этих рецепторов и ионных каналов позволяет уротелию реагировать на различные стимулы из различных источников [2]. Кроме того, уротелий может сам секретировать сигнальные молекулы, которые включают в себя нейротрофины, нейропептиды, АТФ, ацетилхолин, простагландины, оксид азота и цитокины [9 – 11]. Эти сигнальные молекулы могут взаимодействовать с другими клетками, такими как нейроны, гладкомышечные клетки, интерстициальные клетки [10, 12].

Было показано, что во время наполнения мочевого пузыря или более происходит выработка АТФ и его связывание с пуринергическими рецепторами [12]. Кроме сигнальных молекул и рецепторов, в уротелии существует множество каналов временного рецепторного потенциала (TRP) [2]. Эти каналы имеют специфическое распределение в тканях и активируются различными экзогенными и эндогенными медиаторами [13, 14], и они играют очень важную функциональную роль в мочеиспускании [15]. Нарушение функции каналов TRP может быть связано с синдромом гиперактивного мочевого пузыря и интерстициального цистита [16, 17]. Одним из примеров уротелиальной сенсорной молекулы является TRP-канал TRPV1 (ванилоидный), который, как известно, играет заметную роль в ноцицепции и функции мочевого пузыря [18]. Внутрипузырное введение ванилоидов (капсаицина или резинифератоксина) улучшает уродинамические показатели у больных с нейрогенной гиперактивностью детрузора и уменьшает боль в мочевом пузыре у пациентов с явлениями гиперчувствительности [19, 20].

Хотя уротелий поддерживает плотный барьер для потока ионов и растворённых веществ, ряд факторов, таких как pH ткани, механическая или химическая травмы, бактериальная инфекция, могут модулировать эту барьерную функцию [21, 22]. Некоторые агенты способны глубоко проникать в слизистую и мышечную оболочку мочевого пузыря и играть роль проводников увеличивая пенетрантность лекарственных веществ в ткани без потери их эффективности. Одним из веществ, которое может модулировать проницаемость уротелия, может быть, глицеросольват титана (тизоль) [23].

Для лечения синдрома гиперактивного мочевого пузыря, согласно Российским и Европейским Клиническим Рекомендациям, показано использование ботулотоксина типа А (BoT-A) [24, 25]. Согласно этим Рекомендациям, производится инъекционное введение BoT-A в стенку мочевого пузыря. Для поддержания длительного клинического эффекта, как правило, требуются повторные периодические инъекции препарата. При этом очевидным недостатком метода является его инвазивность и необходимость анестезиологического пособия.

Разработка менее инвазивного способа введения БоТ-А позволило бы существенно расширить возможности коррекции синдрома гиперактивного мочевого пузыря.

Цель исследования: определить влияние тизоля на биологическую доступность БоТ-А в слизистую мочевого пузыря, сравнение биодоступности с сепаратным введением БоТ-А.

Материалы и методы

С целью увеличения биодоступности БоТ-А была приготовлена смесь, состоящая из 40% тизоля и 60% раствора 1 флакона препарата Релатокс, представляющего собой токсин БоТ-А в комплексе с гемагглютинином в 0,9% растворе натрия хлорида.

В состав содержимого 1 флакона «Релатокс» входят следующие компоненты:

- комплекс БоТ-А с гемагглютинином — 50 ЕД;
- желатин — 6 мг;
- мальтоза — 12 мг.

В качестве экспериментальной модели для изучения изменения биодоступности БоТ-А в комплексе с тизолем в эксперименте *in vitro*, использовали модель диализа через слизистую оболочку мочевого пузыря телёнка ввиду морфологической идентичности строения мочевыводящей системы у млекопитающих (рис. 1). С этой целью отделяли слизистую оболочку от мышечной ткани изолированного мочевого пузыря (рис. 2) и вырезали лоскуты размером 6 × 5 см.

Полученные лоскуты слизистой проверяли под лупой на целостность (рис. 3), укладывали между двумя салфетками, обильно смоченными 0,9% раствором натрия хлорида, переносили в чашку Petri и использовали в срок не более чем 30 минут после получения биологического материала.

Для определения биологической доступности БоТ-А применяли метод равновесного диализа по Кривчинскому в диализаторе с диаметром стеклянной трубки $3,0 \pm 0,2$ см, на которой размещали лоскуты слизистой оболочки (рис. 4).

Объём акцепторной среды, в качестве которой использовали термостатированный при $37 \pm 0,5^\circ \text{C}$ 0,9% раствор натрия хлорида, составлял 50,0 мл, точно отмеренный пипеткой.

На внутреннюю часть слизистой оболочки наносили исследуемые образцы. Прибо-



Рисунок 1. Изолированный мочевой пузырь телёнка

Figure 1. Isolated calf bladder



Рисунок 2. Отделение слизистой оболочки мочевого пузыря от мышечной ткани

Figure 2. Separation of the bladder mucosa from muscle tissue



Рисунок 3. Слизистая оболочка мочевого пузыря

Figure 3. The mucous layer of the urinary bladder



Рисунок 4. Диализные трубки с изолированной слизистой оболочкой мочевого пузыря телёнка

Figure 4. Dialysis tubes with isolated calf bladder mucosa

ры для диализа выдерживали в термостате при температуре $37 \pm 0,5^\circ \text{C}$. Пробы акцепторной среды в количестве 1,0 мл отбирали пипеткой через каждый час эксперимента в течение 24 часов. Объем отобранной аликвоты немедленно восполняли термостатированным раствором натрия хлорида 0,9% (рис. 5).

Для определения содержания Бот-А в акцепторной среде применяли метод УФ-спектрофотометрии.

Для приготовления исследуемых образцов точную массу содержимого флакона препарата Релатокс в количестве 0,0169 г помещали в мерную колбу вместимостью 5 мл и доводили водой очищенной (вода) до метки (раствор А). К отмеренным пипеткой 2 мл раствора А прибавляли точно отвешенные 10,0 г тизоля и перемешивали в ступке до получения однородной смеси (образец 1). Исследуемый образец 2 представлял собой раствор А.

В качестве контрольного образца использовали диализные трубки с размещённой на них интактной слизистой оболочкой.



Рисунок 5. Прибор для определения биологической доступности ботулотоксина типа А методом равновесного диализа по Кривчинскому

Figure 5. Device for determination of BoNT-A bioavailability by Kravchinsky equilibrium dialysis method

Приготовление реактива Benedict:

1) раствор I — к 50,0 мл воды очищенной прибавляли 17,3 г натрия цитрата, 10,0 г натрия карбоната и растворяли, подогревая, но не доводя до кипения;

2) раствор II — 1,73 г меди сульфата растворяли в 10,0 мл воды очищенной;

3) раствор III — готовили смесь растворов I и II.

Объем смеси доводили до 100,0 мл водой очищенной. Приготовление раствора стандартного образца: 0,32 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 5,0 мл, прибавляли 2,0 мл 6% раствора натрия гидроксида, 0,2 мл реактива Benedict и доводили объем раствора в колбе водой, очищенной до метки.

На внутреннюю часть слизистой оболочки, размещенную на диализной трубке, наносили 1,0000 г смеси Бот-А с тизолом (образец 1); 1,0 мл раствора А (образец 2).

Отобранные аликвоты переносили в мерные колбы вместимостью 10,0 мл, прибавляли 2,0 мл 6% раствора натрия гидроксида, 0,2 мл реактива Benedict и доводили объем раствора в колбе водой, очищенной до метки. Полученные растворы выдерживали в течение 15 минут при комнатной температуре и определяли оптическую плотность относительно раствора сравнения.

Раствор сравнения готовили аналогично исследуемым растворам, используя аликвоту акцепторной среды контрольного образца.

УФ-спектры получали с использованием спектрофотометра Shimadzu-1240 UV mini, (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) в области 200 – 400 нм с шагом дискретизации 1 нм в кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Все растворы перед спектрофотометрическим определением фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента».

Расчёт содержания БоТ-А в % от внесённого количества проводили по стандартному образцу, по формуле:

$$C_x = \frac{a_{\text{ст}} \cdot V_{\text{ст}} \cdot W_x \cdot W_{1x} \cdot W_{2x} \cdot A_x \cdot 100}{W_{1\text{ст}} \cdot W_{2\text{ст}} \cdot a_x \cdot V_x \cdot A_{\text{ст}}}$$

где: $a_{\text{ст}}$ — масса БоТ-А, г;

a_x — объём аликвоты исследуемого образца, мл;

$V_{\text{ст}}$ — объём аликвоты стандартного образца, мл;

V_x — объём аликвоты исследуемого образца, мл;

W — объёмы мерных колб, мл;

A_x — оптическая плотность исследуемого раствора;

$A_{\text{ст}}$ — оптическая плотность раствора стандартного образца.

Образцы УФ-спектров представлены на рисунке 6.

В соответствии с полученными результатами строили кривые диализа в системе координат: время — содержание БоТ-А, прошедшего через слизистую оболочку, выраженное в процентах от внесённого количества (рис. 7). Далее выполняли расчёт площади под кривой 1 и под кривой 2. Расчёт проводился в программе Microsoft Excel 365.

Результаты

Установлено, что максимальное количество БоТ-А диффундировало в акцепторную среду смеси исследуемого вещества с тизолом через 9 часов эксперимента и затем оставалось постоянным (76,7%) от внесённого количества на протяжении всего времени исследования.

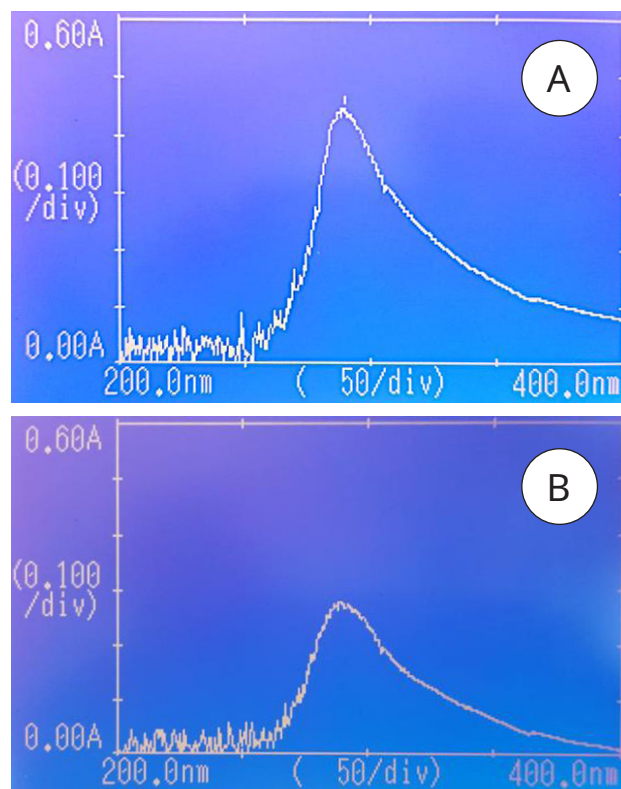


Рисунок 6. Образцы УФ-спектров исследуемых растворов: А — УФ-спектр продукта взаимодействия стандартного раствора ботулотоксина типа А с реактивом Бенедикта; В — УФ-спектр продукта взаимодействия диализата исследуемых образцов с реактивом Бенедикта

Figure 6. Samples of UV spectra of the studied solutions: A — UV spectrum for interaction product of pure BoNT-A with Benedict's reagent; B — UV spectrum for interaction product of the studied samples' dialysate with Benedict's reagent.

Кривая диализа БоТ-А на начальном этапе имеет форму гиперболы, что существенно уменьшает площадь под кривой и свидетельствует о низкой скорости диффузии фармакологически активного вещества. Однако через 8 часов диализа кривая приобретает форму параболы, а через 24 часа концентрация БоТ-А в диализате составляла уже 84,3% от внесённого количества препарата.

Тем не менее, сравнительный анализ площади под кривой интактного БоТ-А (4854 мм²) и диализа смеси БоТ-А с тизолом (5952 мм²), показывает, что площадь под кривой смеси БоТ-А с тизолом на 1098 мм² (18,45%) больше, что свидетельствует об улучшении биологической доступности препарата в присутствии тизоля.

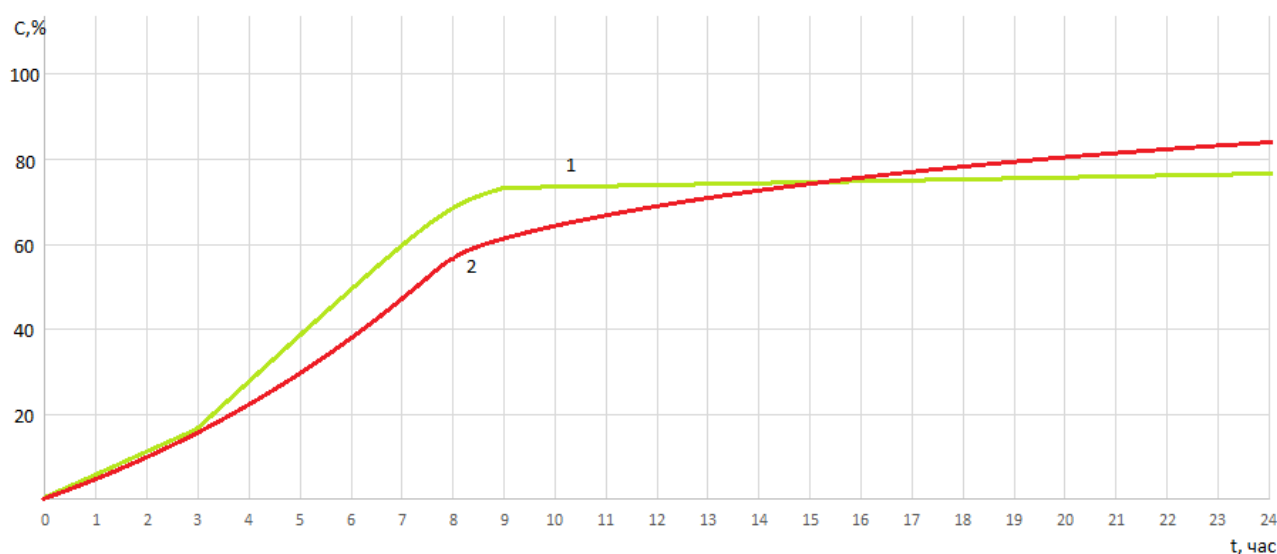


Рисунок 7. Кривые диализа ботулотоксина типа А через слизистую оболочку мочевого пузыря телёнка из исследуемых образцов: 1 — кривая диализа смеси ботулотоксина А с тизолем; 2 — кривая диализа ботулотоксина А

Figure 7. Dialysis curves of BoNT-A through the mucous membrane of the calf bladder from the tested samples: 1 — dialysis curve of BoNT-A mixture with tizol; 2 — dialysis curve of pure BoNT-A

Обсуждение

Лечение синдрома гиперактивного мочевого пузыря является сложной задачей. Терапия пероральными препаратами, к сожалению, не всегда приводит к желаемому результату, и большинство пациентов отказывается от предложенной терапии ввиду малоэффективности и наличия побочных эффектов и / или высокой стоимости лечения [26]. Ботулинотерапия показала свою высокую эффективность, но требует интратрузорного введения БоТ-А каждые 6–9 месяцев, и для его введения необходимо стационарные условия [27]. Инстилляцией БоТ-А не приводит к успеху ввиду большой массы молекулы и наличия барьерных функций у уротелия. В пилотном исследовании Н.С. Kuo et al. (2014) показали эффективность инстилляций БоТ-А с липосомами при синдроме гиперактивного мочевого пузыря [28]. Однако последующие работы этих авторов показали малоэффективность смеси, но изменение концентрации БоТ-А и продолжительности инстилляций могут улучшить результат [29]. Использование проводников-инхансеров, которые могут изменить проницаемость уротелия, позволит уменьшить инвазивность процедуры при введении БоТ-А. Тизоль сам проникает в ткани и увеличивает проницаемость. Проведено несколько исследований, указывающих на высокую проникающую

способность тизоля в стенку мочевого пузыря. Данные исследования проводились для улучшения результатов внутрипузырной инстилляционной химиотерапии больных раком мочевого пузыря. Для оценки распределения препарата в стенке мочевого пузыря после внутрипузырных инстилляций тизоля в виде водного 40% раствора определяли содержание титана как в слизистой, так и в мышечной оболочке органа. В результате исследования было показано, что концентрация титана в различных слоях мочевого пузыря изменялась в зависимости от характеристик исследуемого материала. Титан обнаруживался в стенке мочевого пузыря и тех в случаях, когда тизоль в пузырь не вводился. Но концентрация титана в слизистой оболочке мочевого пузыря у пациентов после инстилляций тизоля в среднем составила 1,7 мкг/г и была примерно в 30 раз выше, чем у больных, которым не проводилось его инстилляций (0,055 мкг/г). После введения тизоля концентрация титана в мышечной оболочке составила в среднем 0,7 мкг/г и была почти в 63 раза выше, чем у больных без инстилляций (0,011 мкг/г). Концентрация титана в стенке мочевого пузыря снижалась с увеличением глубины забора материала. У больных, которым не проводились инстилляций тизоля, наибольшая концентрация титана фиксировалась в слизистой обо-

лочке и в среднем приблизительно в 5 раз превышала его концентрацию в мышечной оболочке. После инстилляций тизоля наибольшая концентрация титана также наблюдалась в слизистой оболочке и была в среднем в 2,4 раза выше, чем в мышечной оболочке. Таким образом, результаты исследования указывают на фоновое наличие титана в стенке мочевого пузыря. При этом его концентрация в слизистой в среднем в 5 раз выше, чем в мышечной оболочке. Внутрипузырные инстилляции тизоля приводили к значительному увеличению концентрации титана в слизистой (в 30 раз) и мышечной (в 60 раз) оболочках, что указывает на глубокое проникновение препарата во все слои стенки мочевого пузыря [23]. Проведённые ранее работы позволили нам предположить о возможном увеличении биодоступности БоТ-А под воздействием тизоля. В проведённом нами исследовании оценивалась проникающая способность чистого БоТ-А и смеси БоТ-А с проводником-инхансером, 40%-ным раствором тизоля. При сравнении диализных кривых БоТ-А сам минимально проникает через слой уротелия, а под воздействием тизоля проницаемость уротелия увеличивается, что свидетельствует увеличение площади под кривой смеси БоТ-А с 40% раствора тизоля по сравнению площадью под кривой чистого БоТ-А почти на 18,45%. Полученные данные свидетельствуют об увеличении биодоступности пре-

парата.

В данном исследовании использовалась смесь, состоящая из 40% тизоля и 60% раствора БоТ-А, содержащая 50 ЕД, и не проводилось исследование с растворами других концентраций Бот-А и тизоля. Планируется проведение дальнейших исследований по подбору соотношений в растворе тизоля и БоТ-А.

Заключение

Компонентная смесь тизоля и БоТ-А обладает большей биологической доступностью, чем сепаратный раствор БоТ-А. Полученная скорость диффузии исследуемой компонентной смеси через выбранную биологическую мембрану оказалась относительно низкая. Модификация проницаемости уротелия под воздействием тизоля способствует увеличению биодоступности БоТ-А и позволит перейти от инъекционного способа введения БоТ-А к внутрипузырным инстилляциям. Это будет иметь очень важное практическое значение, так как уменьшится инвазивность процедуры, а вследствие этого количество возможных инфекционных осложнений, эпизодов задержки мочи, а также анестезиологических рисков, так как данная процедура может выполняться в амбулаторных условиях. Планируются дальнейшие исследования для определения возможности увеличения скорости диффузии за счёт подбора соотношения тизоля и БоТ-А.

Список литературы | References

1. Lewis SA. Everything you wanted to know about the bladder epithelium but were afraid to ask. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000;278(6):F867-F874. DOI: 10.1152/ajprenal.2000.278.6.F867
2. Jafari NV, Rohn JL. The urothelium: a multi-faceted barrier against a harsh environment. *Mucosal Immunol*. 2022;15(6):1127-1142. DOI: 10.1038/s41385-022-00565-0
3. Dalghi MG, Montalbetti N, Carattino MD, Apodaca G. The Urothelium: Life in a Liquid Environment. *Physiol Rev*. 2020;100(4):1621-1705. DOI: 10.1152/physrev.00041.2019
4. Kachar B, Liang F, Lins U, Ding M, Wu XR, Stoffler D, Aebi U, Sun TT. Three-dimensional analysis of the 16 nm urothelial plaque particle: luminal surface exposure, preferential head-to-head interaction, and hinge formation. *J Mol Biol*. 1999;285(2):595-608. DOI: 10.1006/jmbi.1998.2304
5. Klingler CH. Glycosaminoglycans: how much do we know about their role in the bladder? *Urologia*. 2016;83 Suppl 1:11-14. DOI: 10.5301/uro.5000184
6. Shashikanth N, Yeruva S, Ong MLDM, Odenwald MA, Pavlyuk R, Turner JR. Epithelial Organization: The Gut and Beyond. *Compr Physiol*. 2017;7(4):1497-1518. DOI: 10.1002/cphy.c170003
7. Abir-Awan M, Kitchen P, Salman MM, Conner MT, Conner AC, Bill RM. Inhibitors of Mammalian Aquaporin Water Channels. *Int J Mol Sci*. 2019;20(7):1589. DOI: 10.3390/ijms20071589
8. Birder LA. More than just a barrier: urothelium as a drug target for urinary bladder pain. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;289(3):F489-F495. DOI: 10.1152/ajprenal.00467.2004
9. Birder L, Andersson KE. Urothelial signaling. *Physiol Rev*. 2013;93(2):653-680. DOI: 10.1152/physrev.00030.2012
10. Gonzalez EJ, Merrill L, Vizzard MA. Bladder sensory physiology: neuroactive compounds and receptors, sensory transducers, and target-derived growth factors as targets to improve function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2014;306(12):R869-R878. DOI: 10.1152/ajpregu.00030.2014
11. Burnstock G. Purinergic signalling in the lower urinary tract. *Acta Physiol (Oxf)*. 2013;207(1):40-52. DOI: 10.1111/apha.12012

12. Li Y, Xue L, Miao Q, Mao F, Yao L, Yuan J, Qin W, Zhao Y, Sun H, Liu F, Wang H. Expression and electrophysiological characteristics of P2X3 receptors in interstitial cells of Cajal in rats with partial bladder outlet obstruction. *BJU Int*. 2013;111(5):843-851. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2012.11408.x
13. Deruyver Y, Voets T, De Ridder D, Everaerts W. Transient receptor potential channel modulators as pharmacological treatments for lower urinary tract symptoms (LUTS): myth or reality? *BJU Int*. 2015;115(5):686-697. DOI: 10.1111/bju.12876
14. Skryma R, Prevarskaya N, Gkika D, Shuba Y. From urgency to frequency: facts and controversies of TRPs in the lower urinary tract. *Nat Rev Urol*. 2011;8(11):617-630. DOI: 10.1038/nrurol.2011.142
15. Andersson KE, Gratzke C, Hedlund P. The role of the transient receptor potential (TRP) superfamily of cation-selective channels in the management of the overactive bladder. *BJU Int*. 2010;106(8):1114-1127. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2010.09650.x
16. Bø K, Hilde G. Does it work in the long term?—A systematic review on pelvic floor muscle training for female stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn*. 2013;32(3):215-223. DOI: 10.1002/nau.22292
17. Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiol Rev*. 2007;87(1):165-217. DOI: 10.1152/physrev.00021.2006
18. Szallasi A. Vanilloid receptor ligands: hopes and realities for the future. *Drugs Aging*. 2001;18(8):561-573. DOI: 10.2165/00002512-200118080-00001
19. Kim JH, Rivas DA, Shenot PJ, Green B, Kennelly M, Erickson JR, O'Leary M, Yoshimura N, Chancellor MB. Intravesical resiniferatoxin for refractory detrusor hyperreflexia: a multicenter, blinded, randomized, placebo-controlled trial. *J Spinal Cord Med*. 2003;26(4):358-363. DOI: 10.1080/10790268.2003.11753706
20. Szallasi A, Fowler CJ. After a decade of intravesical vanilloid therapy: still more questions than answers. *Lancet Neurol*. 2002;1(3):167-172. DOI: 10.1016/s1474-4422(02)00072-8
21. Anderson GG, Palermo JJ, Schilling JD, Roth R, Heuser J, Hultgren SJ. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science*. 2003;301(5629):105-107. DOI: 10.1126/science.1084550
22. Hicks RM. The mammalian urinary bladder: an accommodating organ. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 1975;50(2):215-246. DOI: 10.1111/j.1469-185x.1975.tb01057.x
23. Берзин С.А., Замятин А.В., Матер В.О. Распределение «Тизоля» в стенке мочевого пузыря у больных инвазивным раком мочевого пузыря. *Сибирский онкологический журнал*. 2009;(S2):26-27. Berzin S.A., Zamyatin A.V., Mager V.O. Tizol distribution in the bladder wall in patients with invasive bladder cancer. *Siberian journal of oncology*. 2009;(S2):26-27. (In Russian). eLIBRARY ID: 12918927; EDN: KWSIKB
24. Недержание мочи. *Клинические рекомендации*. М.; 2021. Urinary incontinence. *Russian clinical guidelines*. Moscow; 2021. (In Russian).
25. *Guidelines EAU 2022*. EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands; 2023.
26. Kalder M, Pantazis K, Dinas K, Albert US, Heilmaier C, Kostev K. Discontinuation of treatment using anticholinergic medications in patients with urinary incontinence. *Obstet Gynecol*. 2014;124(4):794-800. DOI: 10.1097/AOG.0000000000000468
27. Jiang YH, Liao CH, Kuo HC. Current and potential urological applications of botulinum toxin A. *Nat Rev Urol*. 2015;12(9):519-533. DOI: 10.1038/nrurol.2015.193
28. Kuo HC, Liu HT, Chuang YC, Birdier LA, Chancellor MB. Pilot study of liposome-encapsulated onabotulinumtoxin A for patients with overactive bladder: a single-center study. *Eur Urol*. 2014;65(6):1117-1124. DOI: 10.1016/j.eururo.2014.01.036
29. Hung FC, Kuo HC. Liposome-Encapsulated Botulinum Toxin A in Treatment of Functional Bladder Disorders. *Toxins (Basel)*. 2022;14(12):838. DOI: 10.3390/toxins14120838

Сведения об авторах

Сергей Викторович Поройский — д-р мед. наук, доцент

<https://orcid.org/0000-0001-6990-6482>

poroyskiy@mail.ru

Дмитрий Владиславович Перлин — д-р мед. наук, профессор

<https://orcid.org/0000-0002-4415-0903>

dvperlin@mail.ru

Ольга Геннадьевна Струссовская — д-р фарм. наук, доцент

<https://orcid.org/0000-0002-5681-0673>

strol3@yandex.ru

Николай Александрович Гончаров

<https://orcid.org/0000-0002-2785-1986>

gongcharov1773@gmail.com

Александр Александрович Кузнецов — канд. мед. наук

<https://orcid.org/0000-0002-7026-1746>

kouznetsov23@gmail.com

Егор Андреевич Морозов

<https://orcid.org/0000-0001-9495-3424>

egor050795@rambler.ru

Information about the authors

Sergey V. Poroyskiy — Dr.Sc.(Med), Assoc.Prof.(Docent)

<https://orcid.org/0000-0001-6990-6482>

poroyskiy@mail.ru

Dmitry V. Perlin — Dr.Sc.(Med), Full Prof.

<https://orcid.org/0000-0002-4415-0903>

dvperlin@mail.ru

Olga G. Strussovskaya — Dr.Sc.(Pharm) Assoc.Prof.(Docent)

<https://orcid.org/0000-0002-5681-0673>

strol3@yandex.ru

Nikolay A. Goncharov

<https://orcid.org/0000-0002-2785-1986>

gongcharov1773@gmail.com

Alexander A. Kuznetsov — Cand. Sc.(Med)

<https://orcid.org/0000-0002-7026-1746>

kouznetsov23@gmail.com

Egor A. Morozov

<https://orcid.org/0000-0001-9495-3424>

egor050795@rambler.ru