

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-184-192>
УДК 615.273:616-005.4:543.544.5

Модификация метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для количественного определения концентрации ривароксабана в крови

Драгунова М.А.¹, Моисеева Е.С.², Золотухина Н.Ю.², Ситкова Е.С.¹,
Хлынин М.С.¹, Гуренкова А.А.², Гусакова А.М.¹, Баталов Р.Е.¹

¹ Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (НИИ кардиологии Томского НИМЦ), 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ), 634034, Российская Федерация, Томск, пр. Ленина, 30

Аннотация

Введение. Достижение терапевтических концентраций прямых оральных антикоагулянтов (ПОАК) и, соответственно, персонализация антикоагулянтной терапии в определенных группах пациентов становятся все более актуальными. Для оптимизации лекарственного мониторинга в рутинной клинической практике необходима разработка и апробация чувствительных и селективных методик, с помощью которых возможно количественное определение в крови содержания ПОАК, в том числе ривароксабана.

Цель исследования: модифицировать метод определения концентрации ривароксабана в крови с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), а также провести апробацию подобранных условий для определения концентрации препарата в цельной венозной крови пациентов.

Материал и методы. Для первого этапа работ образцами для исследования являлись пробы крови ($n = 20$) здоровых добровольцев ($n = 5$), не принимающих лекарственные препараты. Забор крови из периферической вены осуществляли с использованием вакуумной системы в объеме 6 мл. Пробирки для забора крови использовали с четырьмя разными наполнениями. Перед подготовкой образцы делили на 6 частей и в каждую делали добавку раствора ривароксабана различной концентрации, приготовленного из чистого вещества Rivarogaban (Индия). Далее проводили жидкостную экстракцию ривароксабана ацетонитрилом из пробы цельной венозной крови с параллельным устранением мешающего влияния белков путем их осаждения хлористым никелем. Разделение компонентов пробы осуществляли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на жидкостном хроматографе (1260 Infinity II LC). Аналитический сигнал на диодно-матричном детекторе (1260 DAD WR, Agilent Technologies) фиксировали при двух длинах волн – 254 и 280 нм. Для второго этапа работ образцами для исследования являлись пробы цельной венозной крови пациентов ($n = 54$), принимающих ривароксабан (Bayar, Германия). Забор крови производится утром, натощак, через 12 ч после приема последней дозы препарата (20 мг/сут).

Результаты. Авторами были исследованы и установлены факторы, влияющие на уменьшение предела обнаружения ривароксабана в крови при определении его методом ВЭЖХ с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1260 с диодно-матричным детектором (Agilent Technologies, Германия). Для оценки степени извлечения ривароксабана и выбора рабочей длины волны были построены градуировочные зависимости антикоагулянта в исходных растворах ацетонитрила и графики изменения площадей пика ривароксабана от его содержания в крови: при длине волны 254 нм ($r^2 = 0,98$) и 280 нм ($r^2 = 0,99$). Функция зависимости при длине волны 254 нм имеет больший угловой коэффициент, что позволяет снизить предел обнаружения определяемого вещества. Содержание диоксида кремния в пробирке не оказывает значимого влияния на аналитический сигнал ривароксабана (минимальное значение пределов обнаружения – 0,25 мкг/мл, минимальное значение пределов определения – 0,77 мкг/мл), а также не вносит дополнительной погрешности в точность метода. Медиана концентрации ривароксабана составила 0,32 мкг/мл (0,26; 0,49) через 12 ч от приема препарата.

Заключение. Применение модифицированного метода ВЭЖХ с выбором длины волн 254 нм для детектирования аналитического сигнала позволяет снизить предел обнаружения определяемого вещества и увеличить диапазон определяемых концентраций. Использование пробирок с диоксидом кремния можно рекомендовать для снижения влияния матричного эффекта на количественное определение ривароксабана в крови и увеличения точности метода.

Ключевые слова: ривароксабан; антикоагулянтная терапия; высокоэффективная жидкостная хроматография, прямой оральный антикоагулянт.

Ресурсное обеспечение: исследование проведено с использованием оборудования центра коллективного пользования «Физико-химические методы анализа» Национального исследовательского Томского политехнического университета.

© Драгунова М. А., Моисеева Е. С., Золотухина Н. Ю., Ситкова Е. С., Хлынин М. С., Гуренкова А. А., Гусакова А. М., Баталов Р. Е., 2025

Финансирование:	источник финансирования отсутствует.
Для цитирования:	Драгунова М.А., Моисеева Е.С., Золотухина Н.Ю., Ситкова Е.С., Хлынин М.С., Гурenkova А.А., Гусакова А.М., Баталов Р.Е. Модификация метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для количественного определения концентрации ривароксабана в крови. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2025;40(4):184–192. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-184-192

Modification of a high-performance liquid chromatography method for quantitative determination of rivaroxaban concentration in blood

Dragunova M.A.¹, Moiseeva E.S.², Zolotukhina N.Yu.², Sitkova Ye.S.¹, Khlynin M.S.¹, Gurenkova A.A.², Gusakova A.M.¹, Batalov R.E.¹

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC), 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

² National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk Polytechnic University (TPU), 30, Lenin Ave., Tomsk, 634034, Russian Federation

Abstract

Introduction. Achieving therapeutic concentrations of direct oral anticoagulants (DOAC) and, accordingly, personalization of anticoagulant therapy in certain groups of patients are becoming increasingly important. To optimize drug monitoring in routine clinical practice, it is necessary to develop and test sensitive and selective methods that can quantitatively determine the content of DOAC in the blood, including rivaroxaban.

Aim: To modify the method for determining the concentration of rivaroxaban in the blood using high-performance liquid chromatography (HPLC), as well as testing the selected conditions for determining the concentration of the drug in the whole venous blood of patients.

Material and Methods. For the first stage of the work, the samples for the study were blood samples ($n = 20$) from healthy volunteers ($n = 5$) not taking medications. Blood was collected from a peripheral vein using a vacuum system in a volume of 6 ml. Blood collection tubes with four different fillings were used. Before preparation, the samples were divided into 6 parts and each was supplemented with a solution of rivaroxaban of different concentrations, prepared from the pure substance Rivaroxaban (India). Next, liquid extraction of rivaroxaban with acetonitrile from a sample of whole venous blood was carried out with parallel elimination of the interfering effect of proteins by precipitation with nickel chloride. The separation of the sample components was performed by reversed-phase high-performance liquid chromatography on a liquid chromatograph (1260 Infinity II LC). The analytical signal on a diode-array detector (1260 DAD WR, Agilent Technologies) was recorded at two wavelengths of 254 nm and 280 nm. For the second stage of the work, the samples for the study were whole venous blood samples from patients taking rivaroxaban ($n = 54$). Blood is collected in the morning, on an empty stomach, 12 hours after taking the last dose of the drug.

Results. The authors investigated and established the factors influencing the decrease in the detection limit of rivaroxaban (Bayer, Germany) in the blood when determining it by HPLC using an Agilent 1260 liquid chromatograph with a diode array detector (Agilent Technologies, Germany). To assess the degree of rivaroxaban extraction and select the working wavelength, calibration dependences of the anticoagulant in the initial acetonitrile solutions and graphs of changes in the peak areas of rivaroxaban from its content in the blood were constructed: at a wavelength of 254 nm ($r^2 = 0.98$) and 280 nm ($r^2 = 0.99$). The dependence function at a wavelength of 254 nm has a larger slope, which makes it possible to reduce the detection limit of the substance being determined. The silicon dioxide content in the tube does not significantly affect the analytical signal of rivaroxaban (minimum detection limits 0.25 µg/ml, minimum determination limits 0.77 µg/ml), and does not introduce additional error into the accuracy of the method. The median concentration of rivaroxaban was 0.32 µg/ml (0.26; 0.49) 12 hours after taking the drug.

Conclusion. The use of a modified HPLC method with a wavelength of 254 nm selected for detecting the analytical signal makes it possible to reduce the detection limit of the substance being determined and increase the range of concentrations being determined. And the use of tubes with silicon dioxide can be recommended for decreasing the influence of the matrix effect on the quantitative determination of rivaroxaban in blood and increasing the accuracy of the method.

Keywords:	rivaroxaban; anticoagulant therapy; high-performance liquid chromatography; direct oral anticoagulant.
Resource support:	the study was conducted using the equipment of the Core Facility "Physicochemical methods of analysis" of the National Research Tomsk Polytechnic University.

Funding:	the research was carried out without financial support from grants, public, non-profit, commercial organizations and structures.
For citation:	Dragunova M.A., Moiseeva E.S., Zolotukhina N.Yu., Sitkova Ye.S., Khlynin M.S., Gurenkova A.A., Gusakova A.M., Batalov R.E. Modification of a high-performance liquid chromatography method for quantitative determination of rivaroxaban concentration in blood. <i>Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2025;40(4):184–192. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-184-192

Введение

Доказано, что фибрилляция предсердий (ФП) способствует внутрипредсердному стазу крови, что в свою очередь создает условия для образования тромбов и последующей эмболии [1, 2]. Хорошо известно, что тромбоз левого предсердия при ФП может привести к возникновению целого ряда тромбоэмболических осложнений (ТЭО), в том числе острого нарушения кровообращения [3] и эмболического инфаркта миокарда [2]. Недавние исследования продемонстрировали, что тромбообразование может происходить и в правом предсердии у пациентов с ФП, тем самым способствуя развитию тромбоэмболии легочной артерии [4, 5].

Данные международных регистров: The Global Registry on Long-Term Oral Antithrombotic Treatment in Patients with Atrial Fibrillation, The Global Anticoagulant Registry in the FIELD Atrial Fibrillation, Outcomes Registry for Better Informed Treatment of Atrial Fibrillation II, Европейского регистра кардиоверсии свидетельствуют о том, число больных ФП, которым назначают прямые оральные антикоагулянты (ПОАК), с каждым годом неуклонно увеличивается [6, 7].

По результатам многочисленных рандомизированных клинических исследований доказано, что антикоагулянтная терапия снижает риск ишемического инсульта и других эмболических событий примерно на две трети независимо от базового риска [7, 8]. Тем не менее, даже современная адекватная антикоагулянтная терапия не всегда гарантирует отсутствие тромбоза полостей сердца. Частота инсультов и периферических тромбоэмболий на фоне использования антикоагулянтов остается достаточно высокой и, согласно данным многочисленных рандомизированных клинических исследований, составляет 1,11–2,4% в год [4, 9]. Кроме того, по меньшей мере 2% пациентов с ФП на антикоагулянтной терапии переносят серьезные кровотечения в течение года [7, 8]. К числу сложностей, связанных с приемом ПОАК, в частности ривароксабана, можно отнести отсутствие в клинической практике антидотов, применение которых становится необходимым в случае массивного кровотечения. В связи с этим актуальным остается вопрос соблюдения баланса между эффективностью и безопасностью антикоагулянтной терапии, а это достигается при оптимальной концентрации препарата в крови.

Достижение терапевтических концентраций ПОАК и, соответственно, персонификация антикоагулянтной терапии в определенных группах пациентов (с избыточной или недостаточной массой тела, почечной или печеночной недостаточностью и т. д.) становятся все более актуальными. В связи с этим для оптимизации лекарственного мониторинга в рутинной клинической практике необходима разработка и апробация чувствительных и селективных методик, с помощью которых возможно количественное определение в крови содержания ПОАК, в том числе ривароксабана.

Фармакологическое действие ривароксабана

Одним из представителей ПОАК является ривароксабан, его молекулярная масса составляет 435,89 г/моль, а молекулярная формула $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ [10] (рис. 1).

Ривароксабан быстро и конкурентоспособно связывает фактор Ха через S1 и S4 зоны, таким образом прерывая генерацию тромбина [10, 11]; при этом данный процесс является обратимым и высокоселективным. Кроме того, этот прямой ингибитор фактора Ха снижает прокоагулянтную способность активированных моноцитов и макрофагов, оказывает противовоспалительное действие, блокируя секрецию воспалительных хемокинов [11]. Указанный эффект обусловлен ингибированием генерации тромбина [11]. Ривароксабан имеет широкое терапевтическое окно, минимальное взаимодействие с пищей и очень ограниченное взаимодействие с другими лекарственными препаратами. Особенности его фармакокинетики является высокая биодоступность (до 80%) и быстрая абсорбция, максимальная концентрация достигается через 1,5–4 ч после приема, при этом около 90% ривароксабана связывается с белками плазмы [12, 13].

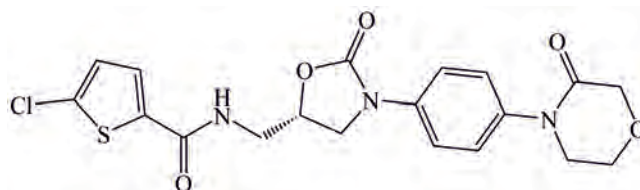


Рис. 1. Химическая структура молекулы ривароксабана
Fig. 1. Chemical structure of the rivaroxaban molecule

Согласно анализу литературы, основными методами определения ривароксабана в исходных субстанциях, фармацевтических лекарственных формах и биологическом материале являются: высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), ВЭЖХ в сочетании с тандемной масс-спектрометрией, высокоэффективная тонкослойная хроматография с денситометрическим [14–16] и спектрофотометрическим определением, методы ультрафиолетовой (УФ) спектроскопии, обращенно-фазовая ВЭЖХ для определения ривароксабана в плазме крови [14, 15]. Однако каждый метод имеет свои недостатки, и «золотого стандарта» количественного определения ривароксабана в крови не существует. Описанные методики позволяют определять ривароксабан в плазме крови в диапазоне от 0,001 до 1 мкг/см³. Однако для достижения подобных уровней определения требуются либо длительная и сложная подготовка пробы, либо дорогостоящее оборудование.

Цель исследования: модифицировать метод определения концентрации ривароксабана в крови с использованием ВЭЖХ, а также провести апробацию подобранных условий для определения концентрации препарата в целевой венозной крови пациентов.

Материал и методы

Для первого этапа работ образцами для исследования являлись пробы крови здоровых добровольцев ($n = 5$), не принимающих какие-либо лекарственные препараты, в том числе ривароксабан. Пробы цельной венозной крови здоровых добровольцев ($n = 20$) применяли для модификации методики и определения концентрации ривароксабана по методу внутреннего стандарта («введено-найденно»).

Забор крови из периферической вены осуществляли с помощью вакуумной системы в объеме 6 мл. Пробирки для забора крови использовали с четырьмя разными наполнениями: 1) забуференный раствор цитрата натрия (концентрация цитрата натрия составляла от 3,2 (0,109 моль/л) до 3,8% (0,129 моль/л)); 2) соли гепарина, концентрация гепарина – 18 МЕ/мл крови; 3) этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) и аprotинин, концентрация аprotинина – 50 KIU (международных единиц активности) на 1 мл крови; 4) диоксид кремния в виде напыления на внутренней стенке пробирки. Для каждого образца использовали не менее двух пробирок для одного пациента.

Перед подготовкой отобранные в пробирки с различным наполнением образцы делили на 6 частей объемом по 1,0 мл, в каждую делали добавку раствора ривароксабана, приготовленного из чистого вещества Riva-roxaban с исходной концентрацией 10,0 мкг/мл и 1,0 мкг/мл (95,0 %, Clearsynth, Индия, номер партии CS-WS-AAA-1439-13-8, годен до 08.2027), растворенного в ацетонитриле (99,9%, осч, Криохром, Россия). Содержание ривароксабана в образцах крови составляло 0,25; 1,0; 2,0; 5,0; 10; 15 мкг/мл.

Далее проводили жидкостную экстракцию ривароксабана ацетонитрилом из пробы цельной венозной крови с параллельным устранением мешающего влияния белков путем их осаждения хлористым никелем (по ГОСТ 4038-79). Для этого к 300 мкл исследуемой пробы добавляли 700 мкл ацетонитрила и перемешивали. Далее пробу центрифугировали 15 мин со скоростью 14 000 об/мин. После этого отбирали 500 мкл супернатанта в пробирки типа Эппендорф, предварительно фильтруя через мембранные нейлонные фильтры с размером пор мембраны 0,22 мкм. Для увеличения степени извлечения ривароксабана из осажденных белков к осадку добавляли еще 500 мкл ацетонитрила и с помощью ультразвуковой бани при температуре 35 °С экстрагировали в течение 40 мин. Далее повторяли процедуру фильтрации и объединяли отфильтрованные растворы. После этого пробу объемом 20 мкл вводили в хроматограф. Каждый подготовленный образец анализировали не менее 5 раз в условиях повторяемости.

Разделение ривароксабана осуществляли на колонке длиной 100 мм и с внутренним диаметром 4,6 мм заполненной силикагелем C18 с размером частиц 3,5 мкм (Zorbax Eclipse Plus C18), с универсальной предколонкой длиной 12,5 мм и с внутренним диаметром 4,6 мм заполненной силикагелем C18 с размером частиц 5 мкм (Zorbax Eclipse XDB-C18) в условиях термостатирования при температуре Zorbax Eclipse Plus C18, 4,6 × 100 мм, 3,5 мкм с универсальной предколонкой (Agilent Technologies, Германия). Температура термостата колонок составляла 40 °С. Хроматографирование осуществляли в режиме градиентного элюирования. Соотношение элюентов А : В составляло от 15 : 85 до 100 : 0 (%) за 35 мин. В качестве элюента А использовали ацетонитрил (градиентный

для ВЭЖХ, особой чистоты, Химмед, Россия), элюента Б – 0,1% водный раствор муравьиной кислоты (чистый для анализа, ЭКОС-1, Россия) в деионизованной воде (18,2 Мом × см).

Аналитический сигнал на диодно-матричном детекторе (1260 DAD WR, Agilent Technologies) фиксировали при длинах волн 254 и 280 нм. Идентификацию ривароксабана проводили по времени удерживания. Время удерживания аналитического сигнала ривароксабана составило 5,38 мин.

Для оценки степени извлечения ривароксабана и выбора рабочей длины волны были построены градуировочные зависимости антикоагулянта в исходных растворах ацетонитрила и графики изменения площадей пика ривароксабана от его содержания в крови.

Обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ STATISTICA 13 (StatSoft). Нормальность распределения количественных показателей проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Нормально распределенные количественные показатели представлены средним значением (M) и стандартным отклонением (SD), $M \pm SD$, категориальные показатели описывали абсолютными значениями и относительными частотами встречаемости, n (%). Концентрация ривароксабана во II фазе эксперимента представлена медианой (Me) и межквартильным интервалом (Q1; Q3). При валидации методики для оценки линейности, то есть определения способности в пределах заданного диапазона получать результаты, прямо пропорциональные концентрации анализируемого вещества в образце, использовали дисперсионный анализ (ANOVA). Получены уравнения линейной регрессии, рассчитаны коэффициенты детерминации (r^2). Показатели качества методики (значение смещения Θ в %) определены с помощью критерия Стьюдента.

Критический уровень значимости p для всех используемых процедур статистического анализа данных принимали равным 0,05.

Для второго этапа работ образцами для исследования являлись пробы цельной венозной крови пациентов ($n = 54$), принимающих ривароксабан. Этот этап исследования проводили для апробации методики в реальной клинической практике и сравнения определенных концентраций препарата с данными официальных исследований фармакокинетики ривароксабана (Bayer, Германия).

Критерии включения участников: подписанное информированное согласие на участие в исследовании, возраст пациентов > 18 лет, наличие документированной ФП неклапанного генеза, стабильная антикоагулянтная терапия ривароксабаном не менее 4 нед.

Критерии исключения участников: противопоказания к применению ривароксабана, недееспособность пациентов по психоневрологическим состояниям, постоянная терапия аспирином в дозе > 100 мг/сут, прием мощных системных ингибиторов цитохрома P450 (CYP) 3A4 и гликопротеина P (P-gp), лечение любыми другими антикоагулянтами.

Клинико-anamnestическая характеристика пациентов представлена в таблице 1. Дозировка ривароксабана у всех пациентов составляла 20 мг 1 раз в день. Подготовку проб осуществляли описанным способом. Определение концентрации ривароксабана проводили по представленной выше методике с исключением мешающих факторов.

Таблица 1. Клинико-anamnestическая характеристика пациентов

Table 1. Clinical and anamnesic characteristics of patients

Показатель	Значение
Общее количество пациентов	54
Возраст, лет	65,7 ± 12,5
Половое соотношение, <i>n</i> (%): мужчины	36 (66)
женщины	18 (33)
Длительность ФП, лет	9,23 ± 1,12
Форма ФП, <i>n</i> (%): пароксизмальная форма	9 (17)
персистирующая форма	27 (50)
длительно персистирующая форма	18 (33)
ГБ, <i>n</i> (%)	35 (65)
ИБС, <i>n</i> (%)	40 (74)
Функциональный класс ХСН (NYHA), <i>n</i> (%)	
I	15 (28)
II	32 (60)
III	7 (12)
Скорость клубочковой фильтрации, по Кокрофту-Голту, мл/мин	89,5 ± 10,1

Примечание: ГБ – гипертоническая болезнь, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ФП – фибрилляция предсердий.

Результаты

По результатам исследований концентраций, проведенных на исходных растворах ривароксабана в растворе ацетонитрила, выбрана рабочая длина волны детектирования.

График зависимости площади аналитического сигнала от концентрации ривароксабана в растворе ацетонитрила при разных длинах волн приведен на рисунке 2.

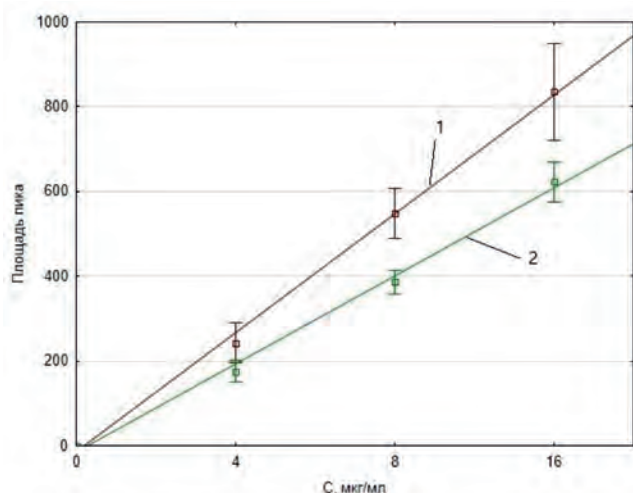


Рис. 2. Линейная регрессионная зависимость площади аналитического сигнала от концентрации ривароксабана в пробе крови при детектировании на разных длинах волн методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектором; 1 – при длине волны 254 нм ($R^2 = 0,98$); 2 – при длине волны 280 нм ($R^2 = 0,99$)

Fig. 2. Linear regression dependence of the area of the analytical signal on the concentration of rivaroxaban when detected at different wavelengths by HPLC with a diode array detector; 1 – at a wavelength of 254 nm

($R^2 = 0,98$); 2 – at a wavelength of 280 nm ($R^2 = 0,99$)

Из графика видно, что регрессионная прямая при длине волны 254 нм имеет больший угловой коэффициент, что позволяет снизить предел обнаружения определяемого вещества. Длина волны 254 нм использовалась для оценки влияния степени наполнения вакуумных пробирок для отбора проб периферической венозной крови при определении ривароксабана. Для установления ниж-

ней границы определяемой концентрации были получены зависимости площади аналитического сигнала от содержания ривароксабана в подготовленных пробах крови с введенными его добавками.

На рисунке 3 приведены графики линейной регрессионной зависимости аналитического сигнала ривароксабана от его концентрации при длине волны 254 нм в подготовленной пробе крови при наличии мешающих влияний наполнителей вакуумных пробирок.

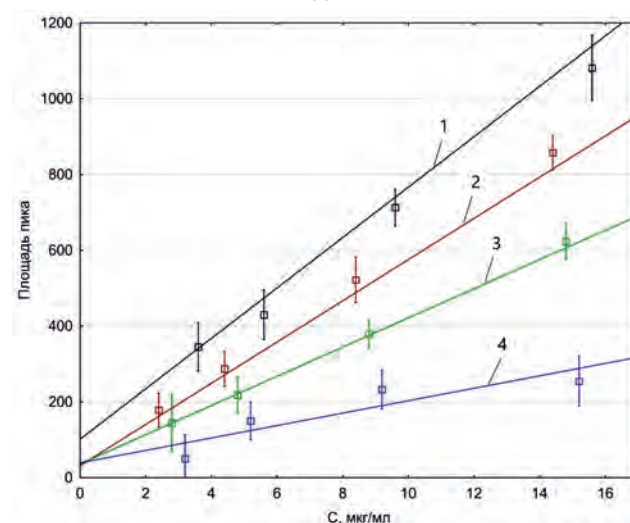


Рис. 3. Линейная регрессионная зависимость площади аналитического сигнала от концентрации ривароксабана в пробе крови, отобранной в вакуумные пробирки различного наполнения (1 – SiO₂, 2 – цитрат натрия, 3 – этилендиаминтетрауксусная кислота, 4 – гепарин)

Fig. 3. Linear regression dependence of the analytical signal area on the concentration of rivaroxaban in a blood sample collected in vacuum tubes of various fillings (1 – SiO₂, 2 – sodium citrate, 3 – ethylenediaminetetraacetic acid, 4 – heparin)

Как следует из полученных зависимостей, максимальный тангенс угла наклона с наибольшей чувствительностью аналитического сигнала получен в пробе крови, отобранной в вакуумные пробирки с наполнением SiO₂, а минимальный тангенс угла наклона с наименьшей чувствительностью аналитического сигнала – в пробе крови, отобранной в вакуумные пробирки с наполнением соли

Таблица 2. Коэффициент детерминации для линейных регрессионных зависимостей с различными мешающими влияниями**Table 2.** Coefficient of determination for linear regression dependencies with various interfering influences

Состав наполнения пробирки	Уравнение регрессии	r^2	Значение F-критерия Фишера*	p
Цитрат натрия	$y = 31,95 + 54,38 \cdot x$	0,98	727,11	5,12E-12
Соли гепарина	$y = 39,28 + 16,39 \cdot x$	0,68	26,10	0,00026
КЗ ЭДТА и аprotинин	$y = 36,49 + 38,52 \cdot x$	0,98	715	4,56E-12
Диоксид кремния	$y = 101,63 + 66,50 \cdot x$	0,98	527,30	2,76E-11

Примечание: * – пороговое значение F-критерия = 6,61 для p -value = 0,05.

гепарина. Таким образом, предел детектирования при отборе крови в вакуумную пробирку с наполнением SiO_2 позволит проводить измерения в более широком диапазоне концентраций с наименьшим пределом детектирования. Рассчитан коэффициент детерминации r^2 , оценивающий выбранную модели эксперимента (табл. 2).

Представленные данные демонстрируют высокое влияние состава пробоотборных пробирок на площадь аналитического сигнала ривароксабана, получаемого в предложенных условиях.

Исходя из полученных данных, из градуировочных зависимостей были оценены значения предела обнаружения (LOD) и значения предела определения (LOQ) ривароксабана в крови (табл. 3). Как следует из указанных значений, изменение состава наполнения вакуумных пробирок увеличивает нижние границы определяемых концентраций.

Используя метод «введено-найденно» (метод «стандартных добавок»), была оценена правильность выбранных условий хроматографирования и подготовки пробы. Результаты анализа пробы с добавкой при влиянии наполнения пробирок и оценка значимости смещения приведены в таблице 4. Установлено, что измерение концентрации ривароксабана в крови при отборе образца в пробирку, наполненную диоксидом кремния, не имеет значимой систематической ошибки ($t_{\text{расч}} = 1,45 < t_{\text{табл}} = 2,57$), что означает высокую точность измерения.

Из результатов анализа следует, что содержание диоксида кремния не оказывает значимого влияния на аналитический сигнал ривароксабана (см. рис. 3). В то же время соли гепарина наиболее существенно влияют на получаемый аналитический сигнал (что видно из градуировочной зависимости, см. рис. 3), увеличивая минималь-

но определяемую концентрацию (минимальное значение пределов обнаружения – 0,65 мкг/мл, минимальное значение пределов определения – 1,97 мкг/мл), что не подходит для фармакокинетических исследований.

Обсуждение

Вопрос адекватной антитромботической терапии при ФП в настоящее время, на первый взгляд, решен. ПОАК являются предпочтительным вариантом в сравнении с антагонистами витамина К для профилактики ТЭО у пациентов с неклапанной ФП [1]. Данные препараты имеют обширную доказательную базу в отношении эффективности и безопасности, не требуют рутинного лабораторного контроля. Согласно результатам ряда исследований, у пациентов с ФП, подвергнутых чреспищеводной эхокардиографии и принимающих ПОАК, распространенность тромбоза левого предсердия значительно варьирует и составляет в среднем 2,5–3% [5, 6, 8]. Это может указывать на роль сохраняющегося риска тромбообразования в левых отделах сердца на фоне приема антикоагулянтов у части больных [9].

В настоящее время в случаях клинической необходимости основным методом количественного определения ривароксабана является тест анти-Ха активности плазмы, откалиброванный по ривароксабану. Известно, что уровень анти-Ха фактора и концентрация ривароксабана в плазме крови тесно коррелируют. Разработаны эталонные калибровочные кривые зависимости результатов теста анти-Ха активности плазмы и концентраций ривароксабана в достаточно широком диапазоне (например, 0,02–0,5 мкг/мл) [14]. Однако для рутинной клинической практики тест анти-Ха активности малодоступен из-за высокой стоимости реагентов, необходимых для анализа. К тому же данный метод не позволяет определять

Таблица 3. Значения пределов обнаружения и определения ривароксабана в крови в различных средах вакуумных пробирок**Table 3.** Limits of detection and determination of rivaroxaban in blood in various environments of vacuum tubes

Состав наполнения пробирки	LOQ, мкг/мл	LOD, мкг/мл
Цитрат натрия	0,59	1,78
Соли гепарина	0,65	1,97
КЗ ЭДТА и аprotинин	0,69	2,10
Диоксид кремния	0,25	0,77

Таблица 4. Проверка правильности выбранных условий хроматографирования и подготовки пробы и оценка значимости смещения**Table 4.** Assessment of the selected chromatographic conditions and sample preparation and evaluation of the significance of the bias

Состав наполнения пробирки	Концентрация добавки ривароксабана в пробе, мкг/мл	Найденное значение ривароксабана в пробе, мкг/мл	Стандартное отклонение SD полученных результатов измерения ривароксабана, мкг/мл	Значение смещения Θ , %
Цитрат натрия	0,25 ± 0,03*	0,21	0,02	16
Соли гепарина	0,25 ± 0,03*	0,15	0,02	40
КЗ ЭДТА и аprotинин	0,25 ± 0,03*	0,19	0,03	24
Диоксид кремния	0,25 ± 0,03*	0,23	0,03	8

Примечание: * – погрешность приготовления раствора.

содержание ривароксабана в других биологических объектах, например, в моче. При этом известно, что данное вещество выводится через почки в неизменном виде в концентрации от 9 до 11 мг [13].

Функциональная оценка гемостатических реакций в ответ на антикоагулянтную терапию также таит в себе много сложностей. К сожалению, для этой цели мало пригодны скрининговые тесты (активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое время, тромбиновое время, фибриноген). Известно, что не более 5% генерации тромбина отражается на результатах этих исследований, и они не могут быть в полной мере использованы для характеристики гиперкоагуляционного состояния [17].

Вышеописанные данные подтверждают необходимость разработки более универсальных и чувствительных методов определения концентрации ПОАК, в том числе ривароксабана. Использование данных методов обосновано в особых клинических ситуациях (в случаях возникновения геморрагических и тромботических осложнений на фоне адекватной антикоагулянтной терапии, перед планируемыми хирургическими вмешательствами, при подозрении на передозировку препарата), когда для определения тактики лечения пациента требуется информация о концентрации принимаемого антикоагулянтного препарата в периферической крови в данный момент.

Проведенные нами исследования показали возможность определять ривароксабан в цельной крови без разделения ее на компоненты и тем самым минимизировать потери антикоагулянта за счет его адсорбции на клетках крови, которые могут быть удалены во время ее сепарирования. Также было продемонстрировано влияние наполнения пробирки, используемой при заборе крови, и условий детектирования. Содержание диоксида кремния в пробирке не оказывает значимого влияния на аналитический сигнал ривароксабана, а также не вносит дополнительной погрешности в точность метода.

Для оценки степени извлечения ривароксабана и выбора рабочей длины волны были построены градуировочные зависимости антикоагулянта в исходных растворах ацетонитрила и графики изменения площадей пика ривароксабана от его содержания в крови: при длине волны 254 нм ($r^2 = 0,98$) и 280 нм ($r^2 = 0,99$).

Регистрация ривароксабана на разных длинах волн может указывать на наличие двух его оптических изомеров, что подтверждается другими источниками [18]. Функция зависимости при длине волны 254 нм имеет большой угловой коэффициент, что позволяет снизить предел обнаружения определяемого вещества.

В настоящее время разработанная методика определения концентрации ривароксабана проходит клиническую апробацию. В исследование включаются пациенты с диагнозом ФП, верифицированным на основании клинических рекомендаций (рекомендации Российского общества кардиологов по диагностике и лечению ФП, одобренные МЗ РФ (2020)), а также пациенты, получающие в качестве антикоагулянтной терапии ксарелто (ривароксабан) 20 мг/сут не менее 4 нед. Забор крови производится утром, натощак, через 12 ч от приема последней дозы препарата. В исследование вошли 54 пациента, которым проведено определение концентрации ривароксабана с использованием описанной методики ВЭЖХ и с исключением мешающих факторов. Медиана концентрации ривароксабана составила 0,32 мкг/мл (0,26; 0,49) через

12 ч от приема препарата, что более соответствует минимальной концентрации ривароксабана в плазме крови при приеме в дозе 20 мг/сут (данные из исследований II фазы) [19, 20]. В представленном пилотном исследовании в дальнейшем мы предполагаем оценивать корреляции установленной концентрации ривароксабана в периферической крови с показателями коагуляционного гемостаза, а также с клиническими критериями эффективности и безопасности антикоагулянтной терапии. Эти данные мы планируем представить в следующих публикациях.

Заключение

Применение модифицированного метода ВЭЖХ с выбором длины волны 254 нм для детектирования аналитического сигнала позволяет снизить предел обнаружения определяемого вещества и увеличить диапазон определяемых концентраций. Использование пробирок с диоксидом кремния можно рекомендовать для снижения влияния матричного эффекта на количественное определение ривароксабана в крови и увеличения точности метода. Безусловно, методика требует дальнейшей валидации для доказательства точности определения концентрации ривароксабана в периферической венозной крови.

В перспективе разработка чувствительного, точного, доступного метода определения концентрации ривароксабана имеет практическую значимость и может стать основой для создания оптимальных антитромботических стратегий профилактики ТЭО у пациентов с ФП, особенно при наличии коморбидной патологии.

Литература / References

1. Benjamin E.J., Muntner P., Alonso A., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P. et al. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics 2019 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2019;10(139):e56e528. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000659>
2. Kamel H., Healey J.S. Cardioembolic Stroke. *Circ. Res*. 2017;120(3):514–526. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308407>
3. Сорокоумов В.А. Антикоагулянтная терапия для профилактики повторного инсульта у пациентов с фибрилляцией предсердий: комплексное управление рисками. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(1):3122. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3122>
4. Sorokoumov V.A. Anticoagulant therapy for the prevention of recurrent stroke in patients with atrial fibrillation: a comprehensive risk management. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(1):3122. (In Russ.). <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3122>
4. Михайлова З.Д., Черепанова В. В., Михайлова Ю. В. Тромбоэмболические осложнения на фоне анти тромботической терапии: взгляд кардиолога и гематолога. *Кардиология: Новости. Мнения. Обучение*. 2018;1(16):65–73. <https://doi.org/10.24411/2309-1908-2018-00002>
4. Mikhailova Z.D., Cherepanova V.V., Mikhailova Yu.V. Thromboembolic complications on the back of antithrombotic therapy: cardiologist and hematologist view of the problem. *Cardiology: News. Opinions. Education*. 2018;1(16):65–73. <https://doi.org/10.24411/2309-1908-2018-00002>
5. Взаимосвязь приема ривароксабана и апиксабана с большими ишемическими или геморрагическими событиями у пациентов с фибрилляцией предсердий. Ретроспективное когортное исследование реальной клинической практики. Пресс релиз. *Российский кардиологический журнал*. 2022;27(1S):4906. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2022-4906>
5. Association of rivaroxaban and apixaban therapy with major ischemic or bleeding events in patients with atrial fibrillation. Retrospective cohort real-world evidence study. Press release. *Russian Journal of Cardiology*. 2022;27(1S):4906. (In Russ.). <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2022-4906>

6. Заиграев И.А., Явелов И.С., Драпкина О.М., Базаева Е.В. Предикторы тромбоза левого предсердия и его ушка перед катетерной аблацией или кардиоверсией у больных с неклапанной фибрилляцией или трепетанием предсердий. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(12):3443. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3443>
- Zaigraev I.A., Yavelov I.S., Drapkina O.M., Bazaeva E.V. Predictors of thrombosis of left atrium and its appendage before catheter ablation or cardioversion in patients with non-valvular atrial fibrillation or atrial flutter. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(12):3443. (In Russ.) <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3443>
7. Баранова Е.И., Ионин В.А., Кацап А.А., Колесник О.С., Лебедева Е.В. Безопасность лечения прямыми оральными антикоагулянтами больных с фибрилляцией предсердий и высоким риском инсульта (обзор литературы). *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2019;26(3):43–56. <https://doi.org/10.24884/1607-4181-2019-26-3-43-56>
- Baranova E.I., Ionin V.A., Katsap A.A., Kolesnik O.S., Lebedeva E.V. Safety of direct oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation and high risk of stroke (review of literature). *The Scientific Notes of IPP-SPSMU*. 2019;26(3):43–56. (In Russ.) <https://doi.org/10.24884/1607-4181-2019-26-3-43-56>
8. Эшматов О.Р., Баталов Р.Е., Драгунова М.А., Арчаков Е.А., Попов С.В. Эффективность и безопасность антикоагулянтной терапии в реальной клинической практике у пациентов с персистирующей формой фибрилляции предсердий после интервенционного лечения. *Вестник ритмологии*. 2021;28(3):21–27. <https://doi.org/10.35336/VA-2021-3-21-27>
- Eshmatov O.R., Batalov R.E., Dragunova M.A., Archakov E.A., Popov S.V. Efficacy and safety of anticoagulant therapy in real clinical practice in patients with persistent atrial fibrillation after interventional treatment. *Journal of Arrhythmology*. 2021;28(3):21–27. (In Russ.) <https://doi.org/10.35336/VA-2021-3-21-27>
9. Ситкова Е.С., Драгунова М.А., Огуркова О.Н., Сморгон А.В., Московских Т.В., Баталов Р.Е. и др. Спонтанная и стимулированная агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с фибрилляцией предсердий и тромботическими осложнениями. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2023;38(4):116–124. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-4-116-124>
- Sitkova E.S., Dragunova M.A., Ogurkova O.N., Smorgon A.V., Moskovskikh T.V., Batalov R.E. et al. Spontaneous and stimulated platelet aggregation activity in patients with atrial fibrillation and thrombotic complications. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2023;38(4):116–124. (In Russ.) <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-4-116-124>
10. Jakowenko N., Nguyen S., Ruegger M., Dinh A., Salazar E., Donahue K.R. Apixaban and rivaroxaban anti-Xa level utilization and associated bleeding events within an academic health system. *Thromb. Res.* 2020;196:276–282. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.09.002>
11. Ngo L.T., Yang S.Y., Shin S., Cao D.T., Van Nguyen H., Jung S. et al. Application of physiologically-based pharmacokinetic model approach to predict pharmacokinetics and drug-drug interaction of rivaroxaban: A case study of rivaroxaban and carbamazepine. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 2022;11(11):1430–1442. <https://doi.org/10.1002/psp4.12844>
12. Samama M.M. The mechanism of action of rivaroxaban—an oral, direct Factor Xa inhibitor—compared with other anticoagulants. *Thromb. Res.* 2011;127(6):497–504. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2010.09.008>
13. Kubitzka D., Becka M., Roth A., Mueck W. Dose-escalation study of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban in healthy elderly subjects. *Current Medical Research and Opinion*. 2008;24(10):2757–2765. <https://doi.org/10.1185/03007990802361499>
14. Mashru R., Koshti N. Development and validation of UV-Spectrophotometric and RP-HPLC method for simultaneous estimation of Metformin and Doxycycline in bulk and synthetic mixture. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2021;11(4-S):26–35. <https://doi.org/10.22270/jddt.v11i4-S.4964>
15. Shukla A.H., Shah P.J., Dedhiya P.P., Vyas B.A., Shah S.A. Development and validation of a HPTLC method for rivaroxaban in human plasma for a pharmacokinetic study. *Indian J. Pharm. Sci.* 2020;82(2):315–320. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.652>
16. Родина Т.А., Мельников Е.С., Аксенов А.А., Белков С.А., Соколов А.В., Прокофьев А.Б. и др. Разработка методики количественного определения ривароксабана в сыворотке крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. *Химико-фармацевтический журнал*. 2018;52(4):59–64. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2018-52-4-59-64>
- Rodina T.A., Melnikov E.S., Aksenov A.A., Belkov S.A., Sokolov A.V., Prokofev A.B. et al. Development of hplc-ms/ms method for determination of rivaroxaban in human blood serum. *Chemical-Pharmaceutical Journal*. 2018;52(4):59–64. (In Russ.) <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2018-52-4-59-64>
17. Вавилова Т.В. Антикоагулянтная активность прямых ингибиторов фактора Ха свертывания крови как инструмент обеспечения эффективности и безопасности приема препаратов. *Кардиология*. 2019;59(11S):28–35. <https://doi.org/10.18087/cardio.n951>
- Vavilova T.V. Anticoagulant activity of direct factor Xa inhibitors as a tool to ensure the effectiveness and safety of drugs intake. *Kardiologiya*. 2019;59(11S):28–35. (In Russ.) <https://doi.org/10.18087/cardio.n951>
18. dos Santos N.O., Wingert N.R., Steppe M. Quality by design approach for enantiomeric evaluation by RP-HPLC method of Rivaroxaban and its chiral impurity. *Microchemical Journal*. 2023;192:108911. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.108911>
19. Samama M.M., Contant G., Spiro T.E., Perzborn E., Le Flem L., Guinet C. et al. Laboratory assessment of rivaroxaban: a review. *Thrombosis J.* 2013;11(1):11. <https://doi.org/10.1186/1477-9560-11-11>
20. Cini M., Legnani C., Padriani R., Cosmi B., Dellanoce C., De Rosa G. et al. DOAC plasma levels measured by chromogenic anti-Xa assays and HPLC-UV in apixaban- and rivaroxaban-treated patients from the START-Register. *Int. J. Lab. Hematol.* 2020;42(2):214–222. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13159>

Информация о вкладе авторов

Драгунова М.А. – постановка задачи, разработка концепции исследования, набор материала, обсуждение результатов, написание текста статьи; Моисеева Е.С. – разработка методологии, проведение экспериментов, обработка полученных данных, обсуждение результатов, написание текста статьи; Золотухина Н.Ю. – разработка методологии, исследований проведение экспериментов, обработка полученных данных; Ситкова Е.С. – постановка задачи, разработка концепции исследования, набор материала; Хлынин М.С. – постановка задачи, разработка концепции исследования, обсуждение результатов; Гуренкова А.А. – разработка методологии, проведение экспериментов, обработка полученных данных; Гусакова А.М. – разработка методологии, проведение экспериментов, обработка полученных данных, набор материала; Баталов Р.Е. – постановка задачи, разработка концепции исследования, обсуждение результатов, написание текста статьи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information on author contributions

Dragunova M.A. – study concept, objective setting, data collection, interpretation of results and manuscript preparation; Moiseeva E.S. – methodology development, performing experiments, data processing, interpretation of results and manuscript preparation; Zolotukhina N.Y. – methodology development, performing experiments, data processing; Sitkova E.S. – objective setting, study concept, data collection; Khlynin M.S. – objective setting, study concept, interpretation of results; Gurenkova A.A. – methodology development, performing experiments, data processing; Gusakova A.M. – methodology development, performing experiments, data processing, data collection; Batalov R.E. – objective setting, study concept, interpretation of results and manuscript preparation.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Сведения об авторах

Драгунова Марина Александровна, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория высоких технологий диагностики и лечения нарушений ритма сердца, НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: kirsay@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7264-9904>.

Моисеева Евгения Сергеевна, канд. хим. наук, начальник Центра коллективного пользования «Физико-химические методы анализа», НИ ТПУ, Томск, Россия, e-mail: moiseevaes@tpu.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3891-2286>.

Золотухина Наталья Юрьевна, инженер, Центр коллективного пользования «Физико-химические методы анализа», НИ ТПУ, Томск, Россия, e-mail: zolyuhina@tpu.ru; <https://orcid.org/0009-0006-5280-0263>.

Ситкова Екатерина Сергеевна, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория высоких технологий диагностики и лечения нарушений ритма сердца, НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: ses@cardio-tomsk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0988-3642>.

Хлынин Михаил Сергеевич, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория высоких технологий диагностики и лечения нарушений ритма сердца, НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: mskhlynin@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9885-5204>.

Гурenkova Анастасия Александровна, инженер, Центр коллективного пользования «Физико-химические методы анализа», НИ ТПУ, Томск, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1415-3932>.

Гусакова Анна Михайловна, канд. мед. наук, научный сотрудник, отделение клинической лабораторной диагностики, НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: anna@cardio-tomsk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3147-3025>.

Баталов Роман Ефимович, д-р мед. наук, заведующий лабораторией высоких технологий диагностики и лечения нарушений ритма сердца, НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: romancer@cardio-tomsk.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1415-3932>.

Поступила 31.01.2025;
рецензия получена 30.09.2025;
принята к публикации 01.10.2025.

Information about the authors

Marina A. Dragunova, Cand. Sci. (Med.), Research Scientist, Laboratory of High Technologies for Diagnostics and Treatment of Heart Rhythm Disorders, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: kirsay@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7264-9904>.

Evgenia S. Moiseeva, Cand. Sci. (Chem.), Head of the Center for Collective Use "Physicochemical Methods of Analysis", National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia, e-mail: moiseevaes@tpu.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3891-2286>.

Natalia Y. Zolotukhina, Engineer, Center for Collective Use "Physicochemical Methods of Analysis", National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia, e-mail: zolyuhina@tpu.ru; <https://orcid.org/0009-0006-5280-0263>.

Ekaterina S. Sitkova, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Laboratory of High Technologies for Diagnostics and Treatment of Heart Rhythm Disorders, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: ses@cardio-tomsk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0988-3642>.

Mikhail S. Khlynin, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Laboratory of High Technologies for Diagnostics and Treatment of Heart Rhythm Disorders; Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: mskhlynin@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9885-5204>.

Anastasia A. Gurenkova, Engineer, Center for Collective Use "Physicochemical Methods of Analysis", National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1415-3932>.

Anna M. Gusakova, Cand. Sci. (Med.), Research Scientist, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: anna@cardio-tomsk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3147-3025>.

Roman E. Batalov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of High Technologies for Diagnostics and Treatment of Heart Rhythm Disorders, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: romancer@cardio-tomsk.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1415-3932>.

Received 31.01.2025;
review received 30.09.2025;
accepted for publication 01.10.2025.