сетевой научный журнал ISSN 2313-8955

НАУЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ
RESEARCH RESULT

Том 4 | № 3
Volume 4 | 2018

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

Сайт журнала:
rrmedicine.ru
сетевой научный рецензируемый журнал
online scholarly peer-reviewed journal

НАУЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ
RESEARCH RESULT

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Свидетельство о регистрации средства массовой информации Эл. № ФС 77-69078 от 14 марта 2017 г.

The Journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor)
Mass media registration certificate El. № FS 77-69078 of March 14, 2017

БелГУ 1876

Том 4, №3. 2018

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
Издается с 2014 г.
ISSN 2313-8955

БелГУ 1876

Volume 4, № 3. 2018

ONLINE SCHOLARLY PEER-REVIEWED JOURNAL
First published online: 2014
ISSN 2313-8955

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

*ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: **Чурносов М.И.,** доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ*
*ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА: **Юров И.Ю.,** доктор биологических наук, профессор Российской академии наук, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, РФ*
*РЕДАКТОР АНГЛИЙСКИХ ТЕКСТОВ: **Ляшенко И.В.,** кандидат филологических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ*
*ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ: **Малютина А.Ю.,** кандидат фармацевтических наук, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ*
*ТЕХНИЧЕСКИЙ СЕКРЕТАРЬ: **Цветкова З.Е.,** ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ*

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:
***Александровский Ю.А.,** член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского», Москва, РФ*
***Ворсанова С.Г.,** доктор биологических наук, профессор, «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва, РФ*
***Галенко-Ярошевский П.А.,** член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар, РФ*
***Жернакова Н.И.,** доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ*
***Иллиг Т.,** доктор естественных наук, профессор, Ганноверский объединенный биобанк, институт генетики человека, Ганновер, Германия*
***Кубешова Х.М.,** MD, PhD, профессор, Масариков университет, Брно, Чехия*
***Малерба Дж.,** PhD, профессор медицинской генетики, Университет Вероны, Верона, Италия*
***Милкович Б.,** PhD, профессор, Белградский университет, Белград, Сербия*
***Нкенке Э.,** MD, DMD, MA, доктор медицинских наук, профессор, Венский медицинский университет, Вена, Австрия*
***Покровский М.В.,** доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ*
***Полоников А.В.,** доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск, РФ*
***Прощаев К.И.,** доктор медицинских наук, профессор, АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «ГЕРОНТОЛОГИЯ»», Москва, РФ*
***Руженков В.А.,** доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ*
***Степанов В.А.,** член-корреспондент Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, РФ*
***Фрейдин М.Б.,** доктор биологических наук, Королевский колледж Лондона, Лондон, Великобритания*
***Хуснутдинова Э.К.,** член-корреспондент Российской академии образования, доктор биологических наук, профессор, Институт биохимии и генетики Уфимского Федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, РФ*
***Эберт А.Д.,** PhD, доктор медицинских наук, профессор, Клиника женского здоровья, гинекологии и акушерства, Берлин, Германия*

EDITORIAL TEAM:

*EDITOR-IN-CHIEF: **M.I. Churnosov**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia*
*DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF: **I.Yu. Iourov,** Doctor of Biological Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Mental Health Research Center, Moscow, Russia*
*ENGLISH TEXT EDITOR: **I.V. Lyashenko,** Candidate of Philological Sciences, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia*
*EXECUTIVE SECRETARY: **A.Yu. Malyutina,** Candidate of Pharmaceutical Sciences, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia*
*TECHNICAL SECRETARY: **Z.E. Tsvetkova,** Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia*

EDITORIAL BOARD:
***Yu.A. Aleksandrovsky,** Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russia*
***S.G. Vorsanova,** Doctor of Biological Sciences, Professor, Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics of Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia*
***P.A. Galenko-Yaroshevsky,** Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia*
***N.I. Zhernakova,** Doctor of Medical Sciences, Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia*
***T. Illig,** Doctor Rerum Naturalium, Professor, Hanover Unified Biobank, Institute of Human Genetics, Hannover, Germany*
***H.M. Kubeshova,** MD, PhD, Professor, Masaryk University, Brno, Czech Republic*
***G. Malerba,** PhD, Professor of Medical Genetics, University of Verona, Verona, Italy*
***B. Miljkovic,** PhD, Professor, University of Belgrade, Belgrade, Serbia*
***E. Nkenke,** MD, DMD, MA, Doctor Rerum Medicarum, Full Professor, Medical University of Vienna, Vienna, Austria*
***M.V. Pokrovsky,** Doctor of Medical Sciences, Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia*
***A.V. Polonikov**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Kursk State Medical University, Kursk, Russia*
***K.I. Proshchaev,** Doctor of Medical Sciences, Professor, Research Medical Center "Gerontology", Moscow, Russia*
***V.A. Ruzhenkov,** Doctor of Medical Sciences, Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia*
***V.A. Stepanov,** Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor, Research Institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia*
***M.B. Freydin,** Doctor of Biological Sciences, King's College London, London, UK*
***E.K. Khusnutdinova,** Corresponding Member of the Russian Academy of Education, Doctor of Biological Sciences, Professor, Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*
***A.D. Ebert,** PhD, Doctor Medicinae Habilitatus, Professor, Practice for Women's Health, Gynecology & Obstetrics, Berlin, Germany*

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
Издатель: НИУ «БелГУ». Адрес издателя: 308015 г. Белгород, ул. Победы, 85.
Журнал выходит 4 раза в год

Founder: Federal State Autonomous Educational Establishment of Higher Education
«Belgorod State National Research University»
Publisher: Belgorod State National Research University
Address of publisher: 85 Pobeda St., Belgorod, 308015, Russia
Publication frequency: 4 /year

© Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 2018
© Belgorod State National Research University, 2018

СОДЕРЖАНИЕ		CONTENTS	
Ворошилин С.И., Ретюнский К.Ю. Факторы, влияющие на распространение и патоморфоз расстройств половой идентификации и половых предпочтений	**3**	**S.I. Voroshilin, K.Yu. Retyunskiy** Factors affecting the dissemination and patomorphosis of disorders of sexual identity and sexual preferences	**3**
Должиков А.А., Должикова И.Н. Выбор экспериментальной модели в биомедицинских исследованиях имплантатов. Обзор литературы	**17**	**A.A. Dolzhikov, I.N. Dolzhikova** The problem of experimental model choice in biomedical researches of implants. A review of literature	**17**
Елагин В.В., Братчиков О.И., Ульянова А.А. Подходы к коррекции ишемических и реперфузионных повреждений почек в эксперименте	**33**	**V.V. Elagin, O.I. Bratchikov, A.A. Ulyanova** Approaches to correction of ischemic and reperfusion kidney injuries in experiment	**33**
Лазарев К.Ю., Брайко О.П. Молекулярно-генетический анализ ассоциаций комбинаций полиморфных вариантов генов системы биотрансформации ксенобиотиков с развитием изолированного дефекта межжелудочковой перегородки в Краснодарском крае	**40**	**K.Y. Lazarev, O.P. Brayko** Molecular-genetic analysis of associations of polymorphous genes combinations of the xenobiotics biotransformation with the isolated ventricular septal defect development in the Krasnodar territory	**40**
Лебедева О.П., Кирко Р. Экспрессия толл-подобных рецепторов в женском репродуктивном тракте и ее гормональная регуляция	**50**	**O.P. Lebedeva, R. Qirko** Expression of toll-like receptors in the female reproductive tract and its horm one regulation	**50**
Мурсалов А.У. Особенности оксидативного статуса у пациентов пожилого возраста с сахарным диабетом второго типа	**66**	**A.U. Mursalov** Peculiarities of the oxidative status in elderly patients with type 2 diabetes mellitus	**66**
Радзинский В.Е., Алтухова О.Б. Молекулярно-генетические детерминанты бесплодия при генитальном эндометриозе	**72**	**V.E. Radzinsky, O.B. Altuchova** Molecular-genetic determinants of infertility in genital endometryosis	**72**
Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Эволюционно-генетический анализ роли регуляторных участков гена *CORO2A* в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии у русских и якутов	**83**	**V.N. Serebrova, E.A. Trifonova, V.A. Stepanov** Evolutionary-genetic analysis of the role of regulatory regions in *CORO2A* gene in the development of hereditary predisposition to preeclampsia in russian and yakut ethnic groups	**83**
Скачилова С.Я., Котельникова А.С., Тимохина А.С., Щеблыкина О.В. Оценка антигипоксической активности этилметилгидроксипиридина сукцината в опытах in vitro	**94**	**S.Ya. Skachilova, A.S. Kotelnikova, A.S. Timokhina, O.V. Shcheblykina** Evaluation of antihypoxic activity of ethylmethylhydroxipyridine sukcinate in in vitro experiments	**94**
Трифонов Н.И. Экспрессия белков p16, p21 и p53 в буккальном эпителии у людей разного возраста в норме и при хроническом пародонтите	**100**	**N.I. Trifonov** Expression of p16, p21 and p53 proteins in the buchcal epithelium in people of different age in norm and with chronic periodontite	**100**

УДК: 616. 891.7; 616.89-008.442.36-02-099:340 DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-1

Ворошилин С.И.,
Ретюнский К.Ю.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ПАТОМОРФОЗ РАССТРОЙСТВ ПОЛОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ПОЛОВЫХ ПРЕДПОЧТЕНИЙ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Уральский государственный медицинский университет»,
620014, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3
E-mail: retiunsk@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Расстройства половых предпочтений и особенно половой идентификации в последние годы привлекают к себе все большее внимание в связи с многочисленными кампаниями в СМИ, организуемыми участниками движения ЛГБТ, приобретающими все более политизированный и агрессивный характер. Рост числа публикаций о данных расстройствах создает впечатление о протекании в обществе опасных процессов деградации морали и основ семейной жизни, выходящих из-под его контроля. *Цель исследования.* На основе литературных данных изучить современное состояние проблемы распространённости, патоморфоза и коморбидности с психической патологией расстройств половой идентификации и половых предпочтений. *Материалы и методы.* Изучены литературные данные по поисковым словам: расстройство половой идентификации, расстройство половых предпочтений, коморбидность расстройств половой идентификации и предпочтений за 2012-2018 год в компьютерных базах данных: PubMed, Medical-Science, Elibrary, Ceeol, JSTOR, Web of Science, Scopus. *Результаты.* Расстройства сексуального поведения, представленные в МКБ-10 (ICD-10), относятся к группе расстройств личности, являясь одним из крупнейших источников конфликтов в обществе. К их числу принадлежат расстройства половой идентификации (трансвестизм и транссексуализм), расстройства половой ориентации (гомосексуализм и бисексуализм) и расстройства половых предпочтений или парафилии (фетишизм, фетишистский трансвестизм, садомазохизм, эксгибиционизм). В ряде стран указанные расстройства рассматриваются психологическими, медицинскими, общественными и государственными организациями как варианты нормального здорового поведения. *Заключение.* Таким образом, в генезе расстройств половой идентификации и половых предпочтений играют роль психологические, макросоциальные, микросоциальные и экономические факторы, влияющие на их распространение и патоморфоз, а также общественный резонанс.

Ключевые слова: нарушения половой идентификации; нарушения половых предпочтений; патоморфоз

Информация для цитирования: Ворошилин С.И., Ретюнский К.Ю. Факторы, влияющие на распространение и патоморфоз расстройств половой идентификации и половых предпочтений // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 3-16. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-1

S.I. Voroshilin,
K.Yu. Retyunskiy

FACTORS AFFECTING THE DISSEMINATION AND PATOMORPHOSIS OF DISORDERS OF SEXUAL IDENTITY AND SEXUAL PREFERENCES

Ural State Medical University,
3 Repin St., 3 Russia, Yekaterinburg, 620014
E-mail: retiunsk@mail.ru

Abstract. *Background*. Disorders of sexual preferences and especially gender identity in recent years have attracted increasing attention due to the numerous media campaigns organized by LGBT people, which are becoming increasingly politicized and aggressive. The growing number of publications about these disorders gives the impression of the occurrence in the society of dangerous processes of degradation of morality and the foundations of family life that come out of his control. *The aim of the study*. To study the current state of the problem of prevalence, pathomorphosis and comorbidity with the psychological pathology of sexual identity disorders and sexual preferences on the basis of literature data. *Materials and methods.* Literature data on search words were studied: sexual identity disorder, sexual preference disorder, comorbidity of sexual identification disorders and preferences for 2012-2018 in computer databases: PubMed, Medical-Science, Elibrary, Ceeol, JSTOR, Web of Science, Scopus. *Results.* The sexual behavior disorders presented in ICD-10 belong to the group of personality disorders, being one of the largest sources of conflict in the society. These include sexual identity disorders (transvestism and transsexualism), sexual orientation disorders (homosexuality and bisexualism) and sexual preference disorders or paraphilia (fetishism, fetish transvestism, sadomasochism, exhibitionism). In a number of countries, these disorders are considered by psychological, medical, public and state organizations as options for normal healthy behavior. *Conclusion.* Thus, the role of psychological, macrosocial, microsocial and economic factors that influence their distribution and pathomorphosis play a role in the genesis of sexual identity and sexual preferences, as well as social resonance.

Keywords: violations of sexual identification; violations of sexual preferences; pathomorphosis
Information for citation: Voroshilin SI, Retyunskiy KYu. Faktory, vliyayushchiye na rasprostraneniye i patomorfoz rasstroystv polovoy identifikatsii i polovykh predpochteniy [Factors affecting the dissemination and patomorphosis of disorders of sexual identity and sexual preferences]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):3-16. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-1

Расстройства половых предпочтений

Расстройства сексуального поведения, относящиеся к группе расстройств личности у взрослых, являются одним из крупнейших источников конфликтов в обществе. Согласно Международной классификации болезней МКБ-10 (ICD-10), они относятся к расстройствам личности у взрослых [20]. К их числу принадлежат расстройства половой идентификации (трансвестизм и транссексуализм), расстройства половой ориентации (гомосексуализм и бисексуализм) и расстройства половых предпочтений или парафилии, представленные наиболее многочисленной группой расстройств, например, таких как фетишизм, фетишистский трансвестизм, садомазохизм, эксгибиционизм и др. [3, 6, 11]. В американской классификации DSM-IV они отнесены к Impulse-Control Disorders [21].

Различия определенных форм сексуального поведения у представителей разных племен или народов всегда относилось к числу наиболее существенных признаков разграничения этих культур. Наиболее резкое неприятие чужой культуры способствовало усилению ксенофобии в этих отношениях. Частично сексуальное поведение регулировалось обычаем, но наиболее серьезные его аспекты фиксировались племенными табу, религиозными предписаниями и государственными законами, а с середины XX века даже международным законодательством [26, 27]. Проблемы сексуальной ориентации и гендерной идентичности становятся предметом рассмотрения на уровне ООН и ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения), порождая конфронтацию между государствами [26, 27].

Так, христианство и иудаизм всегда крайне негативно оценивали онанизм [17], рассматривая его не столько как нежелательное поведение, сколько как тяжкий грех. Вследствие этого общество в христианских странах всегда отрицательно относилось ко всем видам сексуальных отклонений, которые расценивались как извращения. Сведения о склонности человека к сексуальным извращениям ставили его в положение изгоя, даже при отсутствии формального, судебного или церковного осуждения. Лица, у которых обнаруживались отклонения в половом поведении, всегда привлекали внимание общества. С одной стороны, у окружающих возникало к ним негативное отношение. С другой стороны, оно находило определенную правовую, а позднее медицинскую оценку. До конца XIX века аномальное половое поведение в европейских странах оценивалось сначала как греховное, требовавшее санкций за нарушение религиозных догм, а позднее, как нарушение государственных законов. С конца XIX века сексуальные извращения начинают рассматриваться, хотя бы частично, в качестве отклонений в психическом здоровье или как аномалии личности. В большинстве мусульманских стран аномалии полового поведения и в настоящее время рассматриваются как неприемлемые и противоправные, причем некоторые из них караются смертной казнью. Так смертная казнь за педофилию применяется в Китае, Иране, Южной Корее, Ираке, Саудовской Аравии. Кроме того, в Иране к смертной казни приговариваются гомосексуалисты, женщины, совершившие прелюбодеяние.

Суровое отношение к лицам с сексуальными поведенческими отклонениями сохранялось во всех странах с европейской культурой до последней трети XX века. Общество было готово мириться с необычным сексуальным поведением, таким как гомосексуализм, если такое поведение носило скрытый характер, но применяло санкции к тем, кто демонстрировал такое поведение публично.

Но, начиная с конца 1960-х годов, по-видимому, в рамках движений, порожденных «молодежной революцией 60-х», возникают активные, а часто агрессивные движения «за права сексуальных меньшинств» в странах Западной Европы и в США [26, 27]. Так, возникло движение за права лиц, принадлежащих, к «сообществу ЛГБТ (LGBT, LGBTQ)», как они сами себя определили, которое объединяет гомосексуалистов (лесбиянок и геев), бисексуалов и трансгендеров (транссексуалов и трансвеститов). И к началу XXI века эти движения смогли добиться не только в отдельных странах, но на уровне ООН признания «гражданских прав» на многие формы аномального сексуального поведения как на «права человека», требующего признания их в качестве вариантов нормального поведения и осуждающего тех, кто проявляет к ним негативное отношение. В Декларации ООН по вопросам сексуальной ориентации и гендерной идентичности от 18.12.08 г. заявляется, что «права человека в равной степени относятся к каждому человеку, независимо от сексуальной ориентации или гендерной идентичности, … что насилие, домогательства, дискриминация, отчуждение, стигматизация и предрассудки направлены против лиц во всех странах мира из-за сексуальной ориентации или гендерной идентичности», … что ООН «настоятельно призываем государства принять все необходимые меры, в частности, законодательные или административные, чтобы сексуальная ориентация или гендерная идентичность ни при каких обстоятельствах не могли быть основой для уголовного наказания, в частности, для казней, арестов или задержания, … и настоятельно призывает государства обеспечить, чтобы нарушения прав человека, основанные на сексуальной ориентации или гендерной идентичности, были расследованы и виновные привлечены к ответственности и преданы суду» [4].

Вслед за решениями ООН в правовом поле последовало официальное изменение отношения к таким видам поведения в медицинских органах ООН – во Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, WHO), которое проявилось согласием на исключение некоторых форм аномального полового поведения из числа болезненных расстройств. А это привело к тому, что в отдельных странах все большее число вариантов аномального полового поведения было признано нормальным и не являющимся психическим или поведенческим расстройством. Вершиной на сегодня остается официальное исключение из числа болезненных состояний во всех странах Скандинавии (Дании, Норвегии, Швеции и Финляндии) таких психических и поведенческих расстройств (согласно классификации МКБ-10), как трансвестизм, транссексуализм, садомазохизм, фетишизм, расстройство гендерной идентичности в юности и иных расстройств половых предпочтений, конкретно не названных [2, 14]. Более того, в ряде стран, в том числе в США, открыто ведется пропаганда в защиту такого «сексуального меньшинства» как педофилия [14].

Принятие на уровне ООН решений в защиту прав сексуальных меньшинств породило определенный психологический раскол в обществе всех стран, в том числе, в тех, где государство публично признало все решения ООН по проблемам гендерных прав, и приняло законы в их защиту. Однако значительная часть населения не принимает эти решения и не согласна изменить свое отношение к сексуальным девиациям. Более того, эти решения ООН привели к расколу в самой ООН, поскольку значительная часть стран, в первую очередь, мусульманских, отказались принять эти решения. Следует заметить, что многие правовые вопросы аномального полового поведения не признаются даже на уровне международных органов. Так, Европейский суд по правам человека уже дважды отказался признать право на заключение однополых браков, относящимся к числу основных прав человека. 24 июня 2010 года Европейский Суд по правам человека отклонил жалобу австрийских геев, требовавших признания отказа властей в регистрации однополого брака, противоречащим Европейской конвенции о защите прав человека [10].

Россия оказалась в числе стран, которые не отказались от подписания Декларации, но на практике, учитывая отношение населения к таким решениям, практически не полностью выполняют все ее положения. Так в ряде регионов страны установлена уголовная ответственность за пропаганду гомосексуализма. В Государственной думе обсуждается вопрос о принятии такого закона на уровне всей РФ. К России предъявляются претензии, что в ее законодательстве отсутствует уголовная ответственность за «гомофобию», т.е. за негативное отношение к гомосексуалистам, за запрещение проведения «гей-парадов» и т.д. [9].

В то же время полное принятие государствами прав сексуальных меньшинств ведет к необходимости признания законными однополых браков, разрешение однополым семьям усыновлять детей. В результате этого в некоторых странах принято решение исключать в документах слова «муж» и «жена», заменяя их словами «супруги», а также слов «мать» и «отец», заменяя их терминами «родитель №1» (или «родитель А»), «родитель №2» (или «родитель В») как «дискриминационные» по отношению к супругам «однополых браков». После легализации однополых «браков» в штате Вашингтон (США) слова «невеста» и «жених», «муж» и «жена» также планируют заменить на слова «супруг А» и «супруг В», или «персона А» и «персона В». Аналогичные решения ожидаются в Великобритании и США [24]. Во Франции две трети населения относятся к этим нововведениям отрицательно, в связи с чем организуются массовые акции протеста.

В течение последних лет перестали относить к числу болезненных расстройств мастурбацию (онанизм) [12]. Однако, такая оценка входит в противоречие с представлениями значительной части общества. В то время, как в Скандинавии фетишизм не рассматривается как болезненное или отклоняющееся поведение, достаточно познакомиться с содержанием форумов, в том числе англоязычных, в которых обсуждаются проявления фетишизма, чтобы видеть, что обнаружение проявления фетишизма у одного из супругов (обычно у мужчины) повергает второго супруга (чаще жену) в шок, часто ведущему к распаду брака, немедленному или через некоторое время.

Таким образом, мы являемся свидетелями попыток навязывания обществу государственным аппаратом глобального изменения отношения к ряду видов отклоняющегося сексуального поведения в различных странах, в различных слоях общества, которое порождает раскол в общественном сознании и перерастает в массовые акции протеста. Сознание рядовых членов в обществе в основном не приемлет нового отношения, пропагандируемого представителями государств, которые оказались вынужденными пойти на изменение традиционного отношения к гомосексуализму и различным «сексуальным меньшинствам» вследствие принятого принципа «примата международного права» над местным, т.е. бюрократии ООН над бюрократиями национальных государств.

В настоящее время одновременно наблюдаются в различных странах два подхода в отношениях с лицами с сексуальными парафилиями. В странах, где особенно крепки культурные традиции и почитается религия, преобладает традиционный взгляд на межполовые отношения, согласно которому нетрадиционные сексуальные отношения порицаются и жестоко наказываются. В особенности это справедливо для мусульманских стран, которые не придерживаются международных взглядов на право человека выбора сексуальной ориентации и гендерной идентичности, и на их территории не ратифицированы соответствующие декларации ООН, в том числе и «Декларации ООН о сексуальной ориентации и гендерной принадлежности» [3, 4]. А 57 стран-членов Организации «Исламской конференции» и некоторые другие подписали альтернативное заявление [9, 15].

Такие крупные и влиятельные государства, как США, Россия, Китай и Индия также не подписали предложенную Декларацию. Вопрос об общественном восприятии сексуальных меньшинств в этих странах остается открытым.

В то же время, западные страны согласились со всеми положениями Декларации, благодаря чему уровень дискриминации лиц с нетрадиционной сексуальной ориентацией в них снизился. Более того, в большей части случаев западный мир выступает за признание сексуальных парафилий вариантами нормы. Этому способствует также деятельность различных общественных организаций, отстаивающих «права» сообщества ЛГБТ – ЛГБТК (LGBT – LGBTQ) – лесбиянок (lesbian), геев (gay), бисексуалов (bisexual), трансгендеров (transgenders, transsexuals, two-spirited) и квир (queer, questioning), включающие всех, кто имеет половую ориентацию, отличающуюся от обычной.

В настоящее время в ряде стран из числа психических и поведенческих расстройств исключены гомосексуализм и еще целый ряд видов отклоняющегося сексуального поведения [16]. По словам Ларса-Эрика Хольма, главы Национального совета по здоровью и благополучию, «личные сексуальные предпочтения не должны касаться общества. Особенно, если они освежают отношения между партнерами, вносят творческое разнообразие в сексуальную жизнь, укрепляют потенцию, и, в конечном счете – здоровье» [17].

Трансвестистский фетишизм (кроссдрессинг)

Более серьезные проблемы испытывают лица с трансвестистским фетишизмом. Расстройство проявляется формированием у пациента постоянного, а часто возрастающего влечения к надеванию на себя одежды противоположного пола. Чаще это мужчины, испытывающие влечение к надеванию на себя или полного комплекта женской одежды или отдельных элементов женского наряда. У многих это влечение возникает задолго до брака, в детстве или в подростковом возрасте. Вступив в брак, такой мужчина обычно сначала скрывает от супруги свое необычное пристрастие, опасаясь негативной реакции с ее стороны. Но в дальнейшем он продолжает тайно, в отсутствие жены и иных членов семьи дома или ночью, переодеваться в имеющуюся у него собственную женскую одежду или в одежду жены, пока однажды не оказываются разоблаченными. Обычно первоначально мужчина испытывает при переодевании в женскую одежду сексуальное возбуждение, но в дальнейшем удовлетворение становится не связанным с сексуальными переживаниями, проявляясь просто в форме удовольствия от переодевания или чувства облегчения. При невозможности переодеваться пациент испытывает неприятные тягостные переживания. Ниже приведены образцы описаний переживаний таких пациентов, взятые с форумов трансвеститов [18].

Пример 1. *«Мой кроссдрессинг начался с того, что я ради шутки надел белье моей девушки, когда мы занимались любовью. Мне понравилось испытанное ощущение, и я продолжил делать это впоследствии. Я чувствовал себя хорошо от этого».*

Пример 2. *«Я начал с панталон моей жены. Я не думал, что за этим последует какое-то развитие. Затем я начал надевать ночную рубашку, а потом лифчик. Со временем я стал носить платье. Затем я должен был купить парик, что позволило бы мне выходить из дома в моем платье и с макияжем.*

Пример 3. *«Я пытался прекратить одевать женское белье в различные периоды времени, но имел только ограниченный успех. Побуждение и страсть всегда возвращались, и я не мог их контролировать. Я объяснил это моей жене, но не знаю, может ли она понять это».*

Следует заметить, что и сам виновник конфликта, обнаруживающий фетишистское поведение, обычно сознает общественную неприемлемость своего поведения, поскольку ему известно отношение всех окружающих его лиц к такому поведению. Часто при этом он переживает чувство стыда. Обычно он скрывает, иногда в течение многих лет, свои необычные сексуальные пристрастия. Обнаружение у него необычного сексуального предпочтения чаще всего носит случайный характер, а «разоблаченный» при этом обычно оправдывается, старается объяснить свое поведение какой-нибудь случайностью, и обычно клянется, что «подобное больше никогда не повторится». Однако, в большинстве случаев он обнаруживает, что он не в состоянии избавиться от своего необычного влечения. Даже если эти лица не оказались разоблаченными, они обычно испытывают чувство внутреннего дискомфорта от того, что не могут рассказать о себе, что они должны скрывать значительную часть переживаний своей личности, опасаясь негативного отношения к себе, распада семьи.

Однако, раскрытие, добровольное или вынужденное, не облегчает полностью их жизнь, так как чаще всего они сталкиваются с непониманием своих переживаний, а также с обвинением в недопустимом поведении. Причин такого непонимания несколько. Во-первых, жена чаще всего испытывает опасение того, что ее муж или гомосексуалист, или транссексуал, который может в дальнейшем сменить пол. И к тому, и к другому в нашем обществе (и в других странах тоже) сохраняется выраженная неприязнь. Но главное то, что для жены и то, и другое представляется угрозой нормальному браку и перспективой к распаду семьи в последующем. Или у нее формируется стойкая неприязнь к особенностям супруга.

Обнаружение трансвестизма может изменить поло-ролевое положение супруга в семье, и у некоторых женщин это порождает неприятие его как мужчины. Конфликт при разоблачении завершается часто или немедленным распадом семьи, либо отставленным. Во втором случае он дает обещание больше не повторять подобного поведения, но при каком-то из последующих разоблачений он оказывается вынужденным покинуть семью. На приведенном ниже примере показан образец оценки женщиной такого трансвеститского поведения, взятый на одном из форумов.

Однако, в части случаев такой супруг может встретить определенное понимание со стороны своей жены и даже полное одобрение с ее стороны. В наиболее благоприятном для него случае она может полностью одобрить его внешний вид и позволить ему дома в отсутствии посторонних постоянно ходить в женской одежде весь день. Некоторые жены передают такому своему мужу некоторые свои вещи, если это позволяют их размеры, или помогают ему приобретать нужную ему одежду. Наиболее легко выполнить это позволяет наличие отдельной квартиры и отсутствие детей.

Но и в этом случае не все может быть благополучным. Во-первых, согласие жены на переодевания ее мужа может быть вынужденным, вследствие чего может нарастать ее неудовлетворённость его поведением, что может привести позднее к разрыву их отношений.

Легче их отношения могут удерживаться устойчиво, когда желание супруга ограничивается желанием носить только женское белье, которое можно скрывать днем под одеждой, а ночью можно скрывать под одеялом (если это не является тайной для супруги). В некоторых случаях такие мужчины готовы надевать его только на ночь или даже только перед ожидаемой интимной связью, с целью усиления полового влечения и эрекции. Другие испытывают потребность каждую ночь спать в женском белье. Третьи носят его постоянно, что может осуществляться незаметно под обычной мужской одеждой. Некоторые мужчины постоянно носят женское белье или колготки, даже отправляясь в них на работу. Хотя в этом случае над ними постоянно имеется угроза случайного выявления этого посторонними, например, в случае, если ему станет плохо, и его будут вынуждены госпитализировать, или если он попадет в ДТП. По данным исследований Г.Б. Дерягина, бельевой фетишизм был выявлен у 3.5% студентов и 2.4% студенток высших учебных заведений [8].

В части случаев супруг с проявлениями фетишистского трансвестизма обнаруживает усиление своего необычного влечения. В этом случае у него растет компульсивное желание расширить диапазон тех мест, в которые он готов отправляться, демонстрируя то, что он одет в женскую одежду. Более того, он может при этом даже требовать, чтобы его супруга сопровождала его в таких походах, в том числе, с посещением местных магазинов. В некоторых случаях, жены полностью поддерживали такое поведение своих мужей и даже сами получали от этого определенное удовольствие, но в других случаях это становилось причиной разрыва отношений.

Кроме того, распространение сведений о таком поведении мужчины может вести к нарушению отношений в знакомой мужской кампании и даже к увольнению с работы, если работодатель относится к такому поведению негативно или полагает, что информация о сотруднике-трансвестите может быть вредна для репутации учреждения, где он работает.

Таким образом, можно видеть, что у части трансвеститов отклонения их поведения могут быть незаметными, касаться лишь очень ограниченного круга людей и не создавать ни им, ни практически никому иному каких-то затруднений. Представляется, что такой уровень проявления фетишистского трансвестизма можно рассматривать как «фетишистский трансвестизм уровня акцентуации личности». Таким лицам вероятно достаточно семейной психотерапевтической (сексопатологической) консультации, главной целью которой должно быть успокоение супруги, рекомендация самому пациенту не расширять степени проявлений своих побуждений.

Сложнее положение со второй группой пациентов, у которых влечение к переодеванию генерализуется, приобретает компульсивный характер и влияет на их поведение, порождая конфликты в семье или с окружающими.

Некоторые из них в дальнейшем могут оказаться в числе транссексуалов, у которых оформляется стойкое стремление к смене пола. В любом случае, стремление к постоянному ношению одежды другого пола в общественных местах в современном обществе большинством населения воспринимается как неприемлемое. И невозможность сдерживать свои компульсивные побуждения свидетельствует о «психопатическом уровне трансвестизма» этих лиц. Очевидно, что в данном случае необходимо либо психотерапевтическое консультирование и терапия таких лиц, либо они окажутся вынужденными расстаться со своими семьями, со своим привычным окружением и испытать иные трудности, вызванные их поведением. Определенным выходом для таких лиц является образование клубов для лиц с таким влечением, где они могли бы собираться, в том числе иногда со своими супругами.

Возможно, что в будущем этот вид расстройств станет менее заметным, если в обществе будет принята мода на ношение мужчинами юбок, которое активно продвигается многими модельерами, начиная с 1980-х годов (первым представил их на подиуме в 1984 г. Жан-Поль Готье). Но пока такая мода не встретила поддержки со стороны большей части населения, хотя производство юбок для мужчин в небольшом количестве (помимо шотландских мужских юбок – килт) началось с 2005 года. Но следует иметь в виду, что даже если в моду войдут «мужские юбки» (men skirts), то они будут по покрою или по рисунку отличаться от женских, то трансвеститы будут стремиться носить «женские юбки» и иные типичные варианты женской одежды, чем они всегда будут отличаться от обычных мужчин. Так, в частности в Бирме, где и мужчины, и женщины носят юбки «лонджи», мужские юбки отличаются тем, что при их надевании у мужчин образуется складка спереди, а у женщин сбоку, а также тем, что мужские юбки имеют геометрический узор, а женские – цветочный. И нарушение этих правил является совершенно неприемлемым.

Обычно трансвестизм описывается исключительно у мужчин. Однако, в легких формах он наблюдается и у женщин. Но у них он обычно проявляется в настоящее время лишь на уровне акцентуации. Некоторые самоотчеты в форумах представляют описания таких случаев.

Пример 4*: «Когда я училась в институте, у меня периодически проскальзывали желания одеваться как мальчик. Правда останавливало меня одно – получался маленький, щупленький мальчишка, поэтому я и одевалась в мужскую одежду нечасто. Но были такие моменты, когда мужская одежда была мне просто необходима – это сессия: экзамены и зачеты. Я не могла* *прийти на экзамен, если на мне не было черного пиджака, белой рубашки, галстука и брюк. Мне нужна была уверенность, спокойствие и хладнокровие, а это я ощущала исключительно в таком прикиде»* [18, 22].

Вероятно, проявления трансвестизма психопатического уровня были заметны у женщин в те времена, когда ношение мужской одежды женщинами было абсолютно неприемлемым и было запрещено на религиозном и на законодательном уровне, вплоть до угрозы уголовного наказания. Известно, что одной из причин осуждения на сожжение Жанны д`Арк было ношение ею мужской одежды. Кстати, сама она мотивировала свое переодевание в мужскую одежду тем, в женской одежде она, находясь среди солдат, подвергалась сексуальным домогательствам, вплоть до угрозы изнасилования. Кроме того, у нее имелась какая-то аномалия половых органов (по-видимому, истинный гермафродитизм, при котором она не могла совершать нормальный половой акт.

Вероятно, участницы первых экспериментов по ношению женщинами брюк в XIX веке также демонстрировали своим поведением проявления трансвестизма уровня психопатизации. Таковыми, в частности, были экстравагантная писательница Жорж Санд в Париже (она постоянно надевала мужской костюм на публике в 1831-1838 гг.), феминистка мисс Дженкинс в Лондоне (1851), суфражистка Амалия Блумер в США (1853-1859), которая была поддержана большой группой своих сторонниц, Мери Джонс в США в 1860-е. Блумер сама изобрела специальный женский наряд с брюками, состоявший из шаровар и расширенной юбки до колен, который некоторые женщины воспроизводили в конце XIX века для езды на велосипеде.

Кроме того, в XIX веке описаны многочисленные случаи ношения мужской одежды женщинами, которые принимали участие в войнах. Таковы были Надежда Дурова в России, участница войны 1812 года, и Эмилия Платер, воевавшая в польских войсках армии Наполеона. Таковы были несколько сот женщин, участвовавшие с обеих сторон в войне Севера и Юга в США. Многие из таких женщин описывались современниками, как неженственные, склонные к демонстрации мужского поведения. Очень часто у них была неудачная семейная жизнь.

С конца XIX века стало допускаться ношение женщинами брюк для спортивных целей (велосипед, лыжи), а также женщинами, работавшими на промышленных предприятиях в годы 1 мировой войны. Но еще в 1931 г. Марлен Дитрих было предложено покинуть Париж за то, что она постоянно носила брюки. Формально закон от 17.11.1800 г., запрещавший женщинам в Париже носить брюки без особого разрешения, был отменен только в феврале 2013 г. Впрочем, по дополнениям к закону от 1892 и 1909 гг. женщинам разрешалось носить брюки, если они «держали руль велосипеда или уздечку лошади». Турецкий парламент разрешил носить брюки женщинам депутатам также лишь в 2013 г. Лишь в 1965-1970 гг. ношение женщинами брюк в повседневной жизни стало общепринятым и в западных странах, и в странах социалистического блока. Однако, лишь к 1991 г. оно стало допустимо в любых официальных учреждениях во всех странах. Таким образом, в странах европейской культуры на процесс включения в женскую моду брюк потребовал от первых попыток ношения их экстравагантными женщинами до полного признания 130-160 лет. В настоящее время брюки носит от 70 до 100% женщин.

Кроме крайнего варианта влечения к переодеванию в одежду другого пола имеется большое семейство влечения к переодеваниям в форме влечения к переодеванию в одежду своего пола, но другого возраста (детского, подросткового), или другого социального статуса (цисвестизм) [3].

Описаны варианты влечения к определенной одежде (к униформе военной, школьной, медицинской, нацистской), или к одежде из определённой материи (одежде из меха, кожи – ретифизм, из латекса, из прозрачных тканей), влечение к экстравагантной моде. Иногда такие виды влечений выделяют в различные самостоятельные формы фетишизма, как например, «фетиш моды».

Транссексуализм

При транссексуализме происходит полная идентификация себя с лицом противоположного пола. Помимо этого, из-за неудовлетворенности своим биологическим полом человек постоянно пребывает в состоянии депрессии, дисфории с нередкими проявлениями аутоагрессии [3]. Обычно такие люди настроены на медикаментозную и хирургическую коррекцию "неправильного" пола.

Транссексуализм встречается во всех этнических группах и не зависит от культурных, интеллектуальных и прочих различий. Распространенность его среди мужчин, по данным разных сексопатологов, варьирует от 1:37000 до 1:100000 человек.

Соотношение между мужчинами и женщинами колеблется от 2:1 до 8:1. В странах, в которых информация о транссексуализме известна населению, выражают желание изменить свой пол хирургическим путем 1 из 30000 мужчин и 1 из 100000 женщин. С подросткового возраста отмечается рост числа суицидов среди транссексуалов.

Первые признаки транссексуализма начинают проявляться уже в 4-5 лет и характеризуются убежденностью в "неправильности" своего пола и настойчивым желанием принадлежать к лицам другого пола [15, 23]. При этом транссексуалы мужского пола в детстве обладают более феминизированным поведением, чем гомосексуалы. Такие дети одеваются и ведут себя не свойственным для их пола образом. Мальчики могут иметь сильное желание участвовать в играх и развлечениях девочек и наоборот. С неодобрением общества такие дети чаще всего встречаются в период обучения в школе, в особенности со стороны сверстников, что зачастую приводит к суицидальным попыткам.

Наиболее радикальным средством профилактики самоубийств среди транссексуалов является приведение биологического и паспортного пола в соответствие с полом психическим, т.е. смена пола, или частичная с использованием только гормонов, или полная с применением хирургии.

Исследования показывают, что менее чем 1% сожалеют о переменах. Среди прошедших через оперативную коррекцию отмечается меньше 1% самоубийств. В некоторых случаях было отмечено, что у некоторых мужчин, которые в детстве хотели быть девочками, переодевались в женскую одежду, демонстрировали женское поведение, в дальнейшем, процессе взросления утрачивали такие желания [19, 23]. Это указывает на ненадежность точного прогнозирования транссексуализма у взрослых только на основании их детских предпочтений.

Дисфория по причине транссексуализма у нераскрывшегося транссексуала может наблюдаться в течение всей жизни вплоть до глубокой старости, и, следовательно, создавать опасность совершения суицида [19, 23]. В настоящее время все чаще описывают случаи смены пола в пожилом возрасте. R.F. Docter [19] сообщил об уникальном случае проведения операции по смене пола 74-летнему мужчине, который до этого прожил в браке 37 лет и сменил пол через 10 лет после смерти жены.

В связи со сменой пола MtF возникла новая половая группа, называемая shemale (dickgirls или ladyboys) или «транссексуалы, не подвергнувшиеся оперативному вмешательству ради изменения пола». Они представляют собой мужчин, изменивших свою внешность с помощью гормонов и операций на лице, но не удаливших мужские половые органы. В секс-бизнесе (особенно в Таиланде) на них возник особый спрос, поскольку они, как проститутки, способны удовлетворять как бисексуальных, так и пресыщенных гетеросексуальных партнеров, ищущих приключений.

Но смена пола полностью не решает всех проблем, поскольку после смены пола возникают новые проблемы, связанные с потерей прежних социальных связей и адаптацией к жизни в новой для них среде. Неожиданным фактом оказалось, что 41% трансгендеров в США пытались покончить жизнь самоубийством, согласно результатам опроса, более 7000 транссексуалов, проведенного Национальным центром Равенства и транссексуалов Национальный геев и лесбиянок (National Center for Transgender Equality and the National Gay and Lesbian), опубликованным в 2010. Исследование также показало, что 2.64% трансгендеров инфицированы ВИЧ, что больше, чем в четыре раза превышает средний показатель по стране (0.6%). 41% самоубийств среди трансгендерных лиц в 25 раз превышает частоту в населении в целом (1.6%). А в возрасте 18-44 частота попыток самоубийства составила 45%, т.е. еще почти в 2 раза выше [1]. Отмечается, по данным *International Journal of Transgenderism,* что недовольны результатами смены пола около 1% FtM и 1.5% MtF. Описаны случаи, когда лица, ранее сменившие пол, осуществляют возвращение к своему первоначальному полу.

Рассмотрение вышеописанных расстройств личности показало, что естественно первичной причиной развития у конкретного отдельного индивидуума определенного сексуального расстройства является определенная предрасположенность к формированию такого отклонения. Очевидно, что основу его составляет какое-то нарушение баланса половых гормонов, точнее регулирующих его метаболических механизмов, основу которого составляют генетические механизмы [7]. На это, в частности, указывает возраст начала формирования у лиц с этими расстройствами рассматриваемых поведенческих отклонений. Чаще всего это наблюдается впервые препубертатном или пубертатном возрасте (реже в детском, дошкольном). Второй период обнаружения таких отклонений имеет место в инволюционном, а иногда и в старческом возрасте, т.е. связан скорее с климактерическим периодом. Сами лица, у которых наблюдаются проявления сексуальных отклонений обнаруживают их у себя внезапно, при случайной провокации, когда кто-то предложил или заставил надеть соответствующую одежду, после чего испытал неожиданное для себя удовольствие, что заставило снова и снова повторить такой опыт. Дальнейшее течение обнаруживает различную интенсивность и динамику. Одним достаточно повторять такой опыты эпизодически и в ограниченном объеме, успешно обеспечивать конспиративность повторений. Другие испытывают потребность переодеваться во все более полном объеме, с максимальной имитацией женского поведения со все большим временем пребывания в женском одеянии, с стремлением демонстрировать себя посторонним людям. При этом обнаруживается отсутствие сдерживания себя с учетом социальных требований. Человек предпочитает расстаться с семьей, в том числе с родителями и своими детьми, расстаться с работой и иными социальными связями ради удовлетворения данного влечения.

Но само рассмотрение данного влечения аномальным определяется обществом, его обычаями. Эти ограничения чаще разумны и обеспечивают наилучшее решение вопросов брачного поведения, сохранения семьи и воспитания детей. Но они могут быть, по существу, необоснованными и даже вредными. Примером вредных обычаев общества можно рассматривать женское обрезание у части мусульман. Примером необоснованного с научной и медицинской точки зрения может рассматриваться мастурбация, категорически осуждаемого христианством, причем осуждаемыми и подлежащими определённому наказанию являются даже поллюции и эротические сны. Но, естественно, патологическим является насильственная мастурбация, которая может требовать медицинской помощи. В современных условиях мужской трансвестизм реально не представляет проблем при соблюдении внутрисемейной конспирации и не требует большего, чем психотерапии в тех семьях, где в связи с его проявлениями возникают проблемы. Женский трансвестизм при современной моде, допускающей ношениям брюк, является практически незаметным. Возможно, в будущем, если мода допустит ношение мужчинами юбок и платьев, также станет незаметным мужской трансвестизм, или будут осуждаться какие-то его варианты.

Таким образом, вторым фактором проявления расстройств полового поведения, в частности, трансвестизма, являются микросоциальные факторы, определяющие допущение определенного поведения общественным институтами, обычаями и законами. Если законы и обычаи не входят в противоречащие с психологическими влечениями, не возникает проблемы адаптации определяемыми ими поведением к жизни общества.

Третьей группой факторов, влияющих на распространение и патоморфоз патологических влечений, являются макросоциальные факторы, такие как государственная политика, демографические факторы, экономические условия. Государство изменением законов может объявить определённые формы поведения незаконными, что поставит людей, отказывающихся подчиниться, в положение лиц с расстройствами поведения. В истории известны многочисленные случаи издания законов, регулирующих ношение одежды или причесок определенного типа, законов, изменяющих нормы семейной жизни, запрещающих под страхом смертной казни определенные формы половой жизни. И, напротив, государство может декриминализовать запрещенные формы поведения, в том числе отменить запреты на ношение определенной одежды, определенные нормы семейной и даже интимной жизни.

Исторические материалы показывают, что нередко суровые законы, принятые на основе некомпетентных решений высшего руководства, оказывались неэффективными и приводили лишь к необоснованным репрессиям населения, не достигая поставленной цели. В то же время отсутствие какого-либо регулирования могло способствовать распространению в обществе нежелательных процессов, например, снижению рождаемости, росту преступности.

Четвертой группой факторов, влияющих на распространение и патоморфоз патологических влечений, являются экономические факторы. Рост городов всегда сопровождался ростом развратного поведения, обнаружению в них множества пороков. В небольших поселениях число развратных людей было мало, в больших городах они могли собираться в большие группы, организовываться в клубы. Большой город был источником самой различной информации. В городе становилось известно о разных вариантах половых извращений. Столицы и портовые города превращались в центры разврата. Городами, в которых возникло, сформировалось и оказалось способным отстаивать свои права движение ЛГБТ, стали Нью-Йорк и Сан-Франциско.

В настоящее время возник дополнительный источник запретной информации – сеть интернет, благодаря которой стала доступна информация для всех обо всем.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Аминов И. Самоубийства в России // Демоскоп Weekly. 2016. 14-27 нояб. N 705-706. URL: http://www.demoscope.ru/weekly/2016/0705/tema04.php (дата обращения 09.07.2018).

2. В Швеции трансвестизм исключат из списка психических расстройств // МЕДПОРТАЛ.ru: интернет-ресурс для врачей и пациентов. [Электронный ресурс]. М., 2008. 20 нояб. URL: http://medportal.ru/mednovosti/news/2008/11/20/transvestism/ (дата обращения: 11.05.2018).

3. Ворошилин С.И. Поведенческие нехимические аддикции: пороки, грехи, соблазны или болезни. Екатеринбург: УГМУ, 2014. 458 с.

4. Ворошилин С.И. Проблемы нехимических (поведенческих) зависимостей // Актуальные проблемы возрастной наркологии: материа-

лы регион. науч.-практ. конф. (г. Челябинск, 19-20 ноября 2009 г.). Челябинск, 2009. С. 27-29.

5. Ворошилин С.И. Психогенетический и этологический подходы к классификации нехимических (поведенческих) зависимостей // Психологические проблемы развития и существования человека в современном мире: сб. науч. тр. / УрГПУ; отв. ред. С.А. Минюрова. Екатеринбург, 2009. Вып. 2. С. 59-76.

6. Ворошилин С.И. Расстройства привычек и влечений: феноменология проявлений и границы диагностики // Журнал практического психолога. 2008. N 2. С. 34-47.

7. Гарбузов В.И. Инстинкты и судьба человека. М.: Санкт-Петербург: АСТ, 2007. 477 с.

8. Дерягин Г.Б. Криминальная сексология: курс лекций. М.: Щит-М, 2008. 550 с.

9. Европейский суд окончательно признал незаконным запрет гей-парадов в Москве // NEWSru.com. [Электронный ресурс]. Москва, 2011. URL: www.newsru.com/russia/13apr2011/council_pride.html (дата обращения: 11.05.2018).

10. Европейский суд: однополый «брак» не относится к правам человека // Любовь против гомосексуализма. [Электронный ресурс]. Киев, 2012. URL: love-contra.org/index.php/expert/issue/960 (дата обращения: 10.05.2018).

11. Егоров А.Ю. Нехимические зависимости. Санкт-Петербург: Речь, 2007. 190 с.

12. Кон И.С. Новое о мастурбации // Игорь Семенович Кон – Сексология, Гомосексуальность, Антрополония. [Электронный ресурс]. Москва, 2014. URL: http://russian-sexology.blogspot.com/2014/05/blog-post_17.html (дата обращения: 11.05.2018).

13. Косарецкая С.В., Косарецкий С.Г., Синягина Н.Ю. Неформальные объединения молодежи: профилактика асоциального поведения. Санкт-Петербург: КАРО, 2006. 387 с.

14. Педофилию могут объявить «сексуальной ориентацией». [Электронный ресурс]. URL: maxpark.com/user/2661687724/content/1620390 (дата обращения: 11.05.2018).

15. Перехов А.Я. Клиника и динамика фетишного трансвестизма с синдромом отвергания пола: автореф. дис. …канд. мед. наук. Москва, 1996. 21 с.

16. Резухина Е.В. Подростковые и молодежные субкультуры: психолого-педагогический аспект. [Электронный ресурс]. URL: http://zavalinka.org/read.php?id=505385 (дата обращения: 11.05.2018).

17. Роледер Г. Онанизм: причины, явления болезни, предупредительные меры, лечение / Моногр. для врачей, педагогов и родителей. М., 1927. 190 с.

18. Трансвестит.ру: форум для трансвеститов и кроссдрессеров. [Электронный ресурс]. М., 2018. URL: https://transvestit.ru/forum/ (дата обращения 10.05.2018).

19. Трансы Москвы: транссексуалы и транссексуалки: сайт. [Электронный ресурс]. М., 2018. URL: http://www.shemale.ru/ (дата обращения 10.05.2018).

20. Чуркин А.А., Мартюшов А.Н. Краткое руководство по использованию МКБ-10 в психиатрии и наркологии. М.: Триада-Х, 1999. 232 с.

21. Diagnostic and Statistical: Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR) / American Psychiatric Association. 4th ed., text revision. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000. 980 p.

22. Heger Boyle E. Female genital cutting: cultural conflict in the global community. Baltimore: The John Hopkins University Press, 2002. 188 p.

23. Lynn Conway: website. Ann Arbor, MI, 2018. [Электронный ресурс]. URL: http://ai.eecs.umich.edu/people/conway/conway.html (дата обращения 10.05.2018).

24. Sheridan M.B., O'Keefe E. Parent One, Parent Two to replace references to mother, father on passport forms // Washington Post [Электронный ресурс]. 2011. 7 January. URL: http://www.washingtonpost.com/wp-dyn/content/article/2011/01/07/AR2011010706741.html?noredirect=on (дата обращения 10.05.2018).

25. Sweden removes transvestism and other ‘sexual behaviours’ from list of diseases // PinkNews [Электронный ресурс]. 2008. 19 November. URL: https://www.pinknews.co.uk/2008/11/19/sweden-removes-transvestism-and-other-sexual-behaviours-from-list-of-diseases/ (дата обращения 10.05.2018).

26. The Yogyakarta Principles : principles on the application of international human rights law in relation to sexual orientation and gender identity. [S.l.] International Commission of Jurists (ICJ), 2007. 35 p.

27. UN Declaration on Sexual Orientation and Gender Identity // ATME e.v. Aktion Trans-

sexualität und Menschenrecht. [Электронный ресурс]. Stuttgart, 2008. URL: http://www.atme-ev.de/images/Menschenrechtstexte/un-deklaration_wikipedia.pdf (дата обращения: 09.05.2018).

References

1. Aminov I. Samoubiystva v Rossii [Suicide in Russia]. Demoskop Weekly [Internet]. 2016 Nov. 14-27;705-706. [cited 2018 May 09]. Available from: http://www.demoscope.ru/weekly/2016/0705/tema04.php Russian.

2. V Shvetsii transvestizm isklyuchat iz spiska psikhicheskikh rasstroystv [In Sweden transvestism will be excluded from the list of mental disorders] // MEDPORTAL.ru: internet-resurs dlya vrachej i pacientov [Internet]. Moscow; 2008 Nov. 20. [cited 2018 May 11]. Available from: http://medportal.ru/mednovosti/news/2008/11/20/transvestism/ Russian.

3. Voroshilin SI. Povedencheskiye nekhimicheskiye addiktsii: poroki, grekhi, soblazny ili bolezni [Behavioral non-chemical addictions: vices, sins, temptations or illnesses]. Ekaterinburg: UGMU; 2014. 458 p. Russian.

4. Voroshilin SI. Problemy nekhimicheskikh (povedencheskikh) zavisimostey [Problems of non-chemical (behavioral) dependencies]. In: Aktual'nyye problemy vozrastnoy narkologii [Actual problems of age-related narcology]. Proceedings of region scientific-practical conf.; 2009 Nov. 19-20; Chelyabinsk. Chelyabinsk; 2009. P. 27-29. Russian.

5. Voroshilin SI. Psikhogeneticheskiy i etologicheskiy podkhody k klassifikatsii nekhimicheskikh (povedencheskikh) zavisimostey [Psychogenetic and ethological approaches to the classification of non-chemical (behavioral) dependencies]. In: Minyurova SA, editor. Psikhologicheskiye problemy razvitiya i sushchestvovaniya cheloveka v sovremennom mire [Psychological problems of development and existence of man in the modern world]. Yekaterinburg: UrGPU; 2009;2:59-76. Russian.

6. Voroshilin SI. Rasstroystva privychek i vlecheniy: fenomenologiya proyavleniy i granitsy diagnostiki [Disorders of habits and inclinations: the phenomenology of manifestations and the boundaries of diagnosis]. Zhurnal prakticheskogo psikhologa. 2008;2:34-47. Russian.

7. Garbuzov VI. Instinkty i sud'ba cheloveka [Instincts and destiny of man]. Moscow; St. Petersburg: AST; 2007. 477 p. Russian.

8. Deryagin GB. Kriminal'naya seksologiya: kurs lektsiy [Criminal Sexology: a course of lectures]. Moscow: Shhit-M, 2008. 550 p. Russian.

9. Evropeyskiy sud okonchatel'no priznal nezakonnym zapret gey-paradov v Moskve [The European Court finally recognized as illegal the ban of gay pride parades in Moscow]. NEWSru.com [Internet]. Moscow; 2011. [cited 2018 May 11]. Available from: www.newsru.com/russia/13apr2011/council_pride.html Russian.

10. Evropeyskiy sud: odnopolyy «brak» ne otnositsya k pravam cheloveka [European Court: same-sex "marriage" does not apply to human rights]. Lyubov' protiv gomoseksualizma [Love against homosexuality] [Internet]. Kiev; 2012. [cited 2018 May 10]. Available from: love-contra.org/index.php/expert/issue/960 Russian.

11. Egorov AYu. Nekhimicheskiye zavisimosti [Non-chemical dependencies]. St. Petersburg: Rech; 2007. 190 p. Russian.

12. Kon IS. Novoye o masturbatsii [New about masturbation]. Igor' Semenovich Kon – Seksologiya, Gomoseksual'nost', Antropoloniya [Igor Semenovich Kon – Sexology, Homosexuality, Anthropolonia] [Internet]. [cited 2018 May 11]. Available from: http://russian-sexology.blogspot.com/2014/05/blog-post_17.html Russian.

13. Kosaretskaya SV, Kosaretskiy SG, Sinyagina NYu. Neformal'nyye ob"yedineniya molodezhi: profilaktika asotsial'nogo povedeniya [Informal youth associations: prevention of antisocial behavior]. St. Petersburg: KARO; 2006. 387 p. Russian.

14. Pedofiliyu mogut ob"yavit' «seksual'noy oriyentatsiyey» [Pedophilia can be declared a "sexual orientation"] [Internet]. [cited 2018 May 11]. Available from: max-park.com/user/2661687724/content/1620390 Russian.

15. Perekhov AYa. Klinika i dinamika fetishnogo transvestizma s sindromom otverganiya pola [Clinic and dynamics of fetish transvestism with the syndrome of sex rejection] [dissertation]. Moscow; 1996. Russian.

16. Rezukhina EV. Podrostkovyye i molodezhnyye subkul'tury: psikhologo-pedagogicheskiy aspekt [Teenage and youth subcultures: the psychological and pedagogical aspect] [Internet]. [cited 2018 May 11]. Available from: http://zavalinka.org/read.php?id=505385 Russian.

17.Roleder G. Onanizm: prichiny, yavleniya bolezni, predupreditel'nyye mery, lecheniye [Masturbation: causes, disease phenomena, preventive measures, treatment]. Monogr. dlya vrachey, pedagogov i roditeley [Monogr. for doctors, teachers and parents]. Moscow; 1927. 190 p. Russian.

18.Transvestit.ru: forum dlya transvestitov i krossdresserov [Transvestite.ru: forum for transvestites and cross-dressers] [Internet]. Moscow; 2018. [cited 2018 May 10]. Available from: https://transvestit.ru/forum/ Russian.

19.Transy Moskvy: transseksualy i transseksualki: sayt [Transits of Moscow: transgender and transsexuals: site][Internet]. Moscow; 2018. [cited 2018 May 10]. Available from: http://www.shemale.ru/ Russian.

20.Churkin AA, Martyushov AN. Kratkoye rukovodstvo po ispol'zovaniyu MKB-10 v psikhiatrii i narkologii [A short guide to the use of ICD-10 in psychiatry and narcology]. Moscow: Triada-X; 1999. 232 p. Russian.

21.Diagnostic and Statistical: Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR). American Psychiatric Association. 4th ed, text revision. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000. 980 p.

22.Heger Boyle E. Female genital cutting: cultural conflict in the global community. Baltimore: The John Hopkins University Press; 2002. 188 p.

23.Lynn Conway: website [Internet]. Ann Arbor, MI; 2018. [cited 2018 May 10]. Available from: http://ai.eecs.umich.edu/people/conway/conway.html

24.Sheridan MB, O'Keefe E. Parent One, Parent Two to replace references to mother, father on passport forms. Washington Post [Internet]. 2011 Jan. 7. [cited 2018 May 10]. Available from: http://www.washingtonpost.com/wp-dyn/content/article/2011/01/07/AR2011010706741.html?noredirect=on

25.Sweden removes transvestism and other ‘sexual behaviours’ from list of diseases. PinkNews [Internet]. 2008 Nov. 19. [cited 2018 May 10]. Available from: https://www.pinknews.co.uk/2008/11/19/sweden-removes-transvestism-and-other-sexual-behaviours-from-list-of-diseases/

26.The Yogyakarta Principles: principles on the application of international human rights law in relation to sexual orientation and gender identity. [S.l.]: International Commission of Jurists (ICJ); 2007. 35 p.

27.UN Declaration on Sexual Orientation and Gender Identity. ATME e.v. Aktion Transsexualität und Menschenrecht [Internet]. Stuttgart; 2008. [cited 2018 May 09]. Available from: http://www.atme-ev.de/images/Menschenrechtstexte/un-deklaration_wikipedia.pdf

Ворошилин Сергей Иванович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры психиатрии.
Ретюнский Константин Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры психиатрии.

Voroshilin Sergey Ivanovich, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Psychiatry.
Retyunskiy Konstantin Yurievich, Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Psychiatry.

Статья поступила в редакцию 25 мая 2018 г.

УДК:616.718.5.001.6–089.844:615.465 **DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-2**

Должиков А.А.,
Должикова И.Н.

ВЫБОР ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ В БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ИМПЛАНТАТОВ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
(НИУ «БелГУ»),
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85
E-mail: dolzhikov@bsu.edu.ru

Аннотация. *Актуальность.* Биомедицинские исследования и совершенствование способов изготовления материалов медицинского назначения с заданными свойствами и их фармакологического сопровождения привели к интеграции достижений в материаловедении и медицине и появлению новой медицинской отрасли, получившей название имплантология. Одной из основных ее проблем является создание моделей для тестирования новых материалов с возможностью экстраполирования на клинические ситуации у человека. Для создания и изучения таких моделей одним из ключевых и сложных моментов является обоснование выбора объекта исследования, обладающего определенными свойствами. *Цель исследования.* Анализ литературных данных по сравнительным характеристикам экспериментальных моделей для исследования металлических имплантатов в условиях in vitro и на различных животных с учетом технических, анатомических особенностей, этических аспектов и адекватности получаемых данных для клинических ситуаций. *Материалы и методы.* Использовались современные литературные данные для сравнения степеней сходства костей некоторых млекопитающих с костями человека по показателям микро- и макроструктуры, составу и ремоделированию. *Результаты.* Среди различных животных, используемых в биомедицинских исследованиях, сопоставимыми с клиническими ситуациями у человека по данным большинства авторов являются модели на собаках, биологические особенности костей у которых являются сопоставимыми с таковыми у человека. Однако целесообразно использование и других широко применяемых в экспериментах животных, таких как кролики, когда выполняются исследования скринингового характера. *Заключение.* Установлено, что собаки в наибольшей степени соответствуют ключевым характеристикам подходящей модели. Использование других животных, таких как кролики имеет ряд препятствий как технического и так и этического характера, поэтому их использование целесообразно только в скрининговых целях перед тестированием имплантатов на других животных.

Ключевые слова: модели на животных; биоматериалы; остеоинтеграция; имплантаты

Информация для цитирования: Должиков А.А., Должикова И.Н. Выбор экспериментальной модели в биомедицинских исследованиях имплантатов. Обзор литературы // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 17-32. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-2

A.A. Dolzhikov,
I.N. Dolzhikova

THE PROBLEM OF EXPERIMENTAL MODEL CHOICE IN BIOMEDICAL RESEARCHES OF IMPLANTS. A REVIEW OF LITERATURE

Belgorod State National Research University,
85 Pobedy St., Belgorod, Russia, 308015
E-mail: dolzhikov@bsu.edu.ru

Abstract. *Background*. Biomedical researches and improvement of methods for medical materials manufacturing with certain properties *and their pharmacological support* caused the integration of achievements in materials science and medicine and the emergence of a new medical industry, called implantology. One of its main problems is the creation of models for testing new materials with the possibility of extrapolating to clinical situations in humans. To create and study such models, one of the key and difficult moments is the justification of the choice of an object of research possessing certain properties. *The aim of the study.* Analysis of literature data on the comparative characteristics of experimental models for the investigation of metal implants in vitro and on different animals, taking into account technical, anatomical features, ethical aspects and adequacy of the data obtained for clinical situations. *Materials and methods.* Modern literature data were used to compare the similarities between the bones of some mammals and human bones in terms of micro- and macrostructure indicators, composition and remodeling. *Results.* Among the various animals used in biomedical research, comparable to clinical situations in humans according to the data of the majority of authors are models on dogs whose biological features of bones are comparable to those in humans. However, it is advisable to use other animals widely used in experiments, such as rabbits, when screening studies are performed. *Conclusion.* It was found that dogs are most consistent with the key characteristics of a suitable model. The use of other animals such as rabbits has a number of obstacles, both technical and ethical, and therefore their use is advisable only for screening purposes before testing implants in other animals.

Key words: animal-models; biomaterials; osseointegration; implants
Information for citation: Dolzhikov AA, Dolzhikova IN. Vybor eksperimentalnoy modeli v biomeditsinskikh issledovaniyakh implantatov. Obzor literatury [The problem of experimental model choice in biomedical researches of implants. A review of literature]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):17-32. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-2

Введение. Развитие методов получения материалов медицинского назначения с заданными свойствами, с одной стороны, и активное изучение биологических и медицинских вопросов, связанных с их внедрением в живые ткани [6, 7] – с другой, привели к появлению новой медико-биологической отрасли, получившей название имплантология, приоритетность которой в наибольшей степени связана со стоматологией [8]. Кроме этого, успехи достигнуты в применении имплантатов в других областях медицины: челюстно-лицевой хирургии [9], ринологии [2], травматологии и ортопедии [3, 5]. При разработке новых материалов для медицинских имплантатов и их биологического тестирования основной остается проблема выбора адекватной модели, которая позволил а бы получить данные экстраполируемые на клинические ситуации. Обзору имеющихся литературных сведений по этой проблеме посвящен данный обзор.

Основная часть. В результате многочисленных исследований, проведенных разными авторами по широкому спектру проблем, относящихся к травматологии и ортопедии, стоматологии, общим вопросам материаловедения и имплантологии, к настоящему времени сформированы достаточно четкие представления о критериях выбора имплантационного материала, ряд стандартов проведения доклинических исследований на различных моделях. Shmidt et al. [58] определяют лучший материал для костной имплантации как имеющий биосовместимый химический состав, высокую коррозионную устойчивость в физиологических средах, приемлемую прочность, высокую резистентность к износу и близкий к кости модуль эластичности для минимизации резорбции ее вокруг имплантата. Свойства, относящиеся к сохранности имплантатов, такие как предотвращение патологических тканевых реакций и высокая устойчивость к износу и коррозии имеют высокую клиническую значимость для имплантатов, используемых в долговременных клинических ситуациях как в медицине, так и в ветеринарии.

In vitro тестирование распространено в исследованиях материалов, контактирующих с костью, особенно как путь уменьшения количества используемых животных. Признано, что in vitro тестирование следует использовать как первый этап оценки острой цитотоксичности и клеточной совместимости во избежание неоправданного использования животных при тестировании цитологически неподходящих материалов. Термин биосовместимость часто некорректно используется при in vitro исследованиях, так как он может быть использован только при исследованиях на животных и людях (in vivo), а для vitro тестов правилен термин цитосовместимость [56].

In vitro тестирование дает информацию относительно цитотоксичности, генотоксичности, клеточной пролиферации и дифференцировке [29, 47] проще стандартизируется и оценивается количественно, чем in vivo тестирование [47]. In vitro исследования полезны также при определении качества материала и потенциально опасных дополнительных компонентов в процессе его изготовления [42]. Однако in vitro оценка не способна продемонстрировать тканевые реакции на материал.

Кроме этого, цитотоксичность из-за присутствия ионов металлов варьирует в зависимости от клеточных линий и числа пассажей [69]. In vitro тесты могут также переоценивать уровень токсичности материала и поэтому лимитированы острыми исследованиями из-за относительно короткой продолжительности жизни клеточных культур [51].

In vitro тканевые культуры сохраняют фрагменты ткани, но не сохраняют необходимой тканевой архитектуры. In vitro органная культура поддерживает ткань или орган (частично или полностью), что может допускать определенную степень дифференцировки и функционирования. Но отсутствуют системные факторы, ограничены снабжение нутриентами и кислородом, удаление метаболитов. Поэтому экстраполирование результатов на in vivo ситуации ограничено. В условиях in vitro клетки могут повреждаться из-за фенотипических сдвигов вследствие диссоциации трехмерной организации и и/или роста на двумерной поверхности. Динамические свойства клеточной культуры сложно контролируемы, также сложно воссоздать соответствующие in vivo межклеточные взаимодействия. Одним из основных ограничений для костных культур является отсутствие контролируемых физиологических нагрузок, поскольку при их отсутствии в костной ткани нарастают явления резорбции, как это наблюдается у длительно обездвиженных пациентов [58]. Клеточные культуральные системы не способны воспроизвести нагрузки, симулирующие in vivo ситуацию, и в настоящее время очень мало ex vivo систем, способных обеспечить такие нагрузки (обычно только при малых тканевых образцах) [21]. В связи с этим модели на животных необходимы для исследования биосовместимости, тканевых реакций и механических функций ортопедического или дентального материала перед клиническим использованием.

В моделях на животных возможно исследование реакции тканей не только в непосредственной близости к имплантату, но и в отдалении, что не менее важно в связи с возможностью распространения частиц материала вследствие его износа. У пациентов распространение таких частиц выявлено в печень и селезенку [65].

Первым фактором, учитываемым при моделировании имплантации, является дизайн имплантатов. Наиболее часто используются винтообразные или цилиндрические (в форме палочки/стержня), реже конусовидные, диски, пластинки и неправильной формы. Безотносительно к дизайну имплантаты должны иметь размер, подходящий для выбранных животных и места внутрикостной имплантации. Винтообразные имплантаты имеют преимущество в виде хорошей начальной фиксации, тогда как цилиндрические имплантаты зависимы от точной установки, чтобы быть стабильными и давать точные результаты относительно их остеоинтеграции [8]. Однако анализ палочковидных и цилиндрических имплантатов может быть менее сложным благодаря их более простой геометрии.

Руководства относительно геометрии имплантатов для in vivo исследований основаны на размерах выбранных животных и костей, дизайне имплантатов во избежание патологических переломов в местах имплантации (International Standard ISO 10993-6, 1994). Цилиндрические имплантаты, внедренные в диафиз бедренной или большеберцовой кости у кроликов, не должны быть больше 2 мм в диаметре и 6 мм в длину. Для более крупных животных, таких как овцы, козы и собаки ISO рекомендует размеры цилиндрических имплантатов 4 мм в диаметре и 12 мм длиной при имплантации в бедренную или большеберцовую кость. Порода животных должна учитываться при выборе имплантата, так как например крупные породы овец могут допускать использование имплантатов диаметром до 5 мм для определенных локализаций, таких как большеберцовая кость и плюсна [31]. Крайне важно включение в дизайн исследования контрольных материалов, которыми должны быть уже используемые в клинике (International Standard ISO 10993-6, 1994).

Следующим вопросом является выбор материала исследования.

Kirkpatrick et al. [34] выделяют три типа исследований, акцентированных на факторах, влияющих на биологические реакции на имплантированный в кость материал. Они включают исследования эксплантированных материалов, in vitro исследования и модели на животных. Привлекательными чертами моделей на животных являются возможность демонстрации сходства с человеком с тоски зрения как физиологических, так и патологических характеристик, а также возможность наблюдать многих индивидов в течение относительно небольшого времени [15,31,48].

При выборе экспериментальных животных должен учитываться целый ряд факторов. Прежде всего, должна быть четко определена задача исследования перед выбором вида животных. По мнению Schimandle and Boden [57] факторы выбора животных включают: стоимость приобретения и ухода, доступность, приспособляемость в группе, толерантность к содержанию в неволе и простота содержания. Защита и содержание животных обычно определяются государственным актом о защите животных и могут несколько отличаться между странами. Акты о защите животных регламентируют минимальные требования в отношении помещений, освещения, подстилки и так далее. Специфические свойства зависят от вида животных. Другие факторы включают эксплуатационные расходы, степень непринужденности содержания, резистентность к инфекциям и заболеваниям, однородность животных, сходство с биологическими характеристиками человека, переносимость хирургических вмешательств, достаточность оборудования и вспомогательных сотрудников, наличие базы данных с биологической информацией, относящейся к видам животных. В дополнение к этому, продолжительность жизни выбранного вида животных должна быть подходящей для длительности исследования. [48; (International Standard ISO 10993-6, 1994].

Hazzard et al. [30] комментируют, что в пределах исследования одиночная модель не будет подходящей для всех целей. Предпочтительнее несколько моделей для получения широкого спектра данных.

Международные стандарты, установленные относительно животных, подходящих для тестирования имплантатов в кости, определяют, что таковыми являются собаки, овцы, козы, кролики и свиньи. Как минимум 4 кролика и как минимум два из каждых других названных животных должны использоваться для каждого способа в каждый период, хотя должен быть выполнен точный подсчет степени сложности эксперимента. Долговременные периоды имплантации для этих видов даны как 12, 26, 52 и 78 недель и при определенных условиях (за исключением кроликов) 104 недели (International Standard ISO 10993-6, 1994). Хотя крысы являются наиболее часто используемыми в медицинских экспериментах животными, они не подходят для исследований с симультанным внедрением нескольких имплантатов из-за существенных отличий структуры костей от человеческих и из-за их размеров.

Наиболее часто используемыми животными являются собаки. В своем обзоре Neyt et al. [49] указывают, что собаки и кошки использовались в 11% исследований опорно-двигательного аппарата в период между 1991 и 1995 годами. Это подтверждают Martini et al.[42], сообщая, что между 1970 и 2001 годами 9% ортопедических исследований использовали собак. Помимо вопросов, связанных с обеспечением послеоперационного периода и известными этическими проблемами при использовании животных в медико-биологических экспериментах, скорее более существенны биологические особенности костей, определяющие допустимость экстраполяции полученных данных на человека.

Wang et al. [68] исследовали отличия в сращении переломов у телят, бабуинов, кроликов и собак и корреляции композиционных и микроструктурных свойств с этими отличиями. Кость взрослого человека имеет вторичную остеонную структуру (остеоны больше 100μm в диаметре, содержащие кровеносные сосуды и имеющие цементирующие линии между соседними пластинками), а кости у собак имеют смешанную микроструктуру с преобладанием остеонного типа в центре кортикальной кости и плексиформной кости вблизи к периосту и эндосту. Данный тип кости обнаруживается у крупных быстро растущих животных и иногда у детей в период быстрого роста. Он образуется быстрее, чем вторичная остеонная структура, но обеспечивает большую механическую опору, чем грубоволокнистая кость. Структура имеет вид кирпичной кладки с сосудистыми сплетениями в пластинчатой костной ткани. Авторы также выявили, что не смотря на сходство органной структуры кости у собак имеют большую минеральную плотность.

Ранние находки Kuhn et al. [36] показывают, что при том, что трабекулярная кость дистальной части бедренной кости человека и собак качественно сходны в отношении физических свойств, кость у собак обладает большей компрессионной прочностью.

Aerssens et al. [11]исследовали отличия состава, плотности и качества костей у разных видов (человек, собаки, овцы, свиньи, коровы и цыплята). Обнаружено, что имеется наибольшее сходство в составе костей (сухой вес, содержание гидроксипролина, экстрагируемых протеинов и IGF-1) между собаками и человеком. По плотности костей собаки и свиньи наиболее близки к человеку. В итоге авторы пришли к заключению, что по тестированным характеристикам костей к человеку наиболее близки собаки. Эти результаты также подтверждены данными Gong et al. [28], согласно которым человеческие и собачьи кортикальная и губчатая кости сходны по показателям водной фракции, лабильной неорганической фракции и сухого остатка.

Другим отличием между костями человека и собак, которое может быть важным при оценке эффектов модификаций имплантатов является скорость ремоделирования. Это важный фактор, так как ассоциированные с имплантатом изменения, выявленные у собак, могут быть недоказательны для экстраполяции на человека, где скорость ремоделирования ниже [14,15]. При наличии структурного сходства в обновлении трабекулярной кости у собак и людей [24], данные литературы недостаточны для точного межвидового сопоставления обновления костной ткани, которое зависит еще и от анатомической локализации. Например, обновление костной ткани в телах позвонков у молодых гончих самок составляет почти 200 %. В таранной кости обновление равно 12% в год. Среднее обновление трабекулярной кости всего скелета подсчитано как 100% [24]. Кроме этого, имеются значимые межиндивидуальные отличия. Например, обновление кости у собак названной породы по данным биопсии подвздошных костей варьирует от 16 до более чем 300% в год [24]. Ремоделирование всей костной массы у человека дается как 5-15%, с варьированием от 10-15% до 40-55% в год [26, 33].

Относительно кортикальной кости также продемонстрированы отличия в скорости обновления в зависимости от локализации. Обновление кортикальной кости ребер у собак названной выше породы составляет примерно 18%, тогда как в средней части диафизов длинных костей оно меньше 1% [52]. Кроме этих отличий в зависимости от локализации скорость обновления зависит от возраста животных [32], который также влияет на реакцию на имплантационный материал. Magee et al. [41] продемонстрировали, что у молодых борзых наблюдается значительно более прочный контакт кости и имплантата, чем у старших животных, что по мнению авторов обусловлено возрастным снижением способности кости к обновлению.

При том, что использование собак преобладает в ортопедических исследованиях, в течение последних десятилетий увеличивается использование овец/баранов. В период с 1990 по 2001год они использовались в 9-12% ортопедических исследований, вовлекающих переломы, остеопороз, удлинение костей и остеоартроз, в сравнении с немногим более 5% в период 1980-1989 годов [42]. Это увеличение может быть обусловлено этическими вопросами и негативным публичным отношением к использованию домашних животных в медицинских исследованиях.

В большинстве литературных источников указывается, что по биологическим характеристикам модели на собаках лучше, чем на овцах. Однако, овцы/бараны имеют преимущества в связи с большим соответствием человеку по массе тела и наличием длинных костей с объемными параметрами пригодными для внедрения имплантатов, используемых в клинике [46], что невозможно на мелких животных, таких как кролики и мелкие породы собак.

В то время как макроскопически кости у овец/баранов могут близко соответствовать костям человека, гистологическая структура заметно отличается. Она имеет первичный тип с остеонами диаметром меньше 100μm, содержащими не менее двух центральных кровеносных сосудов и не имеющими цементных линий в отличие от вторичной остеонной структуры у человека [25]. Описаны возрастные изменения структуры костей, при которых овцы возрастом больше 3-4 лет имеют плексиформную структуру костей, представляющую комбинацию грубоволокнистой и пластинчатой кости, с прослойками сосудистых сплетений [39]. Вторичное ремоделирование с образованием гаверсовых систем становится у овец преобладающим с возрастом [31] и было выявлено к 7-9 годам [39]. Ремоделирование гаверсовых систем вариабельно в зависимости от типа кости. В дистальной части бедренной кости, диафизах лучевой и плечевой костей этот тип ремоделирования наблюдается раньше других локализаций [39].

Кости человека и овец/баранов отличаются по плотности с более высокими ее показателями у животных и, соответственно, большей прочностью. Nafei et al. [46] приводят значения допустимой плотности (масса/объем, отражающей степень порозности) бараньей трабекулярной кости в проксимальной части большеберцовой кости 0.61g/cm^3 с допустимой сухой плотностью 0.41g/ cm^3 (сухая масса/объем, отражающая степень минерализации). Эти показатели выше, чем у трабекулярных структур бедренной кости человека, у которой они составляют 0.43g/cm^3 и 0.26g/cm^3 соответственно. Другими словами, плотность трабекулярных структур бедренной кости у баранов в 1,5-2 раза больше, чем у человека [31]. Однако отличия могут меняться в зависимости от локализации. Например, этот же автор [31] сообщил, что допустимая плотность трабекулярной кости у баранов составляет 60+0.16g/ cm^3 – в противоположность телам позвонков у человека, в которых она составляет 0.14+0.06g/cm^3. В указанных исследованиях не приведены данные о зависимости от возраста. Тем не менее, можно сделать вывод о большей плотности трабекулярной кости у овец/баранов, чем у человека.

В отношении минерального состава Ravaglioli *et al*. [55] выполнили исследование костей людей, крупного рогатого скота, овец и собак. Находки в этом исследовании позволяют заключить, что кроме ранних стадий физиологического роста, который сопровождается частичным замещением Mg^{2+} или Ca^{2+} на трикальций-магний фосфат, минеральный состав у человека и животных не имеет значительных отличий.

При том, что обнаружены отличия в структуре костей, немало исследований утверждают, что овцы/бараны являются полезной моделью для изучения обновления и ремоделирования костей [10, 14]. В поддержку этого мнения при исследовании врастания кости в пористые имплантаты в дистальной части бедренной кости (веснесущая модель) выявлено, что животные и человек имеют сходный тип врастания кости в пористые имплантаты с течением времени. Хотя у овец выявлен больший объем врастания кости, чем у человека, предполагается, что это является следствием большего объема губчатой кости в дистальной части бедренной кости у овец, чем у человека [60]. Turner и Villanueva [64] нашли, что измерения объема кости, остеоида и минеральный состав у 9-10-летних овец сопоставимы с таковыми у мужчин и постменопаузальных женщин в 6-7 декадах жизни, предполагая, что стареющие бараны могут создавать подходящие модели для человеческих остеопенических и порозных костей.

Также как у людей и собак [10, 33] состав и обновление костей зависят от локализации и у баранов.

Установлена значительная роль возраста в ремоделировании кости [46]. Трабекулярная кость у баранов с незрелым скелетом слабее, менее жесткая, более деформируемая до наступления перелома, имеет большие возможности сдерживания воздействий, содержит больше коллагена и более порозная, чем у скелетно зрелых баранов. Поэтому необходимо соблюдение возрастной однородности животных в пределах исследования и учет того, что возрастные изменения могут затруднить сопоставления данных.

При том, что козы явились животными выбора в 8.2% работ, опубликованных в ортопедических журналах, их преобладание имеется в исследованиях регенерации хрящей, менисков и связок [12]. Подобно баранам козы являются источником пищевых продуктов и за счет этого имеют преимущество в менее критическом общественном восприятии при использовании в экспериментах в сравнении с такими домашними животными, как собаки. В сравнении с баранами козы имеют более контактный характер, что создает условия для длительных исследований [39].

Козы имеют размер тела пригодный для симультанной имплантации или крупных человеческих имплантатов и протезов [4, 57] пластинчатой кости, представленной организованными в матриксе пучками коллагеновых волокон и не имеющей центральных кровеносных сосудов.

В статье Liebschner [40], обсуждающей биомеханические аспекты моделей на животных, указывается, что не смотря на небольшие отличия плотности костей коз и человека они не настолько значительны, как отличия между анатомическими областями.

В литературе сообщается, что козы являются подходящей моделью для тестирования человеческих имплантатов, поскольку они считаются имеющими уровень метаболизма и ремоделирования костей сходный с таковыми у человека [13, 20, 59]. Данные авторы поддерживают использование коз для исследований, относящихся к репарации костей благодаря репаративному потенциалу и кровоснабжению большеберцовой кости у них сопоставимыми с таковыми у человека.

В исследовании костных трансплантатов при контролируемых нагрузках у коз и людей Lamerigts *et al*. [38] нашли, что козы являются подходящей моделью для исследования костных трансплантатов, поскольку последовательность событий сходна с таковой у человека. Однако скорость реваскуляризации и конверсии в полноценную трабекулярную кость выше у коз, происходя к трем месяцам в сравнении с 8 месяцами у человека.

В литературе мало информации о сопоставлении использования коз и овец в имплантационных исследованиях. Поэтому выбор вида животного вероятнее больше зависит от доступности и других факторов.

Свиньи характеризуются как материал выбора в различных исследованиях, включая некроз головки бедренной кости, переломы хрящей и костей, врастание кости, исследования дентальных имплантатов [12, 16, 60]. Коммерческие породы свиней в общем считаются нежелательными для ортопедических исследований из-за их быстрого роста и большой финальной массы. Однако, выведение миниатюрных и минисвиней в определенной степени устраняет эту проблему. Тем не менее, свиньи часто считаются сложными для содержания, шумными и агрессивными и поэтому уступают в пригодности для экспериментов таким животным как бараны и козы [46, 61].

В отношении анатомии костей, их тонкой структуры, репарации и ремоделирования свиньи считаются почти репрезентативными для костей человека и поэтому подходящим видом выбора [62]. Найдено сходство в диаметре и площади поперечных разрезов бедренной кости [53]. Однако у свиней более плотная структура костных трабекул [36]. Микроструктура костей у свиней описывается как пластинчатая, что соответствует таковой у человека [45].

При сравнении состава костей у разных видов Aerssens et al. [10] обнаружили, что при близости костей собак к человеческим свиные также имеют сходство в минеральной плотности и концентрации неорганических веществ.

В литературе свиньи характеризуются как имеющие процессы ремоделирования кости сходные с происходящими у человека как в губчатых, так и кортикальных структурах [35, 36]. Laiblin and Jaeschke [37] сравнили регенерацию костной ткани у собак, свиней и человека и нашли, что свиньи имеют более близкую к человеку скорость регенерации (у собак 1.5- 2.0 мм/в день; у свиней 1.2-1.5 мм; у человека 1.0-1.5 мм). Кроме этого, в исследовании влияния фторидов на ремоделирование кортикальной кости у растущих свиней установлено, что скорость минерализации у контрольных животных сходна с наблюдаемой у человека [35].

Кролики являются одними из наиболее распространенных в медицинских экспериментах животных, и используются примерно в 35% исследований опорно-двигательного аппарата [49]. В определенной степени это связано с простотой содержания животных и их размерами. Кролики также удобны тем, что опорно-двигательный аппарат у них достигает зрелости вскоре после наступления половозрелости в возрасте около 6 месяцев [18]. Но с другой стороны, размер животных ограничивает эксперименты с внедрением множественных имплантатов.

Международный стандарт биологических исследований медицинских устройств рекомендует максимум 6 имплантатов (3 тестовых и 3 контрольных) у одного кролика (International Standard ISO 10993-6, 1994). Это половина максимального количества имплантатов, рекомендуемых для баранов, собак, коз и свиней. Также ограничен и размер имплантатов Цилиндрические имплантаты должны быть больше 2 мм в диаметре и 6 мм в длину, что также составляет половину размеров возможных для других упомянутых более крупных животных (International Standard ISO 10993-6, 1994). Несмотря на это, кролики остаются популярным материалом для исследования имплантатов в костях.

Очевидно наличие отличий анатомии костей между кроликами и человеком, различий в нагрузке из-за разных поз.

Гистологически кроличьи длинные кости имеют существенно отличающуюся от человеческих структуру[68]. В отличие от вторичной остеонной структуры у человека кроличьи кости имеют первичную сосудистую продольную тканевую структуру, представляющую сосуды остеонов, расположенные параллельно продольной оси кости вокруг костномозговой полости и субпериостально. Ткань между этими слоями представлена плотно расположенными остеонными структурами [43]. Максимальный средний диаметр остеонов по данным этих авторов 223.79+47.69 мкм, минимальный 50.79+9.71 мкм.

При малом объеме литературных данных относительно сравнений состава и плотности костей кроликов и человека, описаны некоторые сходства в минеральной плотности и следовательно в устойчивости к переломам средней части диафизов [68].

В сравнении с другими видами, такими как приматы и некоторые грызуны, кролики имеют большую скорость обновления костной ткани [18, 48, 27]. Это может затруднять экстраполяцию результатов у кроликов на клинические ситуации у человека. Однако кролики широко используются для скрининга имплантационных материалов до их испытания на более крупных животных.

Из приведенных данных видно, что каждый вид животных обладает как преимуществами, так и недостатками, баланс между которыми при выборе подходящей модели складывается из доступности и стоимости животных, особенностей их поведения и содержания и ключевыми биологическими характеристиками, такими как анатомическая пригодность, степень соответствия микроструктуры, химического состава, потенциала физиологической и репаративной регенерации таковым у человека. При том, что обезьяны часто считаются наиболее подходящей моделью для человеческих костей [64, 68], имеются известные этические препятствия для их использования в экспериментах, также как стоимость, риск зоонозов и сложность содержания. Сравнение описанных характеристик костей используемых экспериментальных животных приведены в таблице.

Таблица

Сравнение характеристик костей различных млекопитающих

Table

The comparison of bone characteristics of different mammals

Показатель	Собаки	Бараны/козы	Свиньи	Кролики
Макроструктура	++	+++	++	+
Микроструктура	++	+	++	+
Состав костей	+++	++	+++	++
Ремоделирование	++	++	+++	+

\+ меньше сходства, ++ среднее сходство, +++ наибольшее сходство

Заключение. Литературные данные позволяют заключить, что собаки в наибольшей степени соответствуют ключевым характеристикам подходящей модели. Однако использование других животных, таких как кролики, целесообразно в скрининговых целях перед тестированием имплантатов на других животных, использование которых имеет препятствия как технического и этического характера, так и вследствие их биологических характеристик.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Григорьян А.С., Топоркова А.К. Проблемы интеграции имплантатов в костную ткань // Техносфера. 2007. 128 с.

2. Епишев В.В., Петрова Л.Л., Аладдин А.С., Смирнов В.А., Сулацкая Е.Ю., Эрлих В.В., Важенин А.В. Опыт применения индивидуальных титановых имплантатов для восстановления анатомической структуры носа // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2016. N 18(3). С. 107-114.

3. Казьмин А.И. Хирургическое лечение дегенеративных заболеваний пояснично-крестцового отдела позвоночника с применением стержней из нитинола: дис. канд. мед. наук. М., 2016. 145 с.

4. Кулаков А. А., Григорьян А. С. Проблема интеграции в дентальной имплантологии // Журнал Стоматология. 2007. N 3. С. 5-7.

5. Панов А. Хирургическое лечение разрывов ахиллова сухожилия с использованием сверхэластичных имплантатов из никелида титана (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. канд.мед.наук. Кемерово. 2009. 22 с.

6. Павлова Л.А., Павлова Т.В., Нестеров А.В., Колесников Д.А., Гончаров И.Ю., Жерновой М.Г. Морфологический анализ костного дефекта при использовании импланта титана, обработанного пескоструйным методом с раз личными композитными покрытиями в динамике первого месяца регенерации // Научные ведомости Белгородского государственного университета. 2010. N 4(75). С. 58-63.

7. Павлова Л.А., Павлова Т.В., Нестеров А.В., Жерновой М.Г. Морфогенез костной ткани при применении наноимплантов // Матер. IV всероссийского съезда патологоанатомов. Белгород. 2013. С. 204-205.

8. Параскевич В.Л. Дентальная имплантология: Основы теории и практики. Минск: Юнипресс, 2002. 368 с.

9. Юшков М.Ю. Хирургия дефектов неба с использованием материалов с памятью формы: автореф. дис. канд. мед. наук. Иркутск. 2008. 23 с.

10. Aerssens J., Boonen S., Joly J., Dequeker J. Variations in trabecular bone composition with anatomical site and age: potential implications for bone quality assessment // J Endocrinology. 1997. N 155. P. 411-421.

11. Aerssens J., Boonen S., Lowet G., Dequeker J. Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research // J Endocrinology. 1998. N 139. P. 663-670.

12. An Y.H., Friedman R.J., editors. Animal selections in orthopaedic research. In: Animal Models in Orthopaedic Research. CRC Press LLC, Boca Raton, FL. 1999. P. 39-57.

13. Anderson M.L., Dhert W.J., de Bruijn J.D., Dalmeijer R.A., Leenders H., van Blitterswijk C.A., Verbout A.J. Critical size defect in the goat's os ilium. A model to evaluate bone grafts and sub-

stitutes // Clin Orthop Relat Res. 1999. N 364. P. 231-239.

14. Bloebaum R.D., Merrell M., Gustke K., Simmons M. Retrieval analysis of a hydroxyapatite-coated hip prosthesis // Clin Orthop Relat Res. 1991. N 267. P. 97-102.

15. Bloebaum R.D., Ota D.T., Skedros J.G., Mantas J.P. Comparison of human and canine external femoral morphologies in the context of total hip replacement // J Biomed Mater Res. 1993. N 27. P. 1149-1159.

16. Buser D., Schenk R.K., Steinemann S., Fiorellini J.P., Fox C.H., Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs // J Biomed Mater Res. 1991. N 25. P. 889-902.

17. Carlsson L., Rostlund T., Albrektsson B., Albrektsson T. Implant fixation improved by close fit. Cylindrical implant-bone interface studied in rabbits // Acta Orthop Scand. 1998. N 59. P. 272-275.

18. Castaneda S., Largo R., Calvo E., Rodriguez-Salvanes F., Marcos M.E., Diaz-Curiel M., Herrero-Beaumont G. Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits // Skeletal Radiol. 2006. N 35. P. 34-41.

19. Chavassieux P., Pastoureau P., Boivin G., Charhon S., Chapuy M., Delmas P., Meunier P. Effects of sodium fluoride on bone remodeling in ewes. J Bone Miner Res. 1987. Vol. 2(Suppl 1). P. 359.

20. Dai K.R., Xu X.L., Tang T.T., Zhu Z.A., Yu C.F., Lou J.R., Zhang X.L. Repairing of goat tibial bone defects with BMP-2 gene-modified tissue-engineered bone. Calcif Tissue Int. 2005. N 77. P. 55-61.

21. Davies C.M., Jones D.B., Stoddart M.J., Koller K., Smith E., Archer C.W., Richards R.G. Mechanically loaded ex vivo bone culture system 'Zetos': systems and culture preparation. Eur Cell Mater. 2006. N 11. P. 57-75.

22. DeKleer V. Development of bone. Bone in Clinical Orthopaedics, (Sumner-Smith G, ed) W.B., Saunders Co, Philadelphia, PA. 2006. P. 1-80.

23. Den Boer F.C., Patka P., Bakker F.C., Wippermann B.W., van Lingen A., Vink G.Q., Boshuizen K., Haarman H.J. New segmental long bone defect model in sheep: quantitative analysis of healing with dual energy x-ray absorptiometry. J Orthop Res. 1999. N 17. P. 654-660.

24. Egermann M., Goldhahn J., Schneider E.. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. Osteoporos Int. 2005. Vol. 16 (Suppl 2). 129-138.

25. Eitel F., Klapp F., Jacobson W., Schweiberer L. Bone regeneration in animals and in man. A contribution to understanding the relative value of animal experiments to human pathophysiology. Arch Orthop Trauma Surg. 1981. N 99. P. 59-64.

26. Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil I., Alobera-Gracia M.A., del Canto Pingarron M., Jerez L.B. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2006. N 11. P. 47-51.

27. Gilsanz V., Roe T.F., Gibbens D.T., Schulz E.E., Carlson M.E., Gonzalez O., Boechat M.I. Effect of sex steroids on peak bone density of growing rabbits. Am J Physiol. 1988. N 255. P. 416-421.

28. Gong J.K., Arnold J.S., Cohn S.H. Composition of trabecular and cortical bone. Anat Rec. 1964. N 149. P. 325-332.

29. Hanks C.T., Wataha J.C., Sun Z. In vitro models of biocompatibility: a review. Dent Mater. 1996. N 12. P. 186-193.

30. Hazzard D.G., Bronson R.T., McClearn G.E., Strong R. Selection of an appropriate animal model to study aging processes with special emphasis on the use of strains. J Gerontol. 1992. N 47. P. 63-64.

31. Huffer W.E., Benedict J.J., Turner A.S., Briest A., Rettenmaier R. Repair of sheep long bone cortical defects with Colloss®, Colloss E®, Ossaplast®, Ortho and iliac crest autograft. Proc 52nd Orthop Res Soc, Chicago II (Abstr.), 2006. 890.

32. Jee W.S., Bartley M.J., Cooper R., Dockum N. The beagle as an experimental dog. Ames: Iowa State University Press. 1970. P. 162-188.

33. Kimmel D.B., Jee W.S. A quantitative histologic study of bone turnover in young adult beagles. Anat Rec. 1982. N 203. P. 31-45.

34. Kirkpatrick C.J., Krump-Konvalinkova V., Unger R.E., Bittinger F., Otto M., Peters K. Tissue response and biomaterial integration: the efficacy of in vitro methods. Biomol Eng. 2002. N 19. P. 211-217.

35.Kragstrup J., Richards A., Fejerskov O. Effects of fluoride on cortical bone remodeling in the growing domestic pig. Bone. 1989. N 10. P. 421-424.

36. Kuhn J.L., Goldstein S.A., Ciarelli M.J., Matthews L.S. The limitations of canine trabecular bone as a model for human: a biomechanical study. J Biomech. 1989. N. 22. P. 95-107.

37. Laiblin C., Jaeschke G. Klinisch-chemische Untersuchungen des Knochen- und Muskelstoffwechsels unter Belastung bein Göttinger Miniaturschwein – eine experimentelle Studie (Clinical-chemical investigations of the metabolism of bone and muscle under stress in the Göttiningen miniature pig – an experimental study). Berl Münch Tierärztl Wschr. 1979. N 92. P. 124.

38. Lamerigts N.M., Buma P., Huiskes R., Schreurs W., Gardeniers J., Slooff T.J. Incorporation of morsellized bone graft under controlled loading conditions. A new animal model in the goat. Biomaterials. 2000. N 21. P. 741-747.

39. Leung K.S., Siu W.S., Cheung N.M., Lui P.Y., Chow D.H., James A., Qin L. Goats as an osteopenic animal model. J Bone Miner Res. 2001. N 16. P. 2348-2355.

40. Liebschner M.A. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. Biomaterials. 2004. N 25. P. 1697-1714.

41. Magee F.P., Longo J.A., Hedley A.K. The effect of age on the interface strength between porous coated implants and bone. Trans Orthopaed Res Soc. 1989. N 14. P. 575.

42. Martini L., Fini M., Giavaresi G., Giardino R. Sheep model in orthopedic research: a literature review. Comp Med. 2001. N 51. P. 292-299.

43. Martiniakova M., Omelka R., Chrenek P., Ryban L., Parkanyi V., Grosskopf B., Vondrakova M., Bauerova M. Changes of femoral bone tissue microstructure in transgenic rabbits. Folia Biol (Praha). 2005. N 51. P. 140-144.

44. Mosekilde L., Kragstrup J., Richards A.Compressive strength, ash weight, and volume of vertebral trabecular bone in experimental fluorosis in pigs. Calcif Tissue Int. 1987. N 40. P. 318-322.

45. Mosekilde L., Weisbrode SE., Safron J.A., Stills H.F., Jankowsky M.L., Ebert D.C., Danielsen C.C., Sogaard C.H., Franks A.F., Stevens M.L., Paddock C.L., Boyce R.W. Calcium-restricted ovariectomized Sinclair S-1 minipigs: an animal model of osteopenia and trabecular plate perforation. Bone. 1993. N 14. P. 379-382.

46. Nafei A., Danielsen C.C., Linde F., Hvid I. Properties of growing trabecular ovine bone. Part I: Mechanical and physical properties. J Bone Joint Surg Br. 2004. N 82. P. 910-920.

47. Nahid M., Bottenberg P. L'intérêt des cultures cellulaires dans la recherche de matériaux dentaires biocompatibles. (Importance of cell cultures in biocompatible dental materials research). Rev Belge Med Dent. 2003. N 58. P. 189-196.

48. Newman E, Turner A.S., Wark J.D. The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models. Bone. 1995. N 16. P. 277-284.

49. Neyt J.G., Buckwalter J.A., Carroll N.C. Use of animal models in musculoskeletal research. Iowa Orthop J. 1998. N 18. P. 118-123.

50. Pastoureau P, Arlot M., Caulin F., Barlet J., Meunier P., Delmas P. Effects of oophorectomy on biochemical and histological indices of bone turnover in ewes. J Bone Miner Res. 1989. N 4. P. 237.

51. Pizzoferrato A., Ciapetti G., Stea S., Cenni E., Arciola C.R., Granchi D., Savarino L. Cell culture methods for testing biocompatibility. Clin Mater. 1994. N 15. P. 173-190.

52. Polig E., Jee W.S. Bone structural parameters, dosimetry, and relative radiation risk in the beagle skeleton, Radiat Res. 1989. N 120. P. 83-101.

53. Qin L., Mak A.T., Cheng C.W., Hung L.K., Chan K.M. Histomorphological study on pattern of fluid movement in cortical bone in goats. Anat Rec. 1999. N 255. P. 380-387.

54. Raab D.M., Crenshaw T.D., Kimmel D.B., Smith E.L. A histomorphometric study of cortical bone activity during increased weight-bearing exercise. J Bone Miner Res. 1991. N 6. P. 741-749.

55. Ravaglioli A., Krajewski A., Celotti G.C., Piancastelli A., Bacchini B., Montanari L., Zama G., Piombi L. Mineral evolution of bone. Biomaterials. 1996. N 17. P. 617-622.

56. Richards R.G., Stiffanic M., Owen G.R., Riehle M., ap Gwynn I., Curtis A.S. Immunogold labelling of fibroblast focal adhesion sites visualised in fixed material using scanning electron microscopy, and living, using internal reflection microscopy. Cell Biol Int. 2001. N 25. P. 1237-1249.

57. Schimandle J.H., Boden S.D. Spine update. The use of animal models to study spinal fusion. Spine. 1994. N 19. P. 1998-2006.

58. Schmidt C., Ignatius A.A., Claes L.E. Proliferation and differentiation parameters of human osteoblasts on titanium and steel surfaces. J Biomed Mater Res. 2001. N 54. P. 209-215.

59. Spaargaren D.H. Metabolic rate and body size: a new view on the ‘surface law’ for basic metabolic rate. Acta Biotheor. 1994. N 42. P. 263-269.

60. Sun C., Huang G., Christensen F.B., Dalstra M., Overgaard S., Bunger C. Mechanical and histological analysis of bone-pedicle screw interface in vivo: titanium versus stainless steel. Chin Med J (Engl). 1999. N 112. P. 456-460.

61. Swindle M.M., Smith A.C., Hepburn B.J. Swine as models in experimental surgery. J Invest Surg. 1988. N 1. P. 65-79.

62. Thorwarth M., Schultze-Mosgau S., Kessler P., Wiltfang J., Schlegel K.A. Bone regeneration in osseous defects using a resorbable nanoparticular hydroxyapatite. J Oral Maxillofac Surg. 2005. N 63. P. 1626-1633.

63. Turner A.S. Animal models of osteoporosis – Necessity and limitations. Eur Cells Mater. 2001. N 1. P. 66-81.

64. Turner A.S., Villanueva A.R. Static and dynamic histomorphometric data in 9- to 11-year old ewes. Poster Session Abstracts. 1993. ACVS. P. 413.

65. Urban R.M., Jacobs J.J., Tomlinson M.J., Gavrilovic J., Black J., Peoc’h M. Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. J Bone Joint Surg Am. 2000. N 82. P. 457-476.

66. van der Donk S., Buma P., Aspenberg P., Schreurs B.W. Similarity of bone ingrowth in rats and goats: a bone chamber study. Comp Med. 2001. N 51. P. 336-340.

67. Vico L., Chappard D., Alexandre C., Palle S., Minaire P., Riffat G., Morukov B., Rakhmanov S. Effects of a 120 day period of bed-rest on bone mass and bone cell activities in man: attempts at countermeasure. Bone Miner. 1987. N 2. P. 383-394.

68. Wang X., Mabrey J.D., Agrawal C.M. An interspecies comparison of bone fracture properties. Biomed Mater Eng. 1998. N 8. P. 1-9.

69. Willie B.M., Bloebaum R.D., Bireley W.R., Bachus K.N., Hofmann A.A. Determining relevance of a weight- bearing ovine model for bone ingrowth assessment. J Biomed Mater Res. 2004. N 69. P. 567-576.

References

1. Grigoryan A, Toporkova A. Problemy integratsii implantatov v kostnuyu tkan [The problems of integrating implants into bone tissue]. Technosphera. 2007:128. Russian.

2. Epishev V, Petrova L, Aladdin A, Smirnov V, Sulacka E, Ehrlich V, Vazhenin A. Opyt primeneniya individual'nykh titanovykh implantatov dlya vosstanovleniya anatomicheskoy struktury nosa [Experience in the use of individual titanium implants to restore the anatomical structure of the nose]. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov. 2016;18(3):107-114. Russian.

3. Kazmin A. Khirurgicheskoye lecheniye degenerativnykh zabolevaniy poyasnichno-kresttsovogo otdela pozvonochnika s primeneniyem sterzhney iz nitinola [Surgical treatment of degenerative diseases of the lumbosacral spine with the use of nitinol rods]. Diss.kand.med.nauk. 2016:145. Russian.

4. Kulakov A, Grigoryan A. Problema integratsii v dental'noy implantologii [The problem of integration in dental implantology]. Zhurnal Stomatologiya. 2007;3:5-7. Russian.

5. Panov A. Khirurgicheskoye lecheniye razryvov akhillova sukhozhiliya s ispol'zovaniyem sverkhelastichnykh implantatov iz nikelida titana (kliniko-eksperimental'noye issledovaniye) [Surgical treatment of ruptures of the Achilles tendon with the use of superelastic titanium nickelide implants (clinico-experimental study)]. Autoref. Diss.kand.med.nauk. 2009:22. Russian.

6. Pavlova L, Pavlova T, Nesterov A, Kolesnikov D, Goncharov I, Zhernovoy M. Morfologicheskiy analiz kostnogo defekta pri ispol'zovanii implanta titana, obrabotannogo peskostruynym metodom s razlichnymi kompozitnymi pokrytiyami v dinamike pervogo mesyatsa regeneratsii [Morphological analysis of the bone defect using a titanium implant treated with a sandblasting method with various composite coatings in the dynamics of the first month of regeneration]. Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo Gosudarstvennogo Universiteta. 2010;4(75):58-63. Russian.

7. Pavlova L, Pavlova T, Nesterov A, Zhernovoy M. Morfogenez kostnoy tkani pri primenenii nanoimplantov [Morphogenesis of bone tissue in the application of nanoimplants]. Mater. IV vserossiyskogo s’yezda patologoanatomov. 2013:204-205. Russian.

8. Paraskevich V. Dental'naya implantologiya: Osnovy teorii i praktiki [Dental Implantology: The Basics of Theory and Practice]. Minsk: Unipress. 2002:368. Russian.

9. Yushkov M. Khirurgiya defektov neba s ispol'zovaniyem materialov s pamyat'yu formy

[Surgery of the palate defects using materials with shape memory]. Autoref. Diss.kand.med.nauk. 2008:23. Russian.

10. Aerssens J, Boonen S, Joly J, Dequeker J. Variations in trabecular bone composition with anatomical site and age: potential implications for bone quality assessment. J Endocrinology. 1997;155:411-421.

11. Aerssens J, Boonen S, Lowet G, Dequeker J. Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research. Endocrinology. 1998;139:663-670.

12. An YH, Friedman RJ. Animal selections in orthopaedic research. In: Animal Models in Orthopaedic Research (An YH, Friedman RJ, eds). CRC Press LLC, Boca Raton, FL. 1999:39-57.

13. Anderson ML, Dhert WJ, de Bruijn JD, Dalmeijer RA, Leenders H, van Blitterswijk CA, Verbout AJ. Critical size defect in the goat's os ilium. A model to evaluate bone grafts and substitutes. Clin Orthop Relat Res. 1999;364:231-239.

14. Bloebaum RD, Merrell M, Gustke K, Simmons M. Retrieval analysis of a hydroxyapatite-coated hip prosthesis. Clin Orthop Relat Res. 1991;267:97-102.

15. Bloebaum RD, Ota DT, Skedros JG, Mantas JP. Comparison of human and canine external femoral morphologies in the context of total hip replacement. J Biomed Mater Res. 1993;27:1149-1159.

16. Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. J Biomed Mater Res. 1991;25:889-902.

17. Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson B, Albrektsson T. Implant fixation improved by close fit. Cylindrical implant-bone interface studied in rabbits. Acta Orthop Scand. 1998;59:272-275.

18. Castaneda S, Largo R, Calvo E, Rodriguez-Salvanes F, Marcos ME, Diaz-Curiel M, Herrero-Beaumont G. Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits. Skeletal Radiol. 2006; 35:34-41.

19. Chavassieux P, Pastoureau P, Boivin G, Charhon S, Chapuy M, Delmas P, Meunier P. Effects of sodium fluoride on bone remodeling in ewes. J Bone Miner Res. 1987;2 Suppl 1:359.

20. Dai KR, Xu XL, Tang TT, Zhu ZA, Yu CF, Lou JR, Zhang XL. Repairing of goat tibial bone defects with BMP-2 gene-modified tissue-engineered bone. Calcif Tissue Int. 2005;77:55-61.

21. Davies CM, Jones DB, Stoddart MJ, Koller K, Smith E, Archer CW, Richards RG. Mechanically loaded *ex vivo* bone culture system 'Zetos': systems and culture preparation. Eur Cell Mater. 2006;11:57-75.

22. DeKleer V. Development of bone. In: Bone in Clinical Orthopaedics, (Sumner-Smith G, ed) W.B. Saunders Co, Philadelphia, PA. 2006:1-80.

23. Den Boer FC, Patka P, Bakker FC, Wippermann BW, van Lingen A, Vink GQ, Boshuizen K, Haarman HJ. New segmental long bone defect model in sheep: quantitative analysis of healing with dual energy x-ray absorptiometry. J Orthop Res. 1999;17:654-660.

24. Egermann M, Goldhahn J, Schneider E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. Osteoporos Int. 2005; 16(Suppl 2): 129-S138.

25. Eitel F, Klapp F, Jacobson W, Schweiberer L. Bone regeneration in animals and in man. A contribution to understanding the relative value of animal experiments to human pathophysiology. Arch Orthop Trauma Surg. 1981;99:59-64.

26. Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil I, Alobera-Gracia MA, del Canto Pingarron M, Jerez LB. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2006;11:47-51.

27. Gilsanz V, Roe TF, Gibbens DT, Schulz EE, Carlson ME, Gonzalez O, Boechat MI. Effect of sex steroids on peak bone density of growing rabbits. Am J Physiol. 1988;255:416-421.

28. Gong JK, Arnold JS, Cohn SH. Composition of trabecular and cortical bone. Anat Rec. 1964;149:325-332.

29. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: a review. Dent Mater. 1996;12:186-193.

rat 30. Hazzard DG, Bronson RT, McClearn GE, Strong R. Selection of an appropriate animal model to study aging processes with special emphasis on the use of strains. J Gerontol. 1992;47:63-64.

31. Huffer WE, Benedict JJ, Turner AS, Briest A, Rettenmaier R. Repair of sheep long bone cortical defects with Colloss®, Colloss E®, Ossaplast®, Ortho and iliac crest autograft. Proc 52nd Orthop Res Soc, Chicago II (Abstr.). 2006:890.

32. Jee WS, Bartley MJ, Cooper R, Dockum N. The beagle as an experimental dog. Ames: Iowa

State University Press. 1970:62-188.

33. Kimmel DB, Jee WS. A quantitative histologic study of bone turnover in young adult beagles. Anat Rec. 1982;203:31-45.

34. Kirkpatrick CJ, Krump-Konvalinkova V, Unger RE, Bittinger F, Otto M, Peters K. Tissue response and biomaterial integration: the efficacy of *in vitro* methods. Biomol Eng. 2002;19:211-217.

35.Kragstrup J., Richards A., Fejerskov O. Effects of fluoride on cortical bone remodeling in the growing domestic pig. Bone. 1989;10:421-424.

36. Kuhn JL, Goldstein SA, Ciarelli MJ, Matthews LS. The limitations of canine trabecular bone as a model for human: a biomechanical study. J Biomech. 1989;22:95-107.

37. Laiblin C, Jaeschke G. Klinisch-chemische Untersuchungen des Knochen- und Muskelstoffwechsels unter Belastung bein Göttinger Miniaturschwein – eine experimentelle Studie (Clinical-chemical investigations of the metabolism of bone and muscle under stress in the Göttiningen miniature pig – an experimental study). Berl Münch Tierärztl Wschr. 1979;92:124.

38. Lamerigts NM, Buma P, Huiskes R, Schreurs W, Gardeniers J, Slooff TJ. Incorporation of morsellized bone graft under controlled loading conditions. A new animal model in the goat. Biomaterials, 2000;21:741-747.

39. Leung KS, Siu WS, Cheung NM, Lui PY, Chow DH, James A, Qin L. Goats as an osteopenic animal model. J Bone Miner Res. 2001;16:2348-2355.

40. Liebschner MA. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. Biomaterials. 2004;25:1697-1714.

41. Magee FP, Longo JA, Hedley AK. The effect of age on the interface strength between porous coated implants and bone. Trans Orthopaed Res Soc. 1989;14:575.

42. Martini L, Fini M, Giavaresi G, Giardino R. Sheep model in orthopedic research: a literature review. Comp Med. 2001;51:292-299.

43. Martiniakova M, Omelka R, Chrenek P, Ryban L, Parkanyi V, Grosskopf B, Vondrakova M, Bauerova M. Changes of femoral bone tissue microstructure in transgenic rabbits. Folia Biol (Praha). 2005;51:140-144.

44. Mosekilde L, Kragstrup J, Richards A. Compressive strength, ash weight, and volume of vertebral trabecular bone in experimental fluorosis in pigs. Calcif Tissue Int. 1987;40:318-322.

45.Mosekilde L, Weisbrode SE, Safron JA, Stills HF, Jankowsky ML, Ebert DC, Danielsen CC, Sogaard CH, Franks AF, Stevens ML, Paddock CL, Boyce RW. Calcium-restricted ovariectomized Sinclair S-1 minipigs: an animal model of osteopenia and trabecular plate perforation. Bone. 1993;14:379-382.

46.Nafei A, Danielsen CC, Linde F, Hvid I. Properties of growing trabecular ovine bone. Part I: Mechanical and physical properties. J Bone Joint Surg Br. 2004;82:910-920.

47. Nahid M, Bottenberg P. L'intérêt des cultures cellulaires dans la recherche de matériaux dentaires biocompatibles. (Importance of cell cultures in biocompatible dental materials research). Rev Belge Med Dent. 2003;58:189-196.

48. Newman E, Turner AS, Wark JD. The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models. Bone. 1995;16:277-284.

49. Neyt JG, Buckwalter JA, Carroll NC. Use of animal models in musculoskeletal research. Iowa Orthop J. 1998;18:118-123.

50. Pastoureau P, Arlot M, Caulin F, Barlet J, Meunier P, Delmas P. Effects of oophorectomy on biochemical and histological indices of bone turnover in ewes. J Bone Miner Res. 1989;4:237.

51. Pizzoferrato A, Ciapetti G, Stea S, Cenni E, Arciola CR, Granchi D, Savarino L. Cell culture methods for testing biocompatibility. Clin Mater. 1994;15:173-190.

52. Polig E, Jee WS. Bone structural parameters, dosimetry, and relative radiation risk in the beagle skeleton. Radiat Res. 1989;120:83-101.

53. Qin L, Mak AT, Cheng CW, Hung LK, Chan KM. Histomorphological study on pattern of fluid movement in cortical bone in goats. Anat Rec. 1999;255:380-387.

54. Raab DM, Crenshaw TD, Kimmel DB, Smith EL. A histomorphometric study of cortical bone activity during increased weight-bearing exercise. J Bone Miner Res. 1991;6:741-749.

55. Ravaglioli A, Krajewski A, Celotti GC, Piancastelli A, Bacchini B, Montanari L, Zama G, Piombi L. Mineral evolution of bone. Biomaterials. 1996;17:617-622.

56. Richards RG, Stiffanic M, Owen GR, Riehle M, ap Gwynn I, Curtis AS. Immunogold labelling of fibroblast focal adhesion sites visualised in fixed material using scanning electron microscopy, and living, using internal reflection microscopy. Cell Biol Int. 2001;25:1237-1249.

57. Schimandle JH, Boden SD. Spine update. The use of animal models to study spinal fu-

sion. Spine. 1994;19:1998-2006.

58. Schmidt C, Ignatius AA, Claes LE. Proliferation and differentiation parameters of human osteoblasts on titanium and steel surfaces. J Biomed Mater Res. 2001;54:209-215.

59. Spaargaren DH. Metabolic rate and body size: a new view on the 'surface law' for basic metabolic rate. Acta Biotheor. 1994;42: 263-269.

60. Sun C, Huang G, Christensen FB, Dalstra M, Overgaard S, Bunger C. Mechanical and histological analysis of bone-pedicle screw interface in vivo: titanium versus stainless steel. Chin Med J (Engl). 1999;112:456-460.

61. Swindle MM, Smith AC, Hepburn BJ. Swine as models in experimental surgery. J Invest Surg. 1988;1:65-79.

62. Thorwarth M, Schultze-Mosgau S, Kessler P, Wiltfang J, Schlegel KA. Bone regeneration in osseous defects using a resorbable nanoparticular hydroxyapatite. J Oral Maxillofac Surg. 2005;63:1626-1633.

63. Turner AS. Animal models of osteoporosis – Necessity and limitations. Eur Cells Mater. 2001;1:66-81.

64. Turner AS, Villanueva AR. Static and dynamic histomorphometric data in 9- to 11-year old ewes. Poster Session Abstracts. 1993;ACVS:413.

65. Urban RM, Jacobs JJ, Tomlinson MJ, Gavrilovic J, Black J, Peoc'h M. Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. J Bone Joint Surg Am. 2000;82:457-476.

66. van der Donk S, Buma P, Aspenberg P, Schreurs BW. Similarity of bone ingrowth in rats and goats: a bone chamber study. Comp Med. 2001;51:336-340.

67. Vico L, Chappard D, Alexandre C, Palle S, Minaire P, Riffat G, Morukov B, Rakhmanov S. Effects of a 120 day period of bed-rest on bone mass and bone cell activities in man: attempts at countermeasure. Bone Miner. 1987;2:383-394.

68. Wang X, Mabrey JD, Agrawal CM. An interspecies comparison of bone fracture properties. Biomed Mater Eng. 1998;8:1-9.

69. Willie BM, Bloebaum RD, Bireley WR, Bachus KN, Hofmann AA. Determining relevance of a weight- bearing ovine model for bone ingrowth assessment. J Biomed Mater Res. 2004;69:567-576.

Должиков Александр Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры анатомии и гистологии человека.
Должикова Ирина Николаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии.

Dolzhikov Aleksandr Anatolevich, Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Human Anatomy and Histology.
Dolzhikova Irina Nikolaevna, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology.

Статья поступила в редакцию 15 апреля 2018 г.

УДК: 616-005.4 **DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-3**

Елагин В.В.[1], Братчиков О.И.[1], Ульянова А.А.[2]

ПОДХОДЫ К КОРРЕКЦИИ ИШЕМИЧЕСКИХ И РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПОЧЕК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет»,
305041, Россия, г. Курск, ул. К. Маркса, 3
[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»,
125047, Россия, г. Москва, Миусская пл., 9
E-mail: vlad.elagin2014@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность.* Острое почечное повреждение является актуальной проблемой здравоохранений, находящейся на стыке специальностей с высоким уровнем инвалидизации и смертности пациентов. Актуальность исследования обусловлена противоречивыми данными о потенциальных механизмах профилактики данного рода повреждений и отсутствии единой терапевтической стратегии, несмотря на возможность проведения заместительной терапии. *Цель исследования.* Изучение возможности коррекции ишемических и реперфузионных повреждений почек в эксперименте асиалированным эритропоэтином и селективным ингибитором аргиназы II KUD975. *Материалы и методы.* В серии экспериментов на крысах-самцах линии Wistar изучали ренопротективные свойства профилактического применения комбинации асиалированного эритропоэтина (2.4 мкг/кг за 30 минут до индукции ишемии) и селективного ингибитора аргиназы II KUD975 (120 мг/кг за 120 минут до индукции ишемии) на 40-минутной билатеральной модели ишемии-реперфузии почек. Ренопротективные свойства оценивали по результатам биохимических маркеров острого почечного повреждения, динамики скорости клубочковой фильтрации и фракционной экскреции натрия, а также выраженности микроциркуляторных нарушений. *Результаты.* Установлено, что профилактическое применение комбинации асиалированного эритропоэтина KUD975 приводит к снижению сывороточной концентрации маркеров острого почечного повреждения, росту скорости клубочковой фильтрации, снижению фракционной экскреции натрия и уменьшению микроциркуляторных нарушений. *Заключение.* коррекция ишемических и реперфузионных повреждений почек в эксперименте асиалированным эритропоэтином и селективным ингибитором аргиназы II KUD975 является эффективной стратегией профилактики и лечения острого почечного повреждения.

Ключевые слова: острое почечное повреждение; ишемия-реперфузия; асиалированный эритропоэтин; ингибитор аргиназы II, KUD975

Информация для цитирования: Елагин В.В., Братчиков О.И., Ульянова А.А. Подходы к коррекции ишемических и реперфузионных повреждений почек в эксперименте // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 33-39. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-3

V.V. Elagin[1], O.I. Bratchikov[1], A.A. Ulyanova[2]

APPROACHES TO CORRECTION OF ISCHEMIC AND REPERFUSION KIDNEY INJURIES IN EXPERIMENT

[1] Kursk State Medical University,
3 K. Marx St., Kursk, Russia, 305041
[2] Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia,
9 Miusskaya Sq., Moscow, Russia, 125047
E-mail: vlad.elagin2014@yandex.ru

Abstract. *Background*. Acute kidney injury is an urgent health problem at the junction of specialties with a high level of disability and mortality of patients. The pertinence of the study stems from conflicting data on the potential mechanisms for preventing this type of injury and the lack of a single therapeutic strategy, despite the possibility of substitution therapy. *The aim of the study.* To study the possibility of correcting ischemic and reperfusion renal injuries in an experiment with asialo erythropoietin and a selective inhibitor of arginase II KUD975. *Materials and methods.* In a series of experiments on Wistar male rats, there were studied the renoprotective properties of the prophylactic application of the combination of asialo erythropoietin (2.4 μg/kg 30 minutes before the induction of ischemia) and the selective inhibitor of arginase II KUD975 (120 mg/kg 120 minutes before the induction of ischemia) on a 40-minute bilateral model of renal ischemia-reperfusion. Renoprotective properties were evaluated by the results of biochemical markers of acute renal damage, the dynamics of glomerular filtration rate and fractionated sodium excretion, as well as the severity of microcirculatory disorders. *Results.* It has been established that the prophylactic use of the combination of asialo erythropoietin KUD975 leads to a decrease in the serum concentration of markers of acute renal damage, an increase in the glomerular filtration rate, a decrease in fractional sodium excretion, and a decrease in microcirculatory disorders. *Conclusion.* Correction of ischemic and reperfusion renal injuries in the experiment with asialo erythropoietin and selective inhibitor of arginase II KUD975 is an effective strategy for the prevention and treatment of acute kidney injury.

Keywords: acute kidney injury; ischemia-reperfusion; asialo erythropoietin; inhibitor of arginase II; KUD975

Information for citation: Elagin VV, Bratchikov OI, Ulyanova AA. Podkhody k korrektsii ishemicheskikh i reperfuzionnykh povrezhdeniy pochek v eksperimente [Approaches to correction of ischemic and reperfusion kidney injuries in experiment]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):33-39. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-3

Введение. Заболеваемость острым почечным повреждением в общей популяции неуклонно возрастает и составляет от 181 до 288 на 100000 населения [2]. Одним из ведущих механизмов острого почечного повреждения является ишемически-реперфузионная травма почек. Роль данного механизма важна в развитии осложнений кардиохирургических операций, трансплантации почек, рентгенконтрастных исследований, онкоурологических вмешательств [1, 7]. В связи с этим, поиск новых терапевтических стратегий является одним из актуальных направлений для профилактики острого почечного повреждения ишемически-реперфузионного генеза.

Основными механизмами, лежащими в основе ишемически-реперфузионной травмы являются микроциркуляторные нарушения, дисбаланс вазоактивных веществ, окислительный стресс, эндотелиальная дисфункция и локальная активация воспаления, что приводит к структурным и функциональным нарушениям в почках [6, 11]. Таким образом, с связи с множеством взаимосвязанных патогенетических звеньев развития ишемии-реперфузии почек, фармакологическая коррекция одним препаратом не позволит устранить все последствия данного вида повреждений, в связи с чем комбинированная фармакотерапия будет предпочтительна в качестве одной из возможных терапевтических стратегий.

Эритропоэтин (ЭПО), гликопротеиновый гормон, не только стимулирует эритропоэз, но и обладает широким спектром плеотропных эффектов: антиоксидантными, антиапоптотическими и противовоспалительными [5], реализация которых связана с гетеродимерным рецептором ЭПОР-βCR [8, 9, 12]. Одними из производных ЭПО, имеющими высокое сродство к данному виду рецепторов и короткий период полувыведения являются асиалированные формы эритропоэтина (асиалоЭПО).

С другой стороны, другим важным аспектом в профилактике ишемических и реперфузионных повреждений является коррекция дисфункция эндотелия и микроциркуляторных нарушений. Одними из перспективных мишеней для коррекции дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистых заболеваниях являются ферменты – аргиназы, участвующие в регуляции продукции оксида азота и существующие в двух изоформах [3, 10, 13]. В одном из недавних исследований было продемонстрировано, что как активность аргиназы в почках, так и экспрессия аргиназы II увеличиваются после почечной ишемии-реперфузии [4].

В связи с этим актуальным является изучение потенциальных нефропротективных свойств асиалированного эритропоэтина и селективного ингибитора аргиназы II.

Цель исследования: изучение возможности коррекции ишемических и реперфузионных повреждений почек в эксперименте асиалированным эритропоэтином и селективным ингибитором аргиназы II KUD975.

Материалы и методы исследования. Исследование проводили на крысах-самцах линии Wistar массой 180-220 г. Все крысы были разделены на следующие экспериментальные группы, по 10 животных в каждой:

I – ложнооперированные (24 часа);

II – ложнооперированные (72 часа);

III – контрольная, моделирование 4 0-минутной ишемии-реперфузии (ИР) почек (24 часа реперфузии);

IV – контрольная, моделирование 40-минутной ИР почек (72 часа реперфузии);

V – предварительное внутрижелудочное введение KUD975 в дозе 3 мг/кг за 120 минут до моделирования патологии и внутрибрюшинное введение асиалированного эритропоэтина (асиалоЭПО) в дозе 0.4 мкг/кг за 30 минут до моделирования патологии (24 часа реперфузии);

VI – предварительное внутрижелудочное введение KUD975 в дозе 3 мг/кг за 120 минут до моделирования патологии и внутрибрюшинное введение асиалированного эритропоэтина (асиалоЭПО) в дозе 0.4 мкг/кг за 30 минут до моделирования патологии;

Моделирование ишемии-реперфузии почек

После 12-часовой пищевой депривации под наркозом (интраабдоминальным введением водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг) выполнялась срединная лапаротомия. Петли кишечника отодвигали в сторону и с разницей в 5 минут производили наложение атравматичных сосудистых зажимов на почечные ножки на 40 минут. Ложнооперированные животные не подвергались двусторонней ишемии почек. В брюшную полость вводился 0,9% раствор натрия хлорида (4-5 мл) и рана послойно ушивалась.

Измерение уровня микроциркуляции

Осуществляли с помощью аппаратно-программного комплекса MP100 (Biopac System, Inc., США) с модулем лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и поверхностного датчика TSD143, который накладывался на среднюю часть почки, не затрагивая область ворот. Уровень микроциркуляции измеряли сразу после снятия сосудистых зажимов с почки в течение 5 минут, через 24 или 72 часа реперфузии в зависимости от экспериментальной группы. Регистрация и обработка результатов производилась с помощью программного обеспечения AcqKnowledge версии 3.8.1. Значения показателей выражались в перфузионных единицах (ПЕ).

Измерение концентрации креатинина, мочевины, натрия

В зависимости от экспериментальной группы, через 12 или 48 часов реперфузии крыс помещали в метаболические клетки и осуществляли сбор мочи в течение 12 или 48 часов. Далее под наркозом производили релапаротомию и отбирали кровь из правого желудочка для биохимических исследований. Измерялся суточный диурез. Концентрацию уровня креатинина, мочевины и натрия в сыворотке крови и моче измеряли по общепринятой методике с использованием автоматических и полуавтоматических анализаторов.

Расчет скорости клубочковой фильтрации и фракционной экскреции натрия

Клиренс эндогенного креатинина (скорость клубочковой фильтрации (СКФ) рассчитывался следующим образом:

$$\text{СКФ} = \frac{\text{креатинин мочи (мкмоль/л)} \times \text{объем мочи (мл)}}{\text{креатинин сыворотки крови (мкмоль/л)} \times \text{время (мин)}}$$

Фракционная экскреция натрия (ФЭН) рассчитывалась по следующей формуле:

$$\text{ФЭН} = \frac{\text{натрий мочи} \times \text{креатинин сыворотки крови}}{\text{натрий сыворотки крови} \times \text{креатинин мочи}} \times 100\%$$

Статистическая обработка данных

Для всех данных была применена описательная статистика: данные проверены на нормальность распределения. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). Межгрупповые различия анализировались параметрическими (t-критерий Стьюдента) или непараметрическими (критерий Манна-Уитни) методами, в зависимости от типа распределения.

Результаты и их обсуждение. Моделирование ишемии-реперфузии почек приводило к росту биохимических маркеров острого почечного повреждения: креатинина и мочевины, причем уровень мочевины возрастал в большей степени на первые сутки эксперимента, а креатинин – на третьи (табл. 1). Параллельно росту креатинина падала скорость клубочковой фильтрации, уровень которой к третьим суткам составлял лишь 0.06±0.01 мл/мин (табл. 2). Канальцевые повреждения также нарастали от первых к третьим суткам эксперимента, что выражалось в значительном росте фракционной экскреции натрия (табл. 2). Микроциркуляторные нарушения также отмечались во всех временных точках эксперимента Комбинированная терапия асиалированным эритропоэтином в дозе 2.4мкг/кг и KUD975 в дозе 3 мг/кг способствовала улучшению фильтрационной способности почек и восстановлению функции канальцев. Так, на 1 сутки эксперимента СКФ возрастала до 0.45±0.03 мл/мин, достоверно не отличаясь от показателей ложнооперированных животных при отсутствии влияния на уровень креатинина в сыворотке крови, а ФЭН снижалась до 0.65±0.04%. На 3 сутки эксперимента комбинированная терапия асиалированным эритропоэтином и KUD975 приводила к нормализации уровня креатинина до 61±2.17 мкмоль/л и увеличении скорости клубочковой фильтрации до 0.42±0.03 мл/мин и снижению ФЭН до 0.8±0.04%. (табл. 3).

Таблица 1

Динамика сывороточных концентраций креатинина и мочевины при введении изучаемых веществ (M±m; n=10)

Table 1

Dynamics of serum concentrations of creatinine and urea with the introduction of the studied substances (M±m; n=10)

Экспериментальная группа	Креатинин (мкмоль/л)		Мочевина (ммоль/л)	
	24 часа	72 часа	24 часа	72 часа
Ложнооперированные	55.7±0.8	56±1.52	5.35±0.21	5.4±0.14
ИР	57.9±2.38	120±3.45 ^{x}	9.7±0.68 ^{x}	8.33±0.23 ^{x}
ИР + KUD975 + асиалоЭПО	54.4±1.83	61±2.17^{y}	5.67±0.19 ^{y}	6.13±0.16 ^{y}

Примечание: ^{x} – p<0.05 в сравнении с группой ложнооперированных животных; ^{y} – p<0.05 в сравнении с группой контроля.

Таблица 2

Динамика скорости клубочковой фильтрации и фракционной экскреции натрия при введении изучаемых веществ (M±m; n=10)

Table 2

Dynamics of the glomerular filtration rate and fractional sodium excretion upon administration of the studied substances (M±m; n=10)

Экспериментальная группа	СКФ (мл/мин)		ФЭН (%)	
	24 часа	72 часа	24 часа	72 часа
Ложнооперированные	0.51±0.03	0.49±0.03	0.38±0.02	0.5±0.02
ИР	0.17±0.02 ^{x}	0.06+0.01^{x}	2.24±0.12^{x}	7.4±0.78^{x}
ИР + KUD975 + асиалоЭПО	0.45±0.03^{y}	0.42±0.03 ^{y}	0.65±0.04^{x,y}	0.8±0.04^{x,y}

Примечание: ^{x} – p<0.05 в сравнении с группой ложнооперированных животных; ^{y} – p<0.05 в сравнении с группой контроля.

Таблица 3

Динамика уровня микроциркуляции при введении изучаемых веществ (M±m; n=10)

Table 3

Dynamics of microcirculation level when introducing the studied substances (M±m; n=10)

Экспериментальная группа	5 минут	24 часа	72 часа
Ложнооперированные	904.5±60.43	870.5±98	859±67.98
ИР	209±24.42 ^{x}	418.1±46.02 ^{x}	315.5±13.67 ^{x}
ИР + KUD975 + асиалоЭПО	803.4±25.23 ^{y}	775.5±29.13 ^{y}	801.3±20.16 ^{y}

Примечание: ^{x} – p<0.05 в сравнении с группой ложнооперированных животных; ^{y} – p<0.05 в сравнении с группой контроля.

Однократное профилактическое применение комбинации асиалированного эритропоэтина и селективного ингибитора аргиназы II KUD975 также приводило к восстановлению уровня микроциркуляции во всех временных точках эксперимента, сопоставимых с показателями группы ложнооперированных животных.

Заключение. Таким образом, коррекция ишемических и реперфузионных повреждений почек в эксперименте асиалированным эритропоэтином и селективным ингибитором аргиназы II KUD975 является эффективной стратегией профилактики и лечения острого почечного повреждения.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Роль фармакологического прекондиционирования при ишемических и реперфузионных повреждениях почек / Д.А. Костина [и др.] // Урология. 2017. N 5. С. 139-144.

2. Acute kidney injury and mortality in hospitalized patients / H.E. Wang [et al.] // Am J Nephrol. 2012. N 35. P. 349-355.

3. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels / D.E. Berkowitz [et al.] // Circulation. 2003. N 108. P. 2000-2006.

4. Arginase-2 mediates renal ischemia-reperfusion injury / W.M. Raup-Konsavage [et al.] // American Journal of Physiology – Renal Physiology. 2017. Vol. 313(2). P. F522-F534. doi:10.1152/ajprenal.00620.2016.

5. Banaei S., Ahmadiasl N., Alihemmati A. Comparison of the protective effects of erythropoietin and melatonin on renal ischemia-reperfusion injury [Electronic] Trauma Monthly. 2016. Vol. 21(3). Art e23005. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5124127/ (дата обращения: 13.08.2018)

6. Hussien N.I., Emam H.T. The potential protective effects of erythropoietin and estrogen on renal ischemia reperfusion injury in ovariectomized rats // Alexandria Journal of Medicine. 2016. Vol. 52(4). P. 325-335.

7. Ischemia-reperfusion: from cell biology to acute kidney injury / N. Chatauret [et al.] // Prog Urol. 2014. 24 (Suppl 1). P. S4-12.

8. Mofidi A., Bader A., Pavlica S. The use of erythropoietin and its derivatives to treat spinal cord injury // Mini Rev. Med. Chem. 2011. Vol. 11(9). P. 763-770.

9. Peresypkina A.A. Correction of ischemic optic neuropathy in rats by carbamylated darbepoetin. // Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology. 2018. Vol. 4(1). P. 43-50. doi: 10.3897/rrpharmacology.4.25262

10. Pharmacological efficacy of an inhibitor of arginase-2 KUD975 with L-NAME-induced endothelial dysfunction / K.V. Kudryavtsev, M.V. Korokin, O.S. Gudyrev // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017. Vol. 3(1). P. 10-17. doi: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-10-17

11. Renal hypoxia and dysoxia after reperfusion of the ischemic kidney / M. Legrand [et al.] // Mol Med. 2008. Vol. 14(7-8). P. 502-516.

12. Search of new pharmaceuticals on the basis of darbepoetin in the treatment of ischemic stroke (review of literature) / K.M. Reznikov [et al.] // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017. Vol. 3(1) P. 125-136. doi: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-125-136.

13. Yakushev V.I., Pokrovskii M.V. Cardiovascular effects of an arginase II selective inhibitor // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2016. Vol. 2(3). P. 28-46. doi: 10.18413/2500-235X -2016-2-3-28-45

References

1. Kostina DA, Pokrovskaya TG, Olefir YuV, Yavorskii AN, Elagin VV Rol farmakologicheskogo prekonditsionirovaniya pri ishemicheskikh i reperfuzionnykh povrezhdeniyakh pochek [The role of pharmacological preconditioning in renal ischemic and reperfusion injury]. Urologiya. 2017;5:139-144. Russian.

2. Wang HE, et al. Acute kidney injury and mortality in hospitalized patients Am J Nephrol. 2012;35:349-355.

3. Berkowitz DE, et al. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. Circulation. 2003;108:2000-2006.

4. Raup-Konsavage WM, et al. Arginase-2 mediates renal ischemia-reperfusion injury. American Journal of Physiology – Renal Physiology. 2017;313(2):F522-F534. doi:10.1152/ajprenal.00620.2016.

5. Banaei S, Ahmadiasl N, Alihemmati A. Comparison of the protective effects of erythropoietin and melatonin on renal ischemia-reperfusion injury. Trauma Monthly [Internet]. 2016 [cited 2018 August 13]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5124127/

6. Hussien NI, Emam HT. The potential protective effects of erythropoietin and estrogen on renal ischemia reperfusion injury in ovariectomized rats. Alexandria Journal of Medicine. 2016;52(4):325-335.

7. Chatauret N, et al. Ischemia-reperfusion: from cell biology to acute kidney injury. Prog Urol. 2014;24(1):S4-12.

8. Mofidi A, Bader A, Pavlica S. The use of erythropoietin and its derivatives to treat spinal

cord injury. Mini Rev. Med. Chem. 2011;11(9):763-770.

9. Peresypkina AA. Correction of ischemic optic neuropathy in rats by carbamylated darbepoetin. Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology. 2018;4(1):43-50. doi: 10.3897/rrpharmacology.4.25262

10. Kudryavtsev KV, Korokin MV, Gudyrev OS. Pharmacological efficacy of an inhibitor of arginase-2 KUD975 with L-NAME-induced endothelial dysfunction. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017;3(1):10-17. doi: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-10-17

11. Legrand M, et al. Renal hypoxia and dysoxia after reperfusion of the ischemic kidney. Mol Med. 2008;14(7-8):502-516.

12. Reznikov KM, Gorbunova NS, Kolesnichenko PD, Tverskoy AV, Kostina DA, Bashkatova DA, Nikitina VA. Search of new pharmaceuticals on the basis of darbepoetin in the treatment of ischemic stroke (review of literature). Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017;3(1):125-136. doi: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-125-136.

13. Yakushev VI, Pokrovskii MV. Cardiovascular effects of an arginase II selective inhibitor. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2016;2(3):28-46. doi: 10.18413/2500-235X -2016-2-3-28-45

Елагин Владислав Викторович, ассистент кафедры урологии.

Братчиков Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой урологии.

Ульянова Анастасия Александровна, студент 4 курса по направлению подготовки 18.03.01 Химическая технология.

Elagin Vladislav Victorovich, Assistance Lecturer of the Department of Urology.

Bratchikov Oleg Ivanovich, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Urology.

Ulyanova Anastasia Alexandrovna, 4th-year Student of Direction 18.03.01 Chemical Technology.

Статья поступила в редакцию 7 апреля 2018 г.

УДК 616.12- 007.2 – 053.1/2 – 07:575.113 (470.620) DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-4

Лазарев К.Ю., Брайко О.П.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ КОМБИНАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ С РАЗВИТИЕМ ИЗОЛИРОВАННОГО ДЕФЕКТА МЕЖЖЕЛУДОЧКОВОЙ ПЕРЕГОРОДКИ В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет»,
350063, Россия, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4
E-mail: lazarev_ku@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Изучение вовлеченности полиморфизма генов-кандидатов системы биотрансформации ксенобиотиков в формирование врожденных пороков развития у детей является одной из актуальных задач современной медицины. *Цель исследования.* Определить ассоциации комбинаций полиморфизмов генов системы биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью формирования дефекта межжелудочковой перегородки (ДМЖП) у детей в Краснодарском крае. *Материалы и методы.* В исследование включены дети с верифицированным ДМЖП (100 человек), средний возраст 3.11±0.81 лет. Группой популяционного контроля явились родители детей с ДМЖП, не имеющие врожденных пороков развития. Все исследуемые имели славянскую национальность и являются коренными жителями Краснодарского края. Проведены выделение ДНК и амплификация полиморфизмов генов в режиме реального времени; проведен анализ полученных генотипов при помощи метода дискриминации аллелей. Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в выборке больных и здоровых использовали критерий χ^2. *Результаты.* Показана статистическая достоверность 5 комбинаций генотипов, имеющих повышенный риск формирования ДМЖП: *CYP1B* 1432AA х *NAT2* 590GG, *CYP1B1* 432GG х *CYP3A4* 664TT, *CYP3A4* 664TT х *CYP3A5* 6986AA – для лиц мужского пола, *CYP1B1* 432AG х *NAT2* 590AA, *CYP2C9* 1075AC х *CYP3A4* 664TC – для лиц женского пола, с показателями ($p<0.05$, OR=3.29, 95% CI=1.11-9.74), ($p<0.05$, OR=14.23, 95% CI=1.72-117.86), ($p<0.05$, OR=4.75, 95% CI=0.98-23.10), ($p<0.05$, OR=2.66, 95% CI=0.95-7.41), ($p<0.05$, OR=7.07, 95% CI=0.77-64.83) соответственно и 3 комбинации протективного характера *NAT2* 590GA х *ABCB1* 3435CT ($p<0.05$, OR=0.37, 95% CI=0.15-0.94), *CYP1B1* 432AA х *CYP2C9* 1075AA ($p<0.05$, OR=0.40, 95% CI=0.17-1.00) – для лиц мужского пола, *CYP2C9* 1075AC х *CYP3A5*6986AA ($p<0.05$, OR=0.36, 95% CI=0.13-1.03) – для лиц женского пола. *Заключение.* Установлены 8 парных сочетаний генотипов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, ассоциированных с риском развития изолированного дефекта межжелудочковой перегородки.

Ключевые слова: врожденный дефект межжелудочковой перегородки (ДМЖП); ферменты биотрансформации ксенобиотиков (ФБК); полиморфизм; маркер предрасположенности; Краснодарский край
Информация для цитирования: Лазарев К.Ю., Брайко О.П. Молекулярно-генетический анализ ассоциаций комбинаций полиморфных вариантов генов системы биотрансформации ксенобиотиков с развитием изолированного дефекта межжелудочковой перегородки в Краснодарском крае // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 40-49. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-4

K.Y. Lazarev,
O.P. Brayko

MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF ASSOCIATIONS OF POLYMORPHOUS GENES COMBINATIONS OF THE XENOBIOTICS BIOTRANSFORMATION WITH THE ISOLATED VENTRICULAR SEPTAL DEFECT DEVELOPMENT IN THE KRASNODAR TERRITORY

Kuban State Medical University,
4 Mitrofan Sedin St., Krasnodar, Russia, 350063
E-mail: lazarev_ku@mail.ru

Abstract. *Background*. The study of the involvement of polymorphisms of candidate genes of the biotransformation system of xenobiotics in the formation of congenital malformations in children is one of the urgent problems of modern medicine. *The aim of the study.* To estimate the polymorphous genes associations of the xenobiotic biotransformation system with ventricular septal defect predilection in children in Krasnodar region. *Materials and methods.* Children with verified VSD (100 participants), mean age 3.11±0.85, were tested in the research,. The parents (without congenital minimum effective temperature) of children with VSD were tested as a population group. The participants were the innates of the Krasnodar Territory and belonged to the Slavic nationality. The DNA and polymorphous genes amplification were made in the real time mode; the derived genotypes were analysed by the alleles' discrimination method. The x^2 criterion, for concordance estimation genotypes distribution of expected meanings by Hardy- Weinberg equilibrium and for the comparison of frequency genotypes and alleles distribution (among healthy and diseased patients), were used. *Results.* The statistical validity (having high risk of VSD formation) of 5 genotypes combinations was revealed: CYP1B 1432AA x NAT2 590GG, CYP1B1 432GG x CYP03A4 664TT, CYP3A4 664TT x CYP3A5 6986AA – male gender, CYP1B1 432AG x NAT2 590AA, CYP2C9 1075AC x CYP3A4 664TC – female gender, with indices (p<0.05, OR=3.29, 95% CI=1.11-9.74), (p<0.05, OR=14.23, 95% CI=1.72-117.86), (p<0.05, OR=4.75, 95% CI=0.98-23.10), (p<0.05, OR=2.66, 95% CI=0.95-7.41), (p<0.05, OR=7.07, 95% CI=0.77-64.83), including 3 combinations of protective character *NAT2* 590GA x *ABCB1* 3435CT (p<0.05, OR=0.37, 95% CI=0.15-0.94), *CYP1B1* 432AA x *CYP2C9* 1075AA (p<0.05, OR=0.40, 95% CI=0.17-1.00) – male gender, *CYP2C9* 1075AC x *CYP3A5*6986AA (p<0.05, OR=0.36, 95% CI=0.13-1.03) – female gender. *Conclusion.* Eight pairs of combinations of genotypes of xenobiotic biotransformation enzymes associated with the risk of developing an isolated defect of the interventricular septum were established.

Keyword: congenital ventricular septal defect (VSD); enzymes of xenobiotics biotransformation (EXB); polymorphism; predilection marker; Krasnodar region
Information for citation: Lazarev KY, Brayko OP. Molekulyarno-geneticheskiy analiz assotsiatsiy kombinatsiy polimorfnykh variantov genov sistemy biotransformatsii ksenobiotikov s razvitiyem izolirovannogo defekta mezhzheludochkovoy peregorodki v Krasnodarskom kraye [Molecular-genetic analysis of associations of polymorphous genes combinations of the xenobiotics biotransformation with the isolated ventricular septal defect development in the Krasnodar territory]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):40-49. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-4

Введение. Врожденные пороки сердца являются актуальной медико-социальной проблемой со значительным колебанием показателей распространенности как в различных странах мира, так и в регионах Российской Федерации (3.17-8.00‰) [3, 4, 6]. ВПС составляют незначительный удельный вес в общей заболеваемости детей (2%). Однако вклад ВПС в формирование младенческой смертности и детской инвалидности более значителен. В Российской Федерации зарегистрированы около 25.7 тыс. детей-инвалидов по причине ВПС, из них 40.9% в возрасте от 0 до 4 лет, 10.3% – 15-17-летних [2].

Изолированные случаи дефекта межжелудочковой перегородки (ДМЖП) – занимает лидирующее положение в структуре врожденных пороков развития системы кровообращения (ВПР СК) в Краснодарском крае (51.8%) с частотой среди новорожденных 7.96‰ [5] и имеют мультифакториальную природу. На сегодняшний день накоплено значительное число данных научной литературы свидетельствуют в пользу вовлеченности различных полиморфных генов в формирование предрасположенности к патологии мультифакториального генеза. Именно гены ферментов детоксикации ксенобиотиков, экспрессия которых зависит от внешне-средовых факторов и участвуют в развитии предрасположенности к формированию ДМЖП, и представляют собой интерес для исследований этиологии мультифакториальных заболеваний [1, 11, 14, 15, 16]. В связи с этим, представляется целесообразным тестирование полиморфных вариантов Val432Leu *CYP1B1*, G590A *NAT2*, 3435T *ABCB1*, A1075C *CYP2C9*, T664C *CYP3A4*, +6986G/A *CYP3A5* в качестве маркеров предрасположенности к формированию ДМЖП.

Цель работы – определить ассоциации полиморфизмов Val432Leu *CYP1B1*, G590A *NAT2*, 3435T *ABCB1*, A1075C *CYP2C9*, T664C *CYP3A4*, +6986G/A *CYP3A5* с предрасположенностью к ДМЖП у детей Краснодарского края.

Материалы и методы исследования. Основным объектом настоящего исследования явились дети с ДМЖП (100 человек), родившиеся в 1998-2012 гг. из 38 территориальных образований и 6 городов Краснодарского края. Средний возраст детей с ДМЖП составил 3.11±0.81 лет (46 мальчиков – 46% и 64 девочки – 64%). Группой популяционного контроля явились родители детей с ДМЖП, не имеющие врожденных пороков развития, также славянской национальности и являющиеся коренными жителями Краснодарского края.

Для систематизации и статистической обработки данных была сформирована электронная база с включенными сведениями каждого пробанда.

С целью верификации диагноза всем больным было проведено комплексное обследование, включающее клинические методы с использованием физикального обследования, анкетирования, и специальные (ЭКГ, УЗИ, рентгенографии сердца и др.), а также клинико-генеалогический, цитогенетический методы исследования.

ДНК выделяли из замороженной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ полиморфизмов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков осуществляли методом полимеразной цепной реакции с соответсвующим анализом данных в амплификаторе CFX96 Bio-rad и Rotor Gene Q5 plex HRM (Qiaqen) в режиме Real time с использованием полимеразы Thermus aquaticus (Taq-полимераза), производства фирмы «СибЭнзим», олигонуклеотидных праймеров и зондов, синтезированных фирмой «Синтол» (таблица 1) с дальнейшим проведением ПЦР и анализированием полученных генотипов при помощи метода дискриминации аллелей. Ход протоколов изучаемых полиморфизмов представлен в таблице 2.

Таблица 1

Праймеры и зонды, примененные для типирования ДНК-маркеров методом Taq Man зондов в режиме Real Time

Table 1

Primers and probes used for typing DNA markers using the Taq Man probes method in Real Time mode

Ген	Полиморфизм	Структура праймеров и зондов	Источник
CYP1B1	Val432Leu	F: 5'- tgt caa cca gtg gtc tgt gaa tc -3' R: 5'- tca ctc tgc tgg tca ggt cct t -3' 5'-FAM-accca(**g-LNA)**tgaagtgg-RTQ1-3' 5'-ROX-atgaccca**(c-LNA)**tgaagtg-BHQ2-3'	[7]
NAT2	G590A	F: 5'- ctgccaaagaagaaacaccaaaa -3' R: 5'- tggagacgtctgcaggtatgtatt -3' 5'-FAM- acctc(g-**LNA)**aacaattg-RTQ1-3' 5'-ROX-tgaacctc(a-**LNA)**aacaatt-BHQ2-3'	[8]
ABCB1	C3435T	F: 5'- ctgtttgactgcagcattgct -3' R: 5'- atgtatgttggcctcctttgct -3' 5'-FAM-ccctcac**(a – LNA)**atctctt-RTQ1-3' 5'-ROX-ccctcac(**g-LNA)**atctctt-BHQ2-3'	[1]
CYP2C9	A1075C	F: 5'- gccacatgccctacacagatg -3' R: 5'- gaatttaatgtcacaggtcactgcat -3' 5'-FAM-aaggtcaa(g-**LNA)**gtatctc-RTQ1-3' 5'-ROX- aggtcaa(t-**LNA)**gtatctct-BHQ2-3'	[9]
CYP3A4	T664C	F: 5'- tggaatgaggacagccatagaga -3' R: 5'- agtggagccattggcataaaatct -3' 5'-FAM-aagggca(g-**LNA)**gagagag-RTQ1-3' 5'-ROX-aagggca(a-**LNA)**gagagag-BHQ2-3'	[11]
CYP3A5	+6986G/A	F: 5'- tgaagggtaatgtggtccaaacag -3' R: 5'- cgaatgctctactgtcatttctaacca -3' 5'-FAM- tttgtctttca (a-**LNA)**tatctc-RTQ1-3' 5'-ROX-ttttgtctttca (g-**LNA)**tatctc-BHQ2-3'	[11]

Таблица 2

Протоколы генотипирования

Table 2

Protocols of genotyping

<table>
<tr><th>Ген, t^0 отжига</th><th>Полиморфизм</th><th>Профиль</th></tr>
<tr><td>CYP1B1
48 °C</td><td>Val432Leu</td><td rowspan="3">Смесь реакционных компонентов объемом 25 мкл из расчета на 1 образец включает: бидистиллированная деионизированная вода 18.1мкл, ионы магния 2.5 мкл, буфер 2.5 мкл, дезоксирибонуклеозидфосфаты (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) 0.4 мкл, праймер F 0.1 мкл, праймер R 0.1 мкл, зонд FAM 0.05мкл, зонд ROX 0.05 мкл, Taq-полимераза 0.2 мкл, ДНК 1 мкл.
Процесс генотипирования проводился при помощи метода Taq Man зондов по изменению уровня относительной флуоресценции используемых зондов (величины RFU) на амплификаторе с флюо ресцентной детекцией CFX96 (Bio-rad).
По окончании первого этапа – денатурации при 95 °C с временем экспозиции 5 минут осуществлялось 40 непрерывных циклов амплификации, включающих отжиг праймеров в течение 60 секунд при 45-51.3 °C и денатурация в течение 15 сек при 95 °C.</td></tr>
<tr><td>NAT2
45 °C</td><td>G590A</td></tr>
<tr><td>ABCB1
51.3 °C</td><td>C3435T</td></tr>
<tr><td>CYP2C9
45 °C</td><td>A1075C</td><td rowspan="3">Смесь реакционных компонентов объемом 25 мкл из расчета на 1 образец включает: бидистиллированная деионизированная вода 17.1мкл, ионы магния 2.5 мкл, буфер 2.5 мкл, дезоксирибонуклеозидфосфаты (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) 0.4 мкл, праймер F 0.1 мкл, праймер R 0.1 мкл, зонд FAM 0.05 мкл, зонд ROX 0.05 мкл, Taq-полимераза 0.2 мкл, ДНК 2 мкл.
Процесс генотипирования проводился при помощи метода Taq Man зондов по изменению уровня относительной флуоресценции используемых зондов (величины RFU) на амплификаторе с флюоресцентной детекцией Rotor Gene Q 5 plex HRM (Qiaqen).
По окончании первого этапа – денатурации при 95 °C с временем экспозиции 5 минут и удержанием температуры 5 сек при 72 °C, осуществлялось 40 непрерывных циклов амплификации, включающих отжиг праймеров в течение 60 секунд при 45 °C и денатурация в течение 15 сек при 95 °C.</td></tr>
<tr><td>CYP3A4
45 °C</td><td>T664C</td></tr>
<tr><td>CYP3A5
45 °C</td><td>+6986G/A</td></tr>
</table>

Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в выборке больных и здоровых использовали критерий χ^2 [7]. Уровень статистической значимости различий между группами принимали p≤0.05. Об ассоциации аллелей и генотипов с предрасположенностью к ДМЖП судили по величине отношения шансов (OR) [13]. Границы 95%-го доверительного интервала (CI) для OR вычисляли методом B. Woolf. Уровень статистической значимости для D – показатель, отражающий различия между наблюдаемыми и ожидаемыми отношениями гаплотипов специфических аллелей двух локусов при нулевой гипотезе (H_0) о независимости их наследования рассчитывали с помощью критерия χ^2 для таблиц сопряженности 2×2 [7].

Результаты и их обсуждение. Анализ распределения генотипов изучаемых полиморфных генов Val432Leu *CYP1B1*, G590A

NAT2, 3435T *ABCB1*, A1075C *CYP2C9*, T664C *CYP3A4,* +6986G/A *CYP3A5* показал, что эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга (>0.05), но эмпирическое распределение генотипов *G590A NAT2* не соответствует теоретически ожидаемому в связи с уменьшением фактического уровня гетерозиготности (p<0.05). Уровень аллельного разнообразия по данным локусам составил H_0 =0.49 (для локуса *Val432Leu CYP1B1*), H_0=0.35 (для локуса *G590A NAT2),* H_0= 0.45 (для локуса C3435T *ABCB1*), H_0 =0.49 (для локуса A1075C *CYP2C9*), H_0=0.35 (для локуса T664C *CYP3A4*), H_0= 0.45 (для локуса +6986G/A *CYP3A5*) среди индивидуумов с ДМЖП и H_0 =0.49 (для локуса *Val432Leu CYP1B1*), H_0=0.41 (для локуса *G590A NAT2),* H_0= 0.53 (для локуса C3435T *ABCB1*), H_0 =0.17 (для локуса A1075C *CYP2C9*), H_0=0.13 (для локуса T664C *CYP3A4*), H_0= 0.14 (для локуса +6986G/A *CYP3A5*) в популяционной выборке.

Статистически значимых различий в частотах аллелей изучаемых полиморфных вариантов генов ФБК между группами больных ДМЖП и здоровых не установлено (p>0.05), но наблюдается протективное накоплению аллеля 664C *CYP3A4* в группе здоровых (0,070) в отличие от больных ДМЖП (0.030) (p=0.05, OR=0.41, 95% CI=0.16-1.04).

При сравнительном анализе частот генотипов исследуемых полиморфизмов генов ФБК в группе больных ДМЖП и здоровых индивидов статистически значимых различий не установлено (p>0.05), установлено протективное накоплением генотипов 664TT *CYP3A4* и 664TC *CYP3A4* в отношении риска развития ДМЖП (χ^2=3.99, p=0.05, OR=0.39, 95% CI=0.15-1.01).

Данные анализа парных сочетаний генотипов исследуемых полиморфизмов приведены в сводной таблице 3. Выявлены 3 комбинации, ассоциированные с повышенным риском развития ДМЖП: *CYP1B1* 432GG x *NAT2* 590GA, *CYP1B1* 432AA x *ABCB1* 3435TT, *CYP3A4* 664TT x *CYP3A5* 6986AA для которых были установлены статистически значимые различия (p<0.05, OR=2.81, 95% CI=1.06-7.39), (p<0.05, OR=2.41 95% CI=1.07-5.43), (p<0.05, OR=2.53, 95% CI=1.14-5.59) и 1 протективная *CYP2C9* 1075AA x *CYP3A4* 664TC (p<0.05, OR=0.22, 95% CI=0.05-0.97) соответственно.

Таблица 3

Распределение частот парных сочетаний генотипов генов ФБК в группах больных ДМЖП и здоровых индивидов (абс, %)

Table 3

Frequency distribution of paired combinations of genotypes of FBK genes in groups of patients with VSD and healthy individuals (abs,%)

Комбинации генотипов	Больные ДМЖП (n=100)	Контроль (n=150)	Критерий различия χ^2 (p)	OR (95% CI)
CYP1B1 432GG x *NAT2* 590GA	3 (3.0)	7 (4.6)	4.66(0.03)*	2.81(1.06-7.39)
CYP1B1 432AA x *ABCB1* 3435TT	16 (16.0)	11(7.3)	4.68(0.03)*	2.41(1.07-5.43)
CYP2C9 1075AA x *CYP3A4* 664TC	2(2.0)	13(8.7)	4.73(0.03)*	0.22(0.05-0.97)
CYP3A4 664TT x *CYP3A5* 6986AA	91(91.0)	120(80.0)	5.51(0.02)*	2.53(1.14-5.59)

*- статистически достоверные ассоциации

На следующем этапе работы нами проанализировано влияние ассоциаций парных сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов-кандидатов на риск формирования изолированного ДМЖП и раздельно у лиц мужского и женского пола. Стратифицированный анализ по полу комбинаций полиморфных вариантов генов ФБК, проводившийся в группах, где мальчики с ДМЖП сравнивались с отцами, а девочки с ДМЖП с матерями представлен в таблице 4.

Таблица 4

Распределение частот парных сочетаний генотипов генов ФБК в группах больных ДМЖП и здоровых индивидов в зависимости от пола (абс, %)

Table 4

Frequency distribution of paired combinations of genotypes of FBK genes in groups of patients with VSD and healthy individuals depending on gender (abs,%)

Комбинации генотипов	Больные ДМЖП		Контроль		Критерий различия		OR (95% CI)
	n	%	n	%	χ^2	(p)	
Муж. (n=40) Отцы (n=50)							
CYP1B 1432AA x *NAT2* 590GG	12	30.0	6	11.5	4.90	0.03*	3.29 (1.11-9.74)
NAT2 590 GA x *ABCB1* 3435CT	9	22.5	22	44.0	4.55	0.03*	0.37 (0.15-0.94)
CYP1B1 432AA x *CYP2C9* 1075AA	11	27.5	24	48.0	3.93	0.05*	0.40 (0.17-1.00)
CYP1B1 432GG x *CYP3A4* 664TT	9	22.5	1	2.0	9.46	0.002 *	14.23 (1.72-117.86)
CYP3A4 664TT x *CYP3A5* 6986AA	38	95.0	40	80.0	4.33	0.04*	4.75 (0.98-23.10)
Жен. (n=60) Матери (n=100)							
CYP1B1 432AG x *NAT2* 590AA	10	16.7	7	7.0	3.69	0.05*	2.66 (0.95-7.41)
CYP2C9 1075AC x *CYP3A4* 664TC	4	6.7	1	1.0	3.98	0.05*	7.07 (0.77-64.83)
CYP2C9 1075ACx *CYP3A5*6986AA	5	8.3	20	20.0	3.87	0.05*	0.36 (0.13-1.03)

*****- статистически достоверные различия

Из 8 выявленных комбинаций генотипов, имеющих статистическую достоверность 5 имели повышенный риск формирования ДМЖП: *CYP1B* 1432AA x *NAT2* 590GG, *CYP1B1* 432GG x *CYP3A4* 664TT, *CYP3A4* 664TT x *CYP3A5* 6986AA – для лиц мужского пола, *CYP1B1* 432AG x *NAT2* 590AA, *CYP2C9* 1075AC x *CYP3A4* 664TC – для лиц женского пола, с показателями (p<0.05, OR=3.29, 95% CI=1.11-9.74), (p<0.05, OR=14.23, 95% CI=1.72-117.86), (p<0.05, OR=4.75, 95% CI=0.98-23.10), (p<0.05, OR=2.66, 95% CI=0.95-7.41), (p<0.05, OR=7.07, 95% CI=0.77-64.83) соответственно и 3 комбинации протективного характера *NAT2* 590GA x *ABCB1* 3435CT (p<0.05, OR=0.37, 95% CI=0.15-0.94), *CYP1B1* 432AA x *CYP2C9* 1075AA (p<0.05, OR=0.40, 95% CI=0.17-1.00) – для лиц мужского пола, *CYP2C9* 1075AC x *CYP3A5*6986AA (p<0.05, OR=0.36, 95% CI=0.13-1.03) – для лиц женского пола.

Нами проведено изучение полиморфных вариантов генов ФБК на этнически гомогенной выборке русских жителей Краснодарского края больных врожденным изолированным ДМЖП. Основываясь на данные научной литературы, мы предположили, что полиморфизмы Val432Leu *CYP1B1*, G590A *NAT2*, 3435T *ABCB1*, A1075C *CYP2C9*, T664C *CYP3A4*, +6986G/A *CYP3A5*, как гены ФБК могут быть ассоциированы с развитием врожденного изолированного ДМЖП.

Заключение. Таким образом, при анализе парных сочетаний полиморфных вариантов генов ФБК установлены 8 статистически значимых ассоциаций с риском развития ДМПП: 4 из них ассоциировалась с повышенным риском порока, а 4, напротив, ассоциировалась с пониженным риском изучаемого ВПР СК. Результаты, полученные при анализе межгенных комбинаций посредством оценки ассоциаций парных сочетаний генотипов ФБК, демонстрируют их тесное взаимодействие, что отражает вовлеченность различных метаболических путей детоксикации ксенобиотиков. Учитывая относительно малочисленность обследованных групп и потенциальную вовлеченность других генов ФБК в развитие ДМЖП, для разработки модели прогнозирования риска развития порока в рамках медико-генетического консультирования и пренатальной диагностики супружеских пар с отягощенным семейным анамнезам необходим дальнейший поиск молекулярно-генетических маркеров.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Влияние социальных, медицинских и экологических факторов на формирование спорадических врожденных пороков сердца / А.В. Шабалдин [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2018. Т. 63, N 1. С. 14-21.

2. Врожденные аномалии (пороки) системы кровообращения у населения России и их оперативное лечение (2005-2014 годы) / Л.А. Бокерия [и др.] // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. 2016. N 4. С. 202-206.

3. Врожденные пороки сердца: распространенность в популяции, факторы риска / А.В. Богачева [и др.] // Мать и дитя в Кузбассе. 2012. N 1. С. 19-24.

4. Демикова Н.С., Лапина А.С., Подольная М.А., Кобринский Б.А. Динамика частоты врожденных пороков развития в РФ (по данным федеральной базы мониторинга ВПР за 2006-2012 гг.) / Н.С. Демикова [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015. N 2. С. 72-77.

5. Лазарев К.Ю., Голубцов В.И. Анализ структуры и распространенности изолированных врожденных пороков развития системы кровообращения среди новорожденных Краснодарского края (по результатам мониторинга 1998-2009гг) // Кубанский научный медицинский вестник. 2010. Т. 2, N 125. С. 95-100.

6. Особенности эпидемиологии врожденных пороков сердца у детей г. Кемерово как крупного промышленного центра / А.В. Шабалдин [и др.] // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2014. N 4. С. 38-46.

7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера, 2002. 312 с.

8. A Novel Polymorphism in the Promoter of the CYP4A11 Gene Is Associated with Susceptibility to Coronary Artery Disease / S. Sirotina [et al.] // Dis Markers. 2018. P. 5812802. doi: 10.1155/2018/5812802.

9. Chamorro J.G. The distribution of allelic and genotypic frequencies of N-Acetyltransferase-2 variants in an Argentine population // J infect dev ctries. 2012. Vol. 6(9). P. 671-674.

10.Cotoa,e E. Functional polymorphisms in the *CYP3A4*, *CYP3A5*, and *CYP21A2* genes in the risk for hypertension in pregnancy // Biochemical and biophysical research communications. 2010. Vol. 397(3). P. 576-579.

11.Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene-gene and gene-smoking interactions in disease susceptibility / I. Azarova [et al.] // J Diabetes. 2018. Vol. 10(5). P. 398-407. doi: 10.1111/1753-0407.12623.

12.Haiyan J. Association of *CYP1B1* Polymorphisms with breast cancer: a case-control study in the han population in ningxia hui autonomous region, P.R. China // Biomarker insights. 2010. N 5. P. 21-27.

13.Polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 and risk of coronary heart disease in Russian population / A. Polonikov [et al.] // Gene. 2017. N 627. P. 451-459. doi: 10.1016/j.gene.2017.07.004.

14.Robert A.M. Tacrolimus pharmacokinetics and pharmacogenetics: influence of adenosine triphosphate-binding cassette B1 (*ABCB1)* and cytochrome *(CYP) 3A* polymorphisms // Fundamental and clinical pharmacology. 2007. Vol. 21(4). P. 427-435.

15.Saab Y.B., Robert A.M., Langaee T. Genetic Polymorphisms of *CYP2C9*: Comparison of Prevalence in the Lebanese Population with Other Populations // Pharmacology & Pharmacy. 2011. N 2. P. 88-93.

16.The contribution of CYP2C gene subfamily involved in epoxygenase pathway of arachidonic acids metabolism to hypertension susceptibility in Russian population / A. Polonikov [et al.] // Clin Exp Hypertens. 2017. Vol. 39(4). P. 306-311. doi: 10.1080/10641963.2016.1246562.

References

1. Shabaldin AV, Tsepokina AV, Shmulevich SA, et al. Vliyaniye sotsialnykh, meditsinskikh i ekologicheskikh faktorov na formirovaniye sporadicheskikh vrozhdennykh porokov serdtsa [Influence of social, medical and environmental factors on the formation of sporadic congenital heart defects]. Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii. 2018;63(1):14-21. Russian.

2. Bokeriya LA, Stupakov IN, Gudkova RG, et al. Vrozhdennyye anomalii (poroki) sistemy krovoobrashcheniya u naseleniya Rossii i ikh operativnoye lecheniye (2005-2014 gody) [Congenital anomalies (defects) of the circulatory system in the Russian population and their surgical treatment (2005-2014)]. Grudnaya i serdechno-sosudistaya khirurgiya. 2016;4:202-206. Russian.

3. Bogacheva EV, Antonov OV, Artyukova SI, et al. Vrozhdennyye poroki serdtsa: rasprostranennost' v populyatsii, faktory riska [Congenital heart diseases: prevalence in the population, risk factors]. Mat' i ditya v Kuzbasse. 2012;1:19-24. Russian.

4. Demikova NS, Lapina AS, Podol'naya MA, et al. Dinamika chastoty vrozhdennykh porokov razvitiya v RF (po dannym federal'noy bazy monitoringa VPR za 2006-2012 gg.) [The dynamics of the frequency of congenital malformations in the Russian Federation (according to the data of the Federal Monitoring Base of the VPR for 2006-2012)]. Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii. 2015;2:72-77. Russian.

5. Lazarev KYu, Golubtsov VI. Analiz struktury i rasprostranennosti izolirovannykh vrozhdennykh porokov razvitiya sistemy krovoobrashcheniya sredi novorozhdennykh Krasnodarskogo kraya (po rezul'tatam monitoringa 1998-2009gg) [Analysis of the structure and prevalence of isolated congenital malformations of the circulatory system among infants of the Krasnodar Territory (based on monitoring results of 1998-2009)]. Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik. 2010;2(125):95-100. Russian.

6. Shabaldin AV, Glebova LA, Bachina AV, et al. Osobennosti epidemiologii vrozhdennykh porokov serdtsa u detey g. Kemerovo kak krupnogo promyshlennogo tsentra [Peculiarities of epidemiology of congenital heart disease in children of Kemerovo as a large industrial center]. Kompleksnyye problemy serdechno-sosudistykh zabolevaniy. 2014;(4):38-46. Russian.

7. Rebrova OYu. Statisticheskiy analiz meditsinskikh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA software package]. M.: Media Sfera; 2002. Russian.

8. Sirotina S, Ponomarenko I, Kharchenko A, et al. A Novel Polymorphism in the Promoter of the CYP4A11 Gene Is Associated with Susceptibility to Coronary Artery Disease. Dis Markers. 2018 Feb 1;2018:5812802. doi: 10.1155/2018/5812802.

9. Chamorro JG. The distribution of allelic and genotypic frequencies of N-Acetyltransferase-2 variants in an Argentine population. J infect dev ctries. 2012;6(9):671-674.

10.Cotoa,e E. Functional polymorphisms in the *CYP3A4*, *CYP3A5*, and *CYP21A2* genes in the risk for hypertension in pregnancy. Biochemical and biophysical research communications. 2010;397(3):576-579.

11.Azarova I, Bushueva O, Konoplya A, et al. Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene-gene and gene-smoking interactions in disease susceptibility. J Diabetes. 2018 May;10(5):398-407. doi: 10.1111/1753-0407.12623.

12.Haiyan J. Association of *CYP1B1* Polymorphisms with breast cancer: a case-control study in the han population in ningxia hui autonomous region, P.R. China. Biomarker insights. 2010;5:21-27.

13.Polonikov A, Kharchenko A, Bykanova M, et al. Polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 and risk of coronary heart disease in

Russian population. Gene. 2017 Sep 5;627:451-459. doi: 10.1016/j.gene.2017.07.004.

14. Robert AM. Tacrolimus pharmacokinetics and pharmacogenetics: influence of adenosine triphosphate-binding cassette B1 (*ABCB1)* and cytochrome *(CYP) 3A* polymorphisms. Fundamental and clinical pharmacology. 2007;21(4):427-435.

15. Saab YB, Robert AM, Langaee T. Genetic Polymorphisms of *CYP2C9*: Comparison of Prevalence in the Lebanese Population with Other Populations. Pharmacology & Pharmacy. 2011;2:88-93.

16. Polonikov A, Bykanova M, Ponomarenko I, et al. The contribution of CYP2C gene subfamily involved in epoxygenase pathway of arachidonic acids metabolism to hypertension susceptibility in Russian population. Clin Exp Hypertens. 2017;39(4):306-311. doi: 10.1080/10641963.2016.1246562.

Лазарев Константин Юрьевич, кандидат медицинских наук, доцент, кафедра биологии с курсом медицинской генетики.
Брайко Ольга Павловна, кандидат биологических наук, ассистент, кафедра биологии с курсом медицинской генетики.

Lazarev Konstantin Yurevich, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Biology with a Course in Medical Genetics.
Braiko Olga Pavlovna, Candidate of Biological Sciences, Assistant, Department of Biology with a Course in Medical Genetics.

Статья поступила в редакцию 6 апреля 2018 г.

УДК 618.1:612.017.11 **DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-1**

Лебедева О.П.[1], Кирко Р.[2,3]

ЭКСПРЕССИЯ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ЖЕНСКОМ РЕПРОДУКТИВНОМ ТРАКТЕ И ЕЕ ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет»,
394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, 1
[2] Тиранский медицинский университет,
Тирана, Албания
[3] Тиранский университетский госпиталь «Королева Жеральдин»,
Тирана, Албания
E-mail: safonova2@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность.* Толл-подобные рецепторы (TLR) являются основными рецепторами системы врожденного иммунитета, первыми распознающими лиганды бактерий, вирусов, грибов и простейших и инициирующими иммунный ответ. Однако комплексных обзоров, включающих новые данные об экспрессии и функции TLR во всех отделах женских половых путей (в том числе в яичниках и маточных трубах) и влиянии на них половых гормонов, до настоящего времени не проводилось. *Цель исследования.* Провести анализ данных литературы, посвященной экспрессии TLR во влагалище, экто- и эндоцервиксе, матке, маточных трубах и яичниках и ее гормональной регуляции. *Материалы и методы.* Проведен анализ публикаций по теме исследования в базах данных Pubmed, Google Academy, Scopus, Elibrary, ResearchGate, EBSCO за последние 20 лет. *Результаты.* В обзоре представлены новые данные об экспрессии TLR во влагалище, экто- и эндоцервиксе, матке, маточных трубах и яичниках. Описана роль TLR не только в индукции иммунного ответа и обеспечении защиты от инфекций, но и в регуляции капацитации сперматозоидов и в оплодотворении. Дана оценка влияния половых гормонов (эстрадиола, прогестерона) на экспрессию и функцию TLR. *Заключение.* Все отделы женских половых путей экспрессируют TLR. Экспрессия TLR находится под влиянием половых гормонов и является максимальной в секреторную фазу цикла. TLR принимают участие не только в защите репродуктивного тракта от инфекций, но и в процессах репродукции (капацитации, оплодотворении, защите гамет и эмбрионов).

Ключевые слова: толл-подобные рецепторы; TLR; врожденный иммунитет; инфекции; капацитация; оплодотворение; эстрадиол; прогестерон

Информация для цитирования: Лебедева О.П., Кирко Р. Экспрессия толл-подобных рецепторов в женском репродуктивном тракте и ее гормональная регуляция // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 50-65. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-1

O.P. Lebedeva[1], R. Qirko[2,3]

EXPRESSION OF TOLL-LIKE RECEPTORS IN THE FEMALE REPRODUCTIVE TRACT AND ITS HORMONE REGULATION

[1] Voronezh State University,
1 Universitetskaya Sq., Voronezh, 394018, Russia
[2] University of Medicine of Tirana,
Tirana, Albania
[3] Queen Geraldine University Hospital of Tirana,
Tirana, Albania
E-mail: safonova2@yandex.ru

Abstract. *Background*. Toll-like receptors (TLR) are the main receptors of the innate immune system, recognizing ligands of bacteria, viruses, fungi and protozoa and inducing immune response. However, complex reviews of new data about expression and function of TLR in all organs of the female reproductive tract (including fallopian tubes and ovaries) and its hormone regulation have not been carried out. *The aim of the study*. To perform an up-to-date review of the literature concerning expression of TLR in the vagina, ecto- and endocervix, uterus, fallopian tubes and ovaries and its hormone regulation. *Materials and methods.* The analysis of publications over the past 20 years in databases Pubmed, Google Academy, Scopus, Elibrary, ResearchGate, EBSCO has been carried out. *Results.* The review presents new data on the expression of TLR in the vagina, ecto- and endocervix, uterus, fallopian tubes and ovaries. The role of TLR is described not only in inducing an immune response and providing protection against infections, but also in regulating the capitation of spermatozoa and in fertilization. The effect of sex hormones (estradiol, progesterone) on expression and TLR function is estimated. *Conclusion.* TLR expression was found in all organs of the female reproductive tract. Expression of TLR is under the influence of sex hormones and is the maximum in the secretory phase of the menstrual cycle. TLR take part not only in defense of the reproductive tract against infections, but also in reproduction (capacitation of spermatozoa, fertilization, protection of gametes and embryos).

Keywords: toll-like receptors; TLR; innate immunity; infections; capacitation; fertilization; estradiol; progesterone

Information for citation: Lebedeva OP, Qirko R. Ekspressiya toll-podobnykh retseptorov v zhenskom reproduktivnom trakte i yeye gormonal'naya regulyatsiya [Expression of toll-like receptors in the female reproductive tract and its hormone regulation]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):50-65. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-1

Введение. Особенностью репродуктивной системы женщины является ее способность осуществлять защиту от патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, обеспечивать оплодотворение и развитие плода, а также поддерживать тканевой гомеостаз в ответ на физиологическую травму тканей (десквамацию эндометрия, овуляцию).

Основными звеньями антиинфекционной защиты репродуктивного тракта являются эпителий слизистой оболочки, клетки иммунной системы и продуцируемые ими биологически активные вещества, а также нормальная микрофлора влагалища. Все эти компоненты зависят от эндо- и экзогенных воздействий, главными из которых являются эндокринные.

Первой линией иммунной защиты является система врожденного (неспецифического) иммунитета, способная распознавать консервативные структуры бактерий, вирусов, грибов, простейших, а также вещества, образующиеся при повреждении клеток организма хозяина.

TLR и их сигнальные пути

Основными рецепторами системы врожденного иммунитета являются Толл-подобные рецепторы (TLR). TLR экспрессируются на эпителиальных клетках, моноцитах, макрофагах, дендритных клетках, нейтрофилах и натуральных киллерах [29, 50]. Есть также данные о том, что TLR есть и на клетках системы адаптивного (приобретенного) иммунитета – T- и B- лимфоцитах [30]. TLR способны запускать и регулировать интенсивность иммунного ответа, стимулируя синтез провоспалительных цитокинов, хемокинов, антимикробных пептидов и активируя систему адаптивного иммунитета.

У человека существует 10 TLR, каждый из которых связывается со специфическими лигандами. В целом лиганды TLR можно разделить на две большие группы: патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) и молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (danger-associated molecular patterns, DAMPs) [50]. Спектр натуральных и синтетических лигандов, способных активировать TLR, широко описан в литературе [4, 5, 42]. Основные лиганды и сигнальные пути TLR представлены на рисунках 1 и 2.

TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10 располагаются на клеточной мембране и распознают бактериальные лиганды. TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 экспрессируются в цитоплазматических органеллах, преимущественно в эндосомах, лизосомах, эндолизосомах и эндоплазматическом ретикулуме. TLR3 распознает двухцепочечную РНК вирусов, TLR7 и TLR8 распознают преимущественно собственную и вирусную одноцепочечную РНК. TLR9 распознает неметилированную ДНК, преимущественно бактериальной природы [11, 42]. Лиганд TLR10 неизвестен, но предполагают, что он имеет бактериальную природу [23].

Все TLR, за исключением TLR3, используют MyD88-зависимый путь передачи сигнала. TLR3 использует для передачи сигнала адаптерную молекулу TRIF (MyD88-независимый путь передачи сигнала). TLR4 является единственным рецептором, который может использовать для передачи сигнала как MyD88, так и TRIF. Для его активации также необходим белок TRAM. В конечном итоге все вышеуказанные сигнальные пути активируют нуклеарный фактор-κB (NF-κB) и активаторный белок-1 (AP-1). Эта особенность является общей для всех TLR и приводит к синтезу провоспалительных цитокинов, основными из которых являются интерлейкин-6 (IL-6) и интерлейкин-8 (IL-8). TLR3, TLR4, TLR7, TLR8 и TLR9 также активируют интерферон-регулирующий фактор (IRF) 3 и/или IRF7, что приводит к синтезу интерферонов α и β [5, 42].

TLR обнаружены во всех отделах женской репродуктивной системы. В настоящее время доказано их участие не только в защите от неспецифических и специфических микроорганизмов, но и в регуляции овуляции, капацитации сперматозоидов, оплодотворении, имплантации, течении беременности и родов [2, 3, 32, 34, 37, 40, 51, 60].

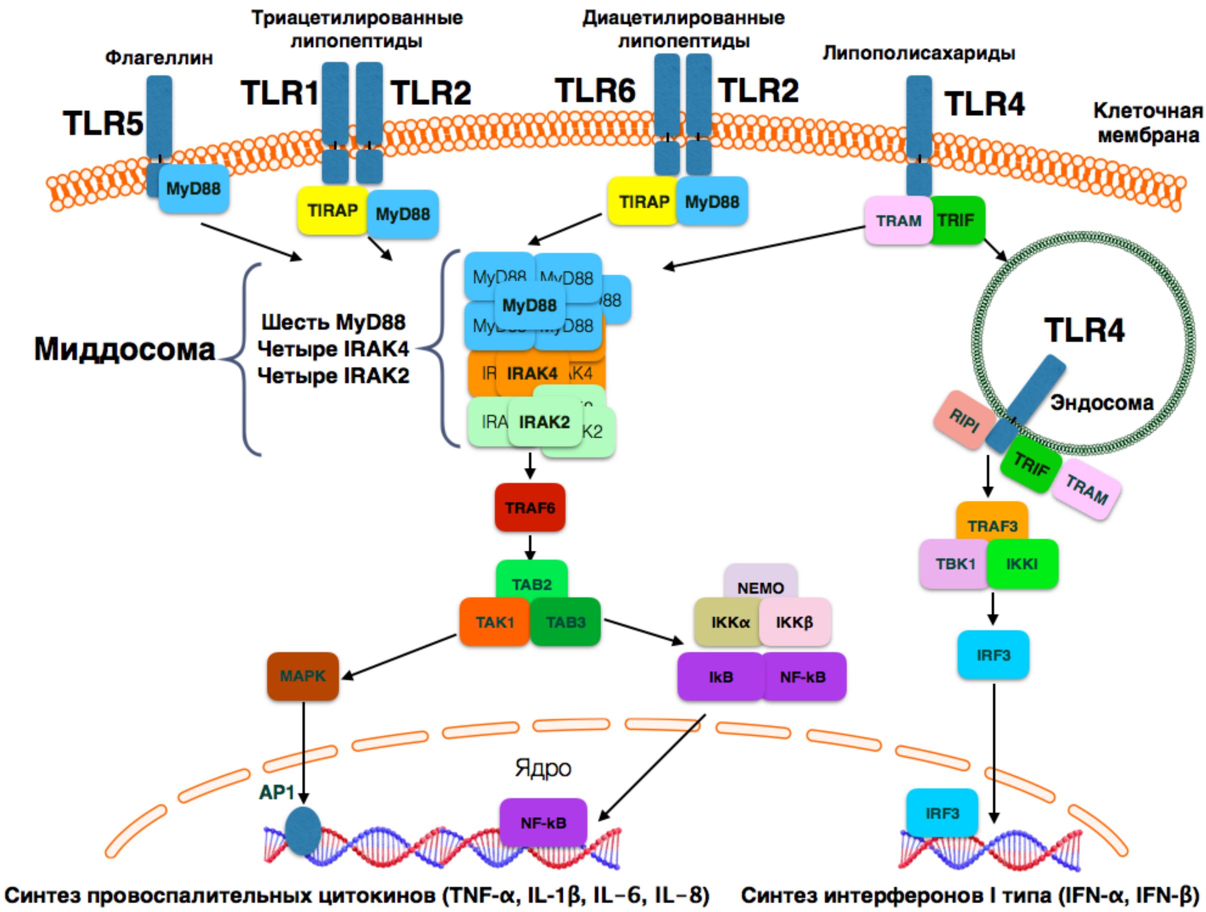


Рис. 1. TLR, распознающие преимущественно бактериальные лиганды, и их сигнальные пути (по S. Pandey et al. (2015) [42], в модификации)
Fig. 1. TLR, recognizing predominantly bacterial ligands, and their signal pathways (by S. Pandey et al. (2015) [42], in modification)

Экспрессия TLR в женском репродуктивном тракте

Влагалище и шейка матки. Эпителиоциты влагалища, влагалищной части шейки матки и эндоцервикса экспрессируют все типы TLR. TLR2 также экспрессируются в гладкомышечных клетках влагалища, TLR5 – в гладкомышечных клетках влагалища и эндотелии его сосудов, а TLR3 и TLR6 – в стромальных фибробластах. В шейке матки экспрессия TLR1 , TLR2 и TLR4 обнаружена в гладкомышечных клетках, TLR5 – в гладкомышечных клетках и эндотелии сосудов, TLR3 – в стромальных фибробластах [40].

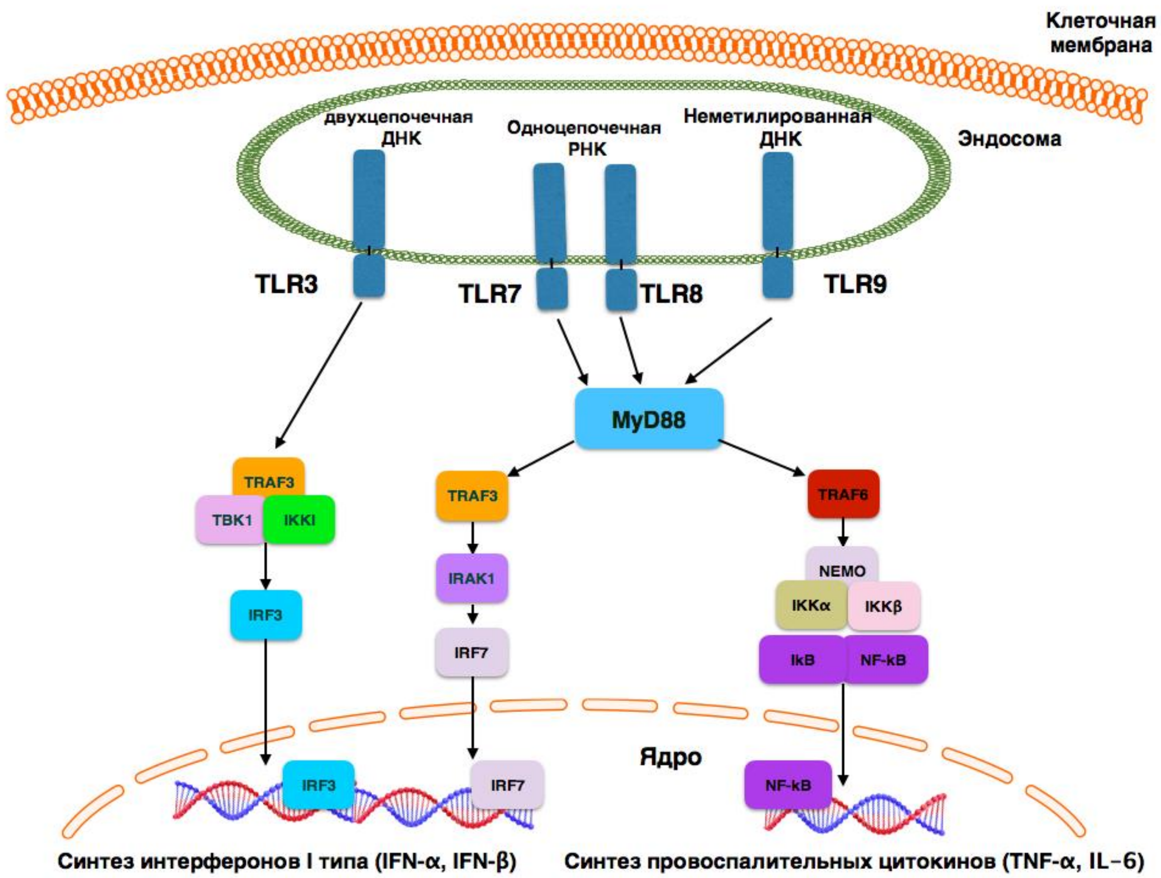


Рис. 2. TLR, распознающие преимущественно вирусные лиганды, и их сигнальные пути (по S. Pandey et al. (2015) [42], в модификации)
Fig. 2. TLR, recognizing predominantly viral ligands, and their signal pathways (by S. Pandey et al. (2015) [42], in modification)

Известно, что экспрессия TLR2 и TLR4 гораздо меньше в нижних отделах женский половых путей по сравнению с верхними отделами. Это свидетельствует о том, что индукция иммунного ответа в нижних отделах половых путей значительно снижена в связи с наличием собственной нормальной микрофлоры, в то время как верхние отделы способны индуцировать выраженный иммунный ответ при попадании микроорганизмов [43]. В то же время TLR7, TLR8 и TLR9 равномерно экспрессируются на протяжении всех отделов женских половых путей, что свидетельствует о том, что распознавание вирусов происходит в них практически одинаково [24, 57].

Эндометрий. В эпителиальных клетках и строме эндометрия экспрессируются все типы TLR [9, 47]. Экспрессия TLR на уровне матричной РНК (мРНК), белка, а также наличие функционального ответа на лиганды (выработка цитокинов) представлены в таблице 1 [49].

Таблица 1

Экспрессия мРНК и белка TLR, а также их функциональный ответ в клетках эпителия и стромы эндометрия (по Sheldon I.M., Bromfeld J.J., 2011 [49], с дополнениями)

Table 1

mRNA and protein expression of TLR and their function in epithelial cells and stroma of endometrium (by Sheldon I.M., Bromfeld J.J., 2011 [49], with additions)

Рецептор	мРНК	Белок	Функция
TLR1	Эпителий [58]	Эпителий [18]	Эпителий [13]
TLR2	Эпителий [25, 58] Строма [25, 26]	Эпителий [18, 25, 43] Строма [25]	Эпителий [13]
TLR3	Эпителий [25, 48, 58]	Эпителий [10, 18]	Эпителий [48]
TLR4	Эпителий ([26, 58] Строма [25, 26]	Эпителий [10, 18, 26, 43] Строма [25, 26]	Эпителий [13, 26] Строма [26]
TLR5	Эпителий [58]	Эпителий [18]	Эпителий [7]
TLR6	Эпителий [48, 58]	Эпителий [18]	
TLR7	Эпителий [48]	Эпителий [8] Строма [8]	Эпителий [24]
TLR8	Эпителий [48]	Эпителий [8] Строма [8]	Эпителий [24]
TLR9	Эпителий [58] Строма [8]	Эпителий [8] Строма [8]	Эпителий [24]
TLR10	Не выделен/ Эпителий [48, 58]	Эпителий [8] Строма [8]	Лиганд неизвестен

TLR1 также экспрессируется в натуральных киллерах, эндотелии и гладкомышечных клетках матки, TLR2 – в натуральных киллерах, TLR3 и TLR7 – клетках стромы и натуральных киллерах, TLR4 – в гладкомышечных клетках и натуральных киллерах, TLR8, TLR9 и TLR10 – в клетках стромы [40].

Маточные трубы. Маточные трубы представляют собой орган, выполняющий важную роль в трансфере гамет, завершении их созревания, оплодотворении, раннем развитии эмбриона и его транспорте в полость матки [38]. В маточной трубе выделяют 3 слоя: слизистая оболочка, мышечный и серозный слой. Слизистая оболочка представлена однослойным цилиндрическим реснитчатым эпителием, между клетками которого имеются низкие эпителиальные секреторные клетки [1]. Эпителий маточных труб подвергается циклическим изменениям под действием эстрогенов и прогестерона [38].

Эпителий маточных труб функционирует как часть системы врожденного иммунитета, осуществляя защиту от патогенов, попадающих в верхние отделы половых путей. В маточных трубах была выявлена экспрессия мРНК TLR 1-10, а также белка их сигнального пути MyD88 и рецептора CD14 (образующего комплекс с TLR4 на клетках миелоидного ряда для распознавания липополисахаридов) [24, 43, 60]. Экспрессия TLR 1-6 в маточных трубах на уровне белка была выявлена методом иммуногистохимического анализа [18, 43]. Экспрессия TLR4 на уровне мРНК и белка была также выявлена в стромальных фибробластах маточных труб [28]. Однако в одном исследовании не удалось выявить экспрессию мРНК TLR10 в эпителии маточных труб у пациенток с пременопаузе [21].

F. Amjadi et al. (2018) при раздельном культивировании клеток реснитчатого эпителия и секреторных клеток маточных труб, полученных интраоперационно, установили, что они имеют различную экспрессию TLR (табл. 2).

Таблица 2

Экспрессия мРНК и белка TLR реснитчатыми и секреторными эпителиальными клетками и клетками стромы маточных труб (по Amjadi F. et al., 2018) [11]

Table 2

mRNA and protein expression of TLR by ciliated and non-ciliated (secretory) cells of the fallopian tubes (by Amjadi F. et al., 2018) [11]

Рецептор	Реснитчатый эпителий		Секреторный эпителий		Строма
	РНК	Белок	РНК	Белок	Белок
TLR1	+	+	+	+	-
TLR2	+	+	+	+	-
TLR3	+	+	+	+	-
TLR4	+	+	+	+	-
TLR5	+	+	+	+	-
TLR6	+	+	+	+	-
TLR7	+	+	+	+	±
TLR8	+	+	+	+	-
TLR9	+	+	+	-	±
TLR10	+	+	+	-	-

Методом иммуногистохимического исследования на уровне белка в клетках реснитчатого эпителия была выявлена экспрессия TLR 1-10, в то время как в клетках секреторного – только TLR 1-8. В клетках стромы наблюдалась только слабая экспрессия TLR7 и TLR9, в то время как остальные TLR не экспрессировались совсем. На уровне мРНК TLR 1-10 экспрессировались как в клетках реснитчатого эпителия, так и в секреторных клетках маточных труб. Тем не менее, в клетках реснитчатого эпителия экспрессия мРНК TLR 1-10 была достоверно выше. Выработка IL-6 и IL-8 в ответ на пептидогликан, полицитидиловую кислоту (poly I:C), CpG, форбол миристат ацетат, флагеллин и локсорибин также была достоверно выше в клетках реснитчатого эпителия. В то же время в другом исследовании не было выявлено активации TLR2 в эпителии маточных труб в ответ на зимозан (лиганд дрожжеподобных грибов) [21].

Роль экспрессии TLR в маточных трубах пока изучена недостаточно. Известно, что, наряду с распознаванием и элиминацией патогенов, они участвуют в процессах репродукции. Так, может происходить физиологическая стимуляция TLR3 и TLR5 в маточных трубах компонентами спермы, что, вероятно, необходимо для создания среды, обеспечивающей сохранность гамет и зиготы [59].

Стимуляция TLR приводит к выработке провоспалительных цитокинов и простагландинов, повышающих проницаемость сосудистой стенки и стимулирующих мышечные сокращения. IL-6 и IL-8, выработка которых увеличивается при стимуляции TLR, являются основными медиаторами воспалительного процесса. Однако их функция также не исчерпывается участием в иммунном ответе. Известно, что они принимают участие в дифференцировке клеток и развитии эмбриона [16].

Маточные трубы также играют большую роль в транспорте сперматозоидов, гамет и зиготы. Известно, что движения реснитчатого эпителия меняются в зависимости от уровня гормонов. Неблагоприятными факторами, нарушающими подвижность реснитчатого эпителия, являются инфекции, курение, а также эндометриоз [14, 45]. TLR способны распознавать как экзогенные, так и эндогенные лиганды и реагировать н них. В ответ на присутствие липополисахаридов в маточной трубе наблюдается увеличение движения секрета и частоты мерцания ресничек [41]. Также известно, что сигаретный дым, так же как и липополисахариды бактерий, способен стимулировать продукцию IL-8 в макрофагах путем активации TLR4 [33]. Однако влияние компонентов сигаретного дыма на экспрессию и функцию TLR в маточных трубах пока еще не изучалось. Тем не менее, можно предположить, что TLR играют более важную роль в защите от инфекций и в процессах репродукции, чем предполагалось ранее.

Яичники. Доказано, что TLR 1-9 экспрессируются гранулезными клетками и поверхностным эпителием яичника. В клетках стромы яичника большинство TLR не экспрессируются или выявляются в очень незначительном количестве (табл. 3) [61]. Экспрессия TLR10 в данной работе не изучалась.

Также была выявлена экспрессия TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR9 и TLR10 в клетках яйценосного бугорка (cumulus oophorus), полученных у пациенток, которым проводилось экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) [22].

Исследование роли TLR эпителия яйценосного бугорка в процессах репродукции проводилось в эксперименте на мышах, у которых была выявлена экспрессия TLR2, TLR4, TLR8 и TLR9 [51, 52]. Перед овуляцией в яйценосном бугорке синтезируется матрикс, содержащий большое количество длинных фрагментов гиалуроновой кислоты, которые не распознаются TLR [46]. Однако во время овуляции яйцеклетка, окруженная клетками яйценосного бугорка, попадает в маточную трубу. При половом контакте сперматозоиды в результате акросомальной реакции выделяют гиалуронидазу, которая расщепляет длинные цепи гиалуроновой кислоты до коротких фрагментов, стимулирующих TLR2 и TLR4. Это приводит к выработке цитокинов и хемокинов через активацию NF-kB. Они, в свою очередь, стимулируют капацитацию сперматозоидов, тем самым увеличивая вероятность оплодотворения [52]. Тем не менее, мыши, нокаутированные по TLR4, успешно размножаются при выращивании в стерильных условиях [27, 44].

Таблица 3

Экспрессия TLR 1-9 на уровне белка, выявленная иммуногистохимическим методом, в яичнике (по Zhou M. et al., 2009) [61]

Table 3

Protein expression of TLR 1-9 in the ovary, detected by immunohistochemistry (by Zhou M. et al., 2009) [61]

	Эпителий	Строма
TLR1	+	-
TLR2	+++	±
TLR3	+++	-
TLR4	+++	±
TLR5	+++	-
TLR6	++	+
TLR7	+	-
TLR8	++	±
TLR9	+	±

TLR также способны распознавать лиганды микроорганизмов в фолликулярной жидкости. Так, на модели животных (крысы) было показано, что липополисахариды стимулируют атрезию фолликулов и апоптоз гранулезных клеток, уменьшают выработку прогестерона [12], а *in vitro* снижают способность гранулезных клеток синтезировать эстрадиол [55]. Так как на гранулезных клетках находятся TLR, которые первыми распознают липополисахариды, можно предположить, что данные эффекты опосредуются через них. TLR4, как отмечалось выше, способен распознавать также и компоненты табачного дыма. Известно, что они присутствуют в том числе и в тканях яичника, в том числе в фолликулярной жидкости [14]. Однако влияние компонентов табачного дыма на экспрессию и функциюTLR в гранулезных клетках не изучалось.

Влияние липополисахаридов на процесс оплодотворения было установлено при проведении ЭКО еще в 80-е годы прошлого века. Так, частота возникновения беременности составляла только 8%, если концентрации липополисахаридов в культуральной среде была >1 нг/мл, по сравнению с 32% в тех случаях, когда липополисахариды в культуральной среде не обнаруживались [19].

У пациенток с бедным ответом яичников в клетках фолликулярной жидкости (гранулезные клетки, клетки яйценосного бугорка), полученной при пункции фолликулов в программах ЭКО, было выявлено увеличение экспрессии мРНК TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 и TLR6 по сравнению с пациентками того же возраста (< 35 лет) с нормальным овариальным ответом. При этом в фолликулярной жидкости у пациенток с бедным ответом яичников наблюдалось увеличение провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8 и фактора ингибирования миграции макрофагов (MIF)), синтезируемых при стимуляции вышеуказанных рецепторов [54]. Авторы предполагают, что активация TLR приводит к Fas-зависимой индукции апоптоза фолликулов. Кроме того, IL-6 снижает активность ароматазы в фолликулах, а IL-8 является хемокином для лимфоцитов и макрофагов. Они, в свою очередь, способствуют высвобождению активных форм кислорода, активирующих TLR2 и TLR6. Это может приводить к формированию порочного круга. Таким образом, наличие бактериальной инфекции в придатках матки и/или избыточный иммунный ответ на нее может быть причиной нарушений процесса фолликулогенеза.

Гормональная регуляция экспрессии TLR в женском репродуктивно тракте

Женский репродуктивный тракт в течение менструального цикла находится под влиянием половых гормонов [57].

Хотя TLR экспрессируются в женских половых путях в течение всего менструального цикла, экспрессия TLR 2-6, TLR9 и TLR10 достоверно выше в секреторную фазу цикла [8, 9, 31, 36].

В фолликулярную фазу цикла, когда уровень прогестерона является наименьшим, уровень эстрадиола является наиболее высоким. Это может свидетельствовать об ингибирующем эффекте эстрадиола и/или стимулирующем влиянии прогестерона на экспрессию TLR в женских половых путях, особенно в эндометрии [60].

Чтобы установить влияние половых гормонов на экспрессию и функцию TLR, были проведены исследования на культурах клеток и выявлено, что эстрадиол *in vitro* снижает экспрессию мРНК TLR4 в фибробластах матки и мРНК TLR2 и TLR6 в клеточной линии эпителия влагалища VK2, но не влияет на экспрессию других TLR [35, 56].

Прогестерон увеличивает экспрессию TLR4 в фибробластах, что позволяет предположить, что эти клетки более чувствительны к бактериальным патогенам в секреторной фазе цикла [25].

Эстрадиол также влияет на функцию TLR. Он подавляет секрецию MIF, IL-6 и IL-8, вызванную липополисахаридами (лигандами TLR4) и poly I:C (лигандом TLR3) в клетках эпителия матки [16, 48]. Прогестерон не оказывает влияния на синтез цитокинов, индуцированный poly I:C [35].

Кроме того, эстрадиол способен непосредственно влиять на NF-κB – ключевой белок сигнального пути TLR, ограничивая его транслокацию из цитоплазмы в ядро (и тем самым препятствуя запуску транскрипции генов цитокинов) и предотвращая деградацию ингибиторов NF-κB [20, 39]. Эстрадиол также стимулирует синтез секреторного ингибитора лейкоцитарных протеаз (SLPI) – антимикробного пептида с выраженным противовоспалительным действием, который способен ингибировать экспрессию NF-κB [53].

Zandieh et al. (2016) исследовали влияние эстрадиола и прогестерона в концентрациях, соответствующих фазам цикла, в культуре эпителиальных **клеток маточных труб** OE-E6/E7, экспрессирующих мРНК TLR 1-6. Авторы не выявили различий в экспрессии TLR в ответ на различные концентрации эстрадиола и прогестерона при их раздельном применении. Однако при изучении влияния комбинации данных гормонов, соответствующих различным фазам цикла, было выявлено увеличение экспрессии мРНК TLR 1-6 в сочетании их концентраций, соответствующих окну имплантации. При использовании антагониста эстрогеновых рецепторов фульвестранта и антагониста прогестероновых рецепторов мифепристона происходило подавление экспрессии TLR, индуцированной комбинированным действием эстрадиола и прогестерона [60].

Таким образом, экспрессия TLR в маточных трубах зависит от комбинированного действия эстрогенов и прогестерона и, так же как и в эндометрии, является максимальной в секреторную фазу цикла. По-видимому, это связано с необходимостью обеспечения максимальной защиты оплодотворенной яйцеклетки во время ее движения по маточной трубе.

На экспериментальной модели (мыши) было показано, что экспрессия TLR4 **в яичнике** увеличивается под действием фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и амфирегулина, который является лигандом рецептора эпидермального фактора роста (EGF) [51].

Известно, что половые гормоны влияют на функцию TLR не только в органах женского репродуктивного тракта, но и в клетках периферической крови [15]. Было показано, что в фолликулярную фазу наблюдаются более низкие уровни IL-6 и фактора некроза опухоли-α (TNF-α) при стимуляции агонистами TLR2; IL-1β, IL-6 и TNF-α при стимуляции липополисахаридами (лигандами TLR4) и IL-1β и TNF-α при стимуляции флагеллином (лигандом TLR5) по сравнению с лютеиновой фазой менструального цикла.

Заключение. Таким образом, экспрессия TLR в женском репродуктивном тракте неравномерна. Она отличается в нижних и верхних отделах половых путей. Нижние отделы адаптированы к нестерильной и постоянно меняющейся среде, содержащей разнообразные микроорганизмы, в то время как в верхних отделах задачей иммунной системы является поддержание стерильности, необходимой для развития эмбриона. TLR экспрессируются в маточных трубах и яичниках, принимая участие в защите гамет и зиготы, а также капацитации сперматозоидов и оплодотворении.

Экспрессия TLR в женском репродуктивном тракте зависит от уровней половых гормонов и является максимальной в секреторную фазу цикла. По-видимому, это связано с необходимостью поддержания стерильной среды в момент продвижения яйцеклетки, а затем и зиготы в полость матки. Роль TLR в процессах репродукции еще только изучается, но полученные данные уже говорят о том, что она гораздо шире, чем защита органов репродуктивной системы от патогенов.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МД-2326.2017.7.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Василевская Л.Н. Гинекология: учебник. Ростов-на-Дону: Феникс, 2009.
2. Лебедева О.П. Прогнозирование, ранняя диагностика и обоснование профилакти-

ки инфекционно-воспалительных осложнений гестационного процесса [дисс…д.мед.наук]. Москва: РУДН, 2014.

3. Лебедева О.П., Пахомов С.П., Карпов П.А., с соавт. Роль Толл-подобных рецепторов врожденного иммунитета в развитии акушерской и гинекологической патологии. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2012. N 1. С. 19-26.

4. Лебедева ОП, Калуцкий ПВ, Пахомов СП, с соавт. Толл-подобные рецепторы женского репродуктивного тракта и их лиганды. Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2010. Т. 12, N 22. С. 31-35.

5. Тухватулин А.И., Логунов Д.Ю., Щербинин Д.Н., с соавт. Toll-подобные рецепторы и их адапторные молекулы. Обзор. Биохимия. 2010. Т. 75, N 9. С. 1224-1243.

6. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Иммунология: атлас. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011.

7. Aboussahoud W., Aflatoonian R., Bruce C., et al. Expression and function of Toll-like receptors in human endometrial epithelial cell lines. Journal of reproductive immunology. 2010. Vol. 84(1). P. 41-51.

8. Aflatoonian R., Tuckerman E., Elliott S.L., et al. Menstrual cycle-dependent changes of Toll-like receptors in endometrium. Hum Reprod. 2007. N 22. P. 586-593.

9. Aflatoonian R., Fazeli A. Toll-like receptors in female reproductive tract and their menstrual cycle dependent expression. J Reprod Immunol. 2008. Vol. 77(1). P. 7-13.

10. Allhorn S., Boing C., Koch A.A., et al. TLR3 and TLR4 expression in healthy and diseased human endometrium. Reprod Biol Endocrinol 2008. N 6. P. 40.

11. Amjadi F., Zandieh Z., Salehi E., et al. Variable localization of Toll-like receptors in human fallopian tube epithelial cells. Clinical and experimental reproductive medicine. 2018. Vol. 45(1). P. 1-9.

12. Besnard N., Horne E.A., Whitehead S.A. Prolactin and lipopolysaccharide treatment increased apoptosis and atresia in rat ovarian follicles. Acta Physiol Scand 2001. N 172. P. 17-25.

13. Crane-Godreau M.A., Wira C.R. CCL20/macrophage inflammatory protein 3α and tumor necrosis factor alpha production by primary uterine epithelial cells in response to treatment with lipopolysaccharide or Pam3Cys. Infection and Immunity. 2005. Vol. 73(1). P. 476-484.

14. Dechanet C., Anahory T., Mathieu Daude J.C., et al. Effects of cigarette smoking on reproduction. Human Reproduction Update. 2011. Vol. 17(1). P. 76-95.

15. Dennison U., McKernan D.P., Scully P., et al. Menstrual Cycle Influences Toll-Like Receptor Responses. Neuroimmunomodulation 2012. N 19. P. 171-179.

16. Du M.R., Wang S.C., Li D.J. The integrative roles of chemokines at the maternal-fetal interface in early pregnancy. Cell Mol Immunol. 2014. N 11. P. 438-48.

17. Fahey J.V., Wright J.A., Shen L., et al. Estradiol selectively regulates innate immune function by polarized human uterine epithelial cells in culture. Mucosal Immunol. 2008. N 1. P. 317-325.

18. Fazeli A., Bruce C., Anumba D.O. Characterization of Toll-like receptors in the female reproductive tract in humans. Human Reproduction. 2005. Vol. 20(5). P. 1372-1378.

19. Fishel S., Jackson P., Webster J., et al. Endotoxins in culture medium for human in vitro fertilization. Fertil Steril. 1988. N 49. P. 108-111.

20. Ghisletti S., Meda C., Maggi A., et al. 17β-Estradiol inhibits inflammatory gene expression by controlling NF-κB intracellular localization. Mol. Cell Biol. 2005. N 25. P. 2957-2968.

21. Ghosh M., Schaefer T.M., Fahey J.V., et al. Antiviral responses of human fallopian tube epithelial cells to Toll-like receptor 3 agonist poly(I:C). Fertil Steril. 2008. Vol. 89(5 Suppl). P. 1497-506.

22. Gu B.X., Wang X., Yin B.L., et al. Abnormal expression of TLRs may play a role in lower embryo quality of women with polycystic ovary syndrome. Systems biology in reproductive medicine. 2016. Vol. 62(5). P. 353-358.

23. Guan Y, Ranoa DRE, Jiang S, et al. Human TLRs 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling. The Journal of Immunology. 2010. Vol. 184(9). P. 5094-5103.

24. Hart K.M., Murphy A.J., Barrett K.T., et al. Functional expression of pattern recognition receptors in tissues of the human female reproductive tract. Journal of Reproductive Immunology. 2009. Vol. 80(1-2). P. 33-40.

25. Hirata T., Osuga Y., Hamasaki K., et al. Expression of toll-like receptors 2, 3, 4, and 9 genes in the human endometrium during the menstrual cycle. J Reprod Immunol. 2007. N 74. P. 53-60.

26. Hirata T., Osuga Y., Hirota Y., et al. Evidence for the presence of Toll-like receptor 4 system in the human endometrium. J Clin Endocrinol Metab. 2005. Vol. 90(1). P. 548-556.

27. Hoshino K., Takeuchi O., Kawai T., et al. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the LPS gene product. J Immunol. 1999. N 162. P. 3749-3752.

28. Itoh H., Nasu K., Nishida M., et al. Human oviductal stromal fibroblasts, but not oviductal epithelial cells, express Toll-like receptor 4: the site- specific mucosal immunity of the human fallopian tube against bacterial infection. Am J Reprod Immunol. 2006. Vol. 56(2). P. 91-101.

29. Iwasaki A., Medzhitov R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. Science. 2010. Vol. 327(5963). P. 291-295.

30. Iwasaki A., Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. Nature immunology. 2015. Vol. 16(4). P. 343-353.

31. Jorgenson R.L., Young S.L., Lesmeister M.J., et al. Human endometrial epithelial cells cyclically express Toll-like receptor 3 (TLR3) and exhibit TLR3-dependent responses to dsRNA. Hum. Immunol. 2005. N 66. P. 469-482.

32. Kannaki T.R., Shanmugam M., Verma P.C. Toll-like receptors and their role in animal reproduction. Anim Reprod Sci. 2011. N 125. P. 1-12.

33. Karimi K., Sarir H., Mortaz E., et al. Toll-like receptor-4 mediates cigarette smoke-induced cytokine production by human macrophages. Respiratory research. 2006. Vol. 7(1). P. 66.

34. Lebedeva O., Pakhomov S., Ivashova O., et al. Expression of TLR1-10 and caspase-3 alfa at women with early miscarriages. Giornale Italiano di Ostetricia e Ginecologia. 2013. Vol. 35(1). P. 270-271.

35. Lesmeister M.J., Jorgenson R.L., Young S.L., et al. 17beta-estradiol suppresses TLR3-induced cytokine and chemokine production in endometrial epithelial cells. Reproductive Biology and Endocrinology. 2005. N 3. P. 74.

36. Lin Z., Xu J., Jin X., et al. Modulation of expression of Toll-like receptors in the human endometrium. Am. J. Reprod. Immunol. 2009. N 61. P. 338-345.

37. Liu Z., Shimada M., Richards J.S. The involvement of the Toll-like receptor family in ovulation. J Assist Reprod Genet. 2008. N 25. P. 223-8.

38. Lyons R.A., Saridogan E., Djahanbakhch O. The reproductive significance of human fallopian tube cilia. Hum Reprod Update. 2006. N 12. P. 363-72.

39. Murphy A.J., Guyre P.M., Pioli P.A. Estradiol suppresses NF-κB activation through coordinated regulation of let-7a and miR-125b in primary human macrophages. J. Immunol. 2010. N 184. P. 5029-5037.

40. Nasu K., Narahara H. Pattern recognition via the Toll-like receptor system in the human female genital tract. Mediators Inflamm. 2010. N 2010. P. 976024.

41. O'Doherty A.M., Di Fenza M., Kolle S. Lipopolysaccharide (LPS) disrupts particle transport, cilia function and sperm motility in an ex vivo oviduct model. Sci Rep. 2016. N 6. P. 24583.

42. Pandey S., Kawai T., Akira S. Microbial sensing by toll-like receptors and intracellular nucleic acid sensors. Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2015. Vol. 7(1). P. a016246.

43. Pioli P.A., Amiel E., Schaefer T.M., et al. Differential expression of Toll-like receptors 2 and 4 in tissues of the human female reproductive tract. Infect Immun. 2004. N 72. P. 5799-806.

44. Poltorak A., He X., Smirnova I., et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. Science. 1998. N 282. P. 2085-2088.

45. Raidt J., Werner C., Menchen T., et al. Ciliary function and motor protein composition of human fallopian tubes. Hum Reprod. 2015. N 30. P. 2871-80.

46. Richards JS. Ovulation: new factors that prepare the oocyte for fertilization. Mol Cell Endocrinol. 2005. N 234. P. 75-79.

47. Schaefer T.M., Desouza K., Fahey J.V., et al. Toll-like receptor (TLR) expression and TLR-mediated cytokine/chemokine production by human uterine epithelial cells. Immunology. 2004. N 112. P. 428-36.

48. Schaefer T.M., Fahey J.V., Wright J.A., et al. Innate immunity in the human female reproductive tract: antiviral response of uterine epithelial cells to the TLR3 agonist poly(I:C). J Immunol. 2005. N 174. P. 992-1002.

49. Sheldon I.M., Bromfield J.J. Innate immunity in the human endometrium and ovary. American Journal of Reproductive Immunology. 2011. Vol. 66(s1). P. 63-71.

50. Sheldon I.M., Owens S.E., Turner M.L. Innate immunity and the sensing of infection, damage and danger in the female genital tract. Journal of reproductive immunology. 2017. N 119. P. 67-73.

51. Shimada M., Hernandez-Gonzalez I., Gonzalez-Robanya I., et al. Induced expression of pattern recognition receptors in cumulus oocyte complexes: novel evidence for innate immune-like functions during ovulation. Mol Endocrinol. 2006. N 20. P. 3228- 39.

52. Shimada M., Yanai Y., Okazaki T., et al. Hyaluronan fragments generated by sperm-secreted hyaluronidase stimulate cytokine ⁄ chemokine production via the TLR2 and TLR4 pathway in cumulus cells of ovulated COCs, which may enhance fertilization. Development. 2008. N 135. P. 2001-2011.

53. Taggart C.C., Cryan S.A., Weldon S., et al. Secretory leucoprotease inhibitor binds to NF-κB binding sites in monocytes and inhibits p65 binding. J. Exp. Med. 2005. N 202. P. 1659-1668.

54. Taghavi S.A., Ashrafi M., Mehdizadeh M., et al. Toll-like receptors expression in follicular cells of patients with poor ovarian response. International journal of fertility and sterility. 2014. Vol. 8(2). P. 183-192.

55. Taylor C.C., Terranova P.F. Lipopolysaccharide inhibits in vitro luteinizing hormone-stimulated rat ovarian granulosa cell estradiol but not progesterone secretion. Biol Reprod. 1996. N 54. P. 1390-1396.

56. Wagner R., Johnson S. Probiotic lactobacillus and estrogen effects on vaginal epithelial gene expression responses to Candida albicans. J. Biomedi. Sci. 2012. N 19. P. 58.

57. Wira C.R., Rodriguez-Garcia M., Patel M.V. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. Nature reviews Immunology. 2015. Vol. 15(4). P. 217-30.

58. Young S.L., Lyddon T.D., Jorgenson R.L., et al. Expression of toll-like receptors in human endometrial epithelial cells and cell lines. Am J Reprod Immunol. 2004. N 5267-73.

59. Zandieh Z., Ashrafi M., Jameie B., et al. Evaluation of immunological interaction between spermatozoa and fallopian tube epithelial cells. Andrologia. 2015. N 47. P. 1120-30.

60. Zandieh Z., Amjadi F., Ashrafi M., et al. The effect of estradiol and progesterone on Toll like receptor gene expression in a human fallopian tube epithelial cell line. Cell Journal (Yakhteh). 2016. Vol. 17(4). P. 678-91.

61. Zhou M., McFarland-Mancini M.M., Funk H.M., et al. Toll-like receptor expression in normal ovary and ovarian tumors. Cancer Immunol Immunother. 2009. N 58. P. 1375-1385.

References

1. Vasilevskaya LN. Ginekologiya: uchebnik [Gynaecology: a tutorial]. Rostov-on-Don: Phoenix; 2009. Russian.

2. Lebedeva OP. Prognozirovanie, rannyaya diagnostika i obosnovanie profilaktiki infektsionno-vospalitel'nyh oslozhnenij gestatsionnogo protsessa [Prognosis, early diagnosis and prophylaxis of complications of gestation process, resulting from infectious inflammation][dissertation].Moscow: Russian University of Peoples' Friendship; 2014. Russian.

3. Lebedeva OP, Pakhomov SP, Karpov PA, et al. Rol' Toll-podobnyh retseptorov vrozhdennogo immuniteta v razvitii akusherskoj i ginekologicheskoj patologii [Significance of the innate immunity of toll-like receptors in the development of obstetric and gynecological disorders]. International Journal of immunopathology, allergology and infectology. 2012;1:19-26. Russian.

4. Lebedeva OP, Kalutsky PV, Pakhomov SP, et al. Toll-podobnye receptory zhenskogo reproduktivnogo trakta i ih ligandy [Toll-like receptors and their ligands] Scientific bulletin of Belgorod State University: Medicine and Pharmacy. 2010;12(22):31-35. Russian.

5. Tukhvatullin AI, Logunov DY, Scherbinin DN, et al. Toll-podobnye retseptory i ih adaptornye molekuly. Obzor [Toll-like receptors and their accessory molecules. Review]. Biochemistry (Moscow). 2010;75(9):1224-1243. Russian.

6. Khaitov RM, Yarilin AA, Pinegin BV. Immunologiya: atlas [Immunology: an atlas]. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. Russian.

7. Aboussahoud W, Aflatoonian R, Bruce C, et al. Expression and function of Toll-like receptors in human endometrial epithelial cell lines. Journal of reproductive immunology. 2010;84(1):41-51.

8. Aflatoonian R, Tuckerman E, Elliott SL, et al. Menstrual cycle-dependent changes of Toll-like receptors in endometrium. Hum Reprod. 2007;22:586-593.

9. Aflatoonian R, Fazeli A. Toll-like receptors in female reproductive tract and their menstrual cycle dependent expression. J Reprod Immunol. 2008;77(1):7-13.

10. Allhorn S, Boing C, Koch AA, et al. TLR3 and TLR4 expression in healthy and diseased human endometrium. Reprod Biol Endocrinol 2008;6:40.

11. Amjadi F, Zandieh Z, Salehi E, et al. Variable localization of Toll-like receptors in hu-

man fallopian tube epithelial cells. Clinical and experimental reproductive medicine. 2018;45(1):1-9.

12. Besnard N, Horne EA, Whitehead SA. Prolactin and lipopolysaccharide treatment increased apoptosis and atresia in rat ovarian follicles. Acta Physiol Scand 2001;172:17-25.

13. Crane-Godreau MA, Wira CR. CCL20/macrophage inflammatory protein 3α and tumor necrosis factor alpha production by primary uterine epithelial cells in response to treatment with lipopolysaccharide or Pam3Cys. Infection and Immunity. 2005;73(1): 476-484.

14. Dechanet C, Anahory T, Mathieu Daude JC, et al. Effects of cigarette smoking on reproduction. Human Reproduction Update. 2011;17(1): 76-95.

15. Dennison U, McKernan DP, Scully P, et al. Menstrual Cycle Influences Toll-Like Receptor Responses. Neuroimmunomodulation 2012;19:171-179.

16. Du MR, Wang SC, Li DJ. The integrative roles of chemokines at the maternal-fetal interface in early pregnancy. Cell Mol Immunol. 2014;11:438-48.

17. Fahey JV, Wright JA; Shen L, et al. Estradiol selectively regulates innate immune function by polarized human uterine epithelial cells in culture. Mucosal Immunol. 2008;1:317-325.

18. Fazeli A, Bruce C, Anumba DO. Characterization of Toll-like receptors in the female reproductive tract in humans. Human Reproduction. 2005;20(5):1372-1378.

19. Fishel S, Jackson P, Webster J, et al. Endotoxins in culture medium for human in vitro fertilization. Fertil Steril. 1988;49:108-111.

20. Ghisletti S, Meda C, Maggi A., et al. 17β-Estradiol inhibits inflammatory gene expression by controlling NF-κB intracellular localization. Mol. Cell Biol. 2005;25:2957-2968.

21. Ghosh M, Schaefer TM, Fahey JV, et al. Antiviral responses of human fallopian tube epithelial cells to Toll-like receptor 3 agonist poly(I:C). Fertil Steril. 2008;89(5 Suppl):1497-506.

22. Gu BX, Wang X, Yin BL, et al. Abnormal expression of TLRs may play a role in lower embryo quality of women with polycystic ovary syndrome. Systems biology in reproductive medicine. 2016;62(5):353-358.

23. Guan Y, Ranoa DRE, Jiang S, et al. Human TLRs 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling. The Journal of Immunology.2010;184(9):5094-5103.

24. Hart KM, Murphy AJ, Barrett KT, et al. Functional expression of pattern recognition receptors in tissues of the human female reproductive tract. Journal of Reproductive Immunology. 2009;80(1-2):33-40.

25. Hirata T, Osuga Y, Hamasaki K, et al. Expression of toll-like receptors 2, 3, 4, and 9 genes in the human endometrium during the menstrual cycle. J Reprod Immunol. 2007;74:53-60.

26. Hirata T, Osuga Y, Hirota Y, et al. Evidence for the presence of Toll-like receptor 4 system in the human endometrium. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(1):548-556.

27. Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, et al. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the LPS gene product. J Immunol. 1999;162:3749-3752.

28. Itoh H, Nasu K, Nishida M, et al. Human oviductal stromal fibroblasts, but not oviductal epithelial cells, express Toll-like receptor 4: the site- specific mucosal immunity of the human fallopian tube against bacterial infection. Am J Reprod Immunol. 2006;56(2):91-101.

29. Iwasaki A, Medzhitov R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. Science. 2010;327(5963):291-295.

30. Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. Nature immunology. 2015;16(4):343-353.

31. Jorgenson RL, Young SL, Lesmeister MJ, et al. Human endometrial epithelial cells cyclically express Toll-like receptor 3 (TLR3) and exhibit TLR3-dependent responses to dsRNA. Hum. Immunol. 2005;66:469-482.

32. Kannaki TR, Shanmugam M, Verma PC. Toll-like receptors and their role in animal reproduction. Anim Reprod Sci 2011;125:1-12.

33. Karimi K, Sarir H, Mortaz E, et al. Toll-like receptor-4 mediates cigarette smoke-induced cytokine production by human macrophages. Respiratory research. 2006;7(1):66.

34. Lebedeva O, Pakhomov S, Ivashova O, et al. Expression of TLR1-10 and caspase-3 alfa at women with early miscarriages. Giornale Italiano di Ostetricia e Ginecologia. 2013;35(1):270-271.

35. Lesmeister MJ, Jorgenson RL, Young SL, et al. 17beta-estradiol suppresses TLR3-induced cytokine and chemokine production in endometrial epithelial cells. Reproductive Biology and Endocrinology.2005;3:74.

36. Lin Z, Xu J, Jin X, et al. Modulation of expression of Toll-like receptors in the human en-

dometrium. Am. J. Reprod. Immunol. 2009;61: 338-345.

37. Liu Z, Shimada M, Richards JS. The involvement of the Toll-like receptor family in ovulation. J Assist Reprod Genet. 2008;25:223-8.

38. Lyons RA, Saridogan E, Djahanbakhch O. The reproductive significance of human fallopian tube cilia. Hum Reprod Update. 2006;12:363-72.

39. Murphy AJ, Guyre PM, Pioli PA. Estradiol suppresses NF-κB activation through coordinated regulation of let-7a and miR-125b in primary human macrophages. J. Immunol. 2010;184:5029-5037.

40. Nasu K, Narahara H. Pattern recognition via the Toll-like receptor system in the human female genital tract. Mediators Inflamm. 2010;2010:976024.

41. O’Doherty AM, Di Fenza M, Kolle S. Lipopolysaccharide (LPS) disrupts particle transport, cilia function and sperm motility in an ex vivo oviduct model. Sci Rep. 2016;6:24583.

42. Pandey S, Kawai T, Akira S. Microbial sensing by toll-like receptors and intracellular nucleic acid sensors. Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2015;7(1):a016246.

43. Pioli PA, Amiel E, Schaefer TM, et al. Differential expression of Toll-like receptors 2 and 4 in tissues of the human female reproductive tract. Infect Immun. 2004;72:5799-806.

44. Poltorak A, He X, Smirnova I, et al. Defective LPS signaling in C3H / HeJ and C57BL / 10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. Science. 1998;282:2085-2088.

45. Raidt J, Werner C, Menchen T, et al. Ciliary function and motor protein composition of human fallopian tubes. Hum Reprod. 2015;30:2871-80.

46. Richards JS. Ovulation: new factors that prepare the oocyte for fertilization. Mol Cell Endocrinol. 2005;234:75-79.

47. Schaefer TM, Desouza K, Fahey JV, et al. Toll-like receptor (TLR) expression and TLR-mediated cytokine/chemokine production by human uterine epithelial cells. Immunology. 2004;112: 428-36.

48. Schaefer TM, Fahey JV, Wright JA, et al. Innate immunity in the human female reproductive tract: antiviral response of uterine epithelial cells to the TLR3 agonist poly(I:C). J Immunol. 2005;174:992-1002.

49. Sheldon IM, Bromfield JJ. Innate immunity in the human endometrium and ovary. American Journal of Reproductive Immunology. 2011;66(s1):63-71.

50. Sheldon IM, Owens SE, Turner ML. Innate immunity and the sensing of infection, damage and danger in the female genital tract. Journal of reproductive immunology. 2017;119:67-73.

51. Shimada M, Hernandez-Gonzalez I, Gonzalez-Robanya I, et al. Induced expression of pattern recognition receptors in cumulus oocyte complexes: novel evidence for innate immune-like functions during ovulation. Mol Endocrinol. 2006;20:3228-39.

52. Shimada M, Yanai Y, Okazaki T, et al. Hyaluronan fragments generated by sperm-secreted hyaluronidase stimulate cytokine / chemokine production via the TLR2 and TLR4 pathway in cumulus cells of ovulated COCs, which may enhance fertilization. Development. 2008;135:2001-2011.

53. Taggart CC, Cryan SA, Weldon S, et al. Secretory leucoprotease inhibitor binds to NF-κB binding sites in monocytes and inhibits p65 binding. J. Exp. Med. 2005;202:1659-1668.

54. Taghavi SA, Ashrafi M, Mehdizadeh M, et al. Toll-like receptors expression in follicular cells of patients with poor ovarian response. International journal of fertility and sterility. 2014;8(2):183-192.

55. Taylor CC, Terranova PF. Lipopolysaccharide inhibits in vitro luteinizing hormone-stimulated rat ovarian granulosa cell estradiol but not progesterone secretion. Biol Reprod. 1996;54:1390-1396.

56. Wagner R, Johnson S. Probiotic lactobacillus and estrogen effects on vaginal epithelial gene expression responses to Candida albicans. J. Biomedi. Sci. 2012;19:58.

57. Wira CR, Rodriguez-Garcia M, Patel MV. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. Nature reviews Immunology. 2015;15(4):217-30.

58. Young SL, Lyddon TD, Jorgenson RL, et al. Expression of toll-like receptors in human endometrial epithelial cells and cell lines. Am J Reprod Immunol 2004;52:67-73.

59. Zandieh Z, Ashrafi M, Jameie B, et al. Evaluation of immunological interaction between spermatozoa and fallopian tube epithelial cells. Andrologia. 2015;47:1120-30.

60. Zandieh Z, Amjadi F, Ashrafi M, et al. The effect of estradiol and progesterone on Toll like receptor gene expression in a human fallopian tube epithelial cell line. Cell Journal (Yakhteh). 2016;17(4):678-91.

61. Zhou M, McFarland-Mancini MM, Funk HM, et al. Toll-like receptor expression in normal ovary and ovarian tumors. Cancer Immunol Immunother. 2009;58:1375-1385.

Лебедева Ольга Петровна, доктор медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник кафедры генетики, цитологии и биоинженерии.
Кирко Роберт, MD, PhD, доцент кафедры акушерства и гинекологии, врач акушер-гинеколог.

Lebedeva Olga Petrovna, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Senior Researcher of the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering.
Qirko Robert, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Obstetrician and Gynecologist.

Статья поступила в редакцию 20 марта 2018 г.

УДК 576.08 **DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-6**

Мурсалов А.У.

ОСОБЕННОСТИ ОКСИДАТИВНОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ВТОРОГО ТИПА

Федеральное государственное клиническое учреждение «442 Военный клинический госпиталь» Министерства обороны Российской Федерации,
196602, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, ул. Радищева, 26
E-mail: mursalovakim@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* С увеличением возраста человека становится более частым явлением сахарный диабет. Однако до настоящего времени практически не изучены различные клинико-патофизиологические аспекты формирования и профилактики гипогликемических состояний при сахарном диабете в пожилом возрасте. *Цель исследования.* Изучить особенности оксидативного статуса у пациентов пожилого возраста с сахарным диабетом второго типа. *Материалы и методы.* В исследование было включено 148 пациентов пожилого возраста, из которых было сформировано 2 группы: 1. Контрольная группа – 70 пациентов с сахарным диабетом второго типа, у которых в течение одного предшествующего года не было зарегистрированных гипогликемических эпизодов. 2. В основную группу было взято 78 пациентов с сахарным диабетом второго типа, у которых в течение одного предшествующего года было зарегистрировано не менее шести гипогликемических эпизодов. В качестве маркера прооксидатных процессов, использовали анализ содержания 8-гидрокси-2- дезоксигуанозина (8-OH-DG) в крови. В качестве маркеров антиоксидантных процессов использовали анализ содержания супероксиддисмутазы (SODM) и каталазы (CTLS) в крови. *Результаты.* У пожилых пациентов с сахарным диабетом второго типа, сопровождающимся гипогликемическими состояниями, имеет место достоверное превалирование проокислительных процессов, что проявляется наличием достоверно более высокого уровня 8-OH-DG –соответственно 42.4±1.2 пкмоль/л и 35.1±0.9 пкмоль/л ($p<0.05$); при этом наличие старческой астении усугубляет проокислительные процессы: в группе с гипогликемией показатель при старческой астении 8-OH-DG составляет 46.1±1.2 пкмоль/л против 38.01,0 без старческой астении ($p<0.05$); в группе без гипогликемии показатель 8-OH-DG при старческой астении составляет 37.0±1.1 пкмоль/л против 31.40.9 без старческой астении ($p<0.05$). *Заключение.* Изучение оксидативного статуса при сахарном диабете, позволило выявить, что в группе лиц пожилого возраста с гипогликемическими состояниями имело место достоверное превалирование проокислительных процессов по сравнению с лицами без гипогликемических состояний.

Ключевые слова: оксидативный статус; пожилой возраст; сахарный диабет; прооксидантные процессы

Информация для цитирования: Мурсалов А.У. Особенности оксидативного статуса у пациентов пожилого возраста с сахарным диабетом второго типа // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 66-71. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-6

A.U. Mursalov

PECULIARITIES OF THE OXIDATIVE STATUS IN ELDERLY PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Federal State Clinical Agency «442 Military Clinical Hospital»
of the Ministry of Defense of the Russian Federation,
26 Radishchev St., Pushkin, St. Petersburg, Russia, 196602
E-mail: mursalovakim@mail.ru

Abstract. *Background*. With age, diabetes mellitus becomes a frequent health problem in many people. However, to date, various clinical and pathophysiological aspects of the development and prevention of hypoglycemic conditions in diabetes mellitus in old age have not been studied in practice. *The aim of the study*. To study the features of the oxidative status in elderly patients with type 2 diabetes mellitus. *Materials and methods.* 148 elderly patients were enrolled in the study, of which 2 groups were formed: 1. Control group – 70 patients with type 2 diabetes mellitus who did not have hypoglycemic episodes during the previous year. 2. The main group consisted of 78 patients with type 2 diabetes who had at least six hypoglycemic episodes during one previous year. As a marker of prooxidation processes, an analysis of the content of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OH-DG) in the blood was used. As markers of antioxidant processes, the analysis of superoxide dismutase (SODM) and catalase (CTLS) in the blood was used. *Results.* In elderly patients with type 2 diabetes mellitus, accompanied by hypoglycemic conditions, there is a significant prevalence of prooxidative processes, which is manifested by a significantly higher level of 8-OH-DG-42.4±1.2 pmol / L and 35.1±0, respectively , 9 pmol / l ($p<0.05$); the presence of senile asthenia exacerbates prooxidative processes: in the group with hypoglycemia, the index for senile asthenia of 8-OH-DG is 46.1±1.2 pkmol/L versus 38.01.0 without senile asthenia ($p<0.05$); in the group without hypoglycemia, the index of 8-OH-DG in senile asthenia is 37.0±1.1 pmol / l versus 31.40.9 without senile asthenia ($p<0.05$). *Conclusion.* The study of the oxidative status in diabetes mellitus allowed to reveal that in the group of elderly people with hypoglycemic conditions there was a significant prevalence of prooxidative processes in comparison with the patients without hypoglycemic conditions.

Key words: oxidative status; elderly age; diabetes; prooxidant processes
Information for citation: Mursalov AU. Osobennosti oksidativnogo statusa u patsiyentov pozhilogo vozrasta s sakharnym diabetom vtorogo tipa [Peculiarities of the oxidative status in elderly patients with type 2 diabetes mellitus]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):66-71. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-6

Введение. В исследованиях последних лет доказано, что по мере увеличения возраста человека становится более частым явлением нарушение толерантности к глюкозе [4, 6, 9]. При этом как сахарный диабет, так и нарушение толерантности к глюкозе гораздо чаще встречаются у пожилых людей по сравнению с лицами более молодого возраста [1, 2]. В частности, во многих исследованиях показано, что если частота встречаемости сахарного диабета у людей в возрасте 20-30 лет достигает 2-3%, то количество людей старше 65 лет, страдающих сахарным диабетом, вырастает до 20% [5]. Наличие сахарного диабета в пожилом возрасте опасно не только гипергликемическими, но и гипогликемическими состояниями [11]. Данные разных авторов демонстрируют довольно высокую частоту встречаемости гипогликемических состояний у людей, страдающих сахарным диабетом. То есть, в возрасте 65-69 лет около 20- 30% людей с сахарным диабетом испытывают гипогликемические состояния [7, 10]. В возрасте старше 85 лет гипогликемические состояния диагностируются уже у 50%. [3]. В качестве причины гипогликемических состояний при сахарном диабете могут быть особенности обмена глюкозы, нерациональное и неконтролируемое применение гипогликемических средств, проблемы недоедания и др. [8, 12]. Вместе с тем, до настоящего времени практически не изучены различные клинико-патофизиологические аспекты формирования и профилактики гипогликемических состояний при сахарном диабете в пожилом возрасте в зависимости от наличия/отсутствия синдрома старческой астении и ассоциированных с ней гериатрических синдромов.

Цель исследования – изучить особенности оксидативного статуса у пациентов пожилого возраста с сахарным диабетом второго типа.

Материалы и методы исследования. В проведенном исследовании были изучены молекулярные механизмы, отражающие особенности состояния оксидативного у пациентов с гипогликемическими состояниями при сахарном диабете второго типа во взаимосвязи со старческой астенией. Когорты пациентов, были сформированы в медицинских учреждениях Санкт-Петербурга (по договорам о двустороннем научном сотрудничестве) – больницы Святого Георгия №3 и больницы №31, которые являются клиническими базами АННО ВО «Научно-исследовательский центр «СанктПетербургский институт биорегуляции и геронтологии». В исследование было включено 148 пациентов пожилого возраста, из которых было сформировано 2 группы: 1. Контрольная группа – 70 пожилых пациентов с сахарным диабетом второго типа в возрасте 60 лет – 74 года (мужчин – 28 чел., женщин – 42 чел., средний возраст составил 64.8+1.3 года), у которых в течение одного предшествующего года не было зарегистрированных гипогликемических эпизодов. Контрольная группа была разделена на две подгруппы: первая – 39 человек без старческой астении, вторая – 31 человек со старческой астенией. 2. В основную группу было взято 78 пожилых пациентов с сахарным диабетом второго типа в возрастном периоде 60 лет – 74 года (мужчин – 30 чел., женщин – 38 чел., средний возраст составил 66.2+1.6 года), у которых в течение одного предшествующего года было зарегистрировано не менее шести гипогликемических эпизодов. Основная группа также была подразделена на две подгруппы: первая – 35 человек без старческой астении, вторая – 43 человека со старческой астенией.

У пациентов в сыворотке крови изучали содержание маркеров окислительного статуса. В качестве маркера прооксидатных процессов, отражающих содержание реактивных форм кислорода, использовали анализ содержания 8-гидрокси-2- дезоксигуанозина (8-OH-DG) в сыворотке крови. В качестве маркеров антиоксидантных процессов использовали анализ содержания супероксиддисмутазы (SODM) и каталазы (CTLS) в сыворотке крови.

На всех этапах исследования диагноз сахарного диабета второго типа и ассоциированных с ним гипогликемических состояний выставлялся в соответствии с Клиническими рекомендациями «Алгоритм специализированной помощи больным сахарным диабетом» (6-й выпуск, 2012; 7-й выпуск, 2015). Биохимические исследования проводились в лаборатории «Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии» на оборудовании и 50 по методикам, сертифицированным Федеральной (ФСВОК) и международными (RIQAS, PREVECAL, EQAS) внешними программами оценки качества.

Для статистической обработки результатов исследования использован метод оценки значимости различий двух совокупностей путем применения критерия t-Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. При проведении исследования выявлено, что в группе лиц пожилого возраста с гипогликемическими состояниями имело место достоверное превалирование прооксилительных процессов по сравнению с лицами без гипогликемических состояний, в частности, выявлен достоверно более высокий уровень 8-OH-DG – соответственно 42.4±1.2 пкмоль/л и 35.1±0.9 пкмоль/л ($p<0.05$). При этом наличие старческой астении усугубляло проокислительные процессы: в группе с гипогликемией показатель 8-OH-DG составил при старческой астении 46.1±1.2 пкмоль/л против 38.0±1.0 без старческой астении – ($p<0.05$). Уровень 8-OH-DG в сыворотке крови у пациентов контрольной и основной групп представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-OH-DG) в сыворотке крови у пациентов, включенных в первый этап исследования

Table 1

The content of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OH-DG) in blood serum of patients included in the first stage of the study

Группы пациентов		8-OH-DG (пкмоль/л)
Контрольная группа (n 70)	1 подгруппа (без старческой астении)	31.4±0.9
	2 подгруппа (со старческой астенией)	37.0±1.1*
Основная группа (n 78)	1 подгруппа (без старческой астении)	38.0±1.0**
	2 подгруппа (со старческой астенией)	46.1±1.2*,**

* *p<0.05 по сравнению с группой пациентов без старческой астении*
* **p<0.05 по сравнению с группой пациентов без гликогликемических эпизодов*

При проведении исследования выявлено, что в группе лиц пожилого возраста с гипогликемическими состояниями имело место достоверное снижение активности антиокислительных процессов по сравнению с лицами без гипогликемических состояний, в частности, выявлен достоверно более низкий уровень SODM – соответственно 213.5±2.6 пкмоль/л и 298.2±8.8 пкмоль/л ($p<0.05$) и более низкий уровень CTLS – соответственно 110.2±7.3 пкмоль/л и 203.9±11.4 пкмоль/л ($p<0.05$). В отношении антиоксидантных процессов достоверного влияния старческой астении на их ингибицию в нашем исследовании выявлено не было, вероятно, за счет их существенной ингибиции вследствие сахарного диабета (таблица 2).

Так, наличие старческой астении не приводило к дальнейшему усугублению антиокислительных процессов: в группе с гипогликемией показатель SODM в сыворотке крови составил 210.5+13.6 пкмоль/л, в группе без гипогликемии – 272.2+10.1 пкмоль/л ($p<0.05$); показатель CTLS в сыворотке крови в группе с гипогликемией составил 106.0+8.4 пкмоль/л и 190.2+14.3 57 пкмоль/л в группе без гипогликемии ($p>0.05$ всех значений по сравнению с соответствующим показателем у людей без старческой астении).

Изучение оксидативного статуса при сахарном диабете, сопровождающемся гипогликемическими состояниями, позволило выявить, что в группе лиц пожилого возраста с гипогликемическими состояниями имело место достоверное превалирование проокислительных процессов по сравнению с лицами без гипогликемических состояний. При этом наличие старческой астении усугубляло проокислительные процессы. Активность антиокислительных процессов в группе лиц пожилого возраста с гипогликемическими состояниями наоборот достоверно снижалась. При этом достоверного влияния старческой астении на ингибицию антиоксидантных процессов выявлено не было.

Таблица 2

Содержание супероксиддисмутазы (SODM) и каталазы (CTLS) в сыворотке крови у пациентов, включенных в первый этап исследования

Table 2

The content of superoxide dismutase (SODM) and catalase (CTLS) in blood serum of patients included in the first stage of the study

Группы пациентов		SODM (пкмоль/л)	CTLS (пкмоль/л)
Контрольная группа (n 70)	1 подгруппа (без старческой астении)	298.2±8.8	203.9±11.4
	2 подгруппа (со старческой астенией)	272.2±10.1*	190.2±14.3
Основная группа (n 78)	1 подгруппа (без старческой астении)	213.5±2.6**	110.2±7.3**
	2 подгруппа (со старческой астенией)	210.5±13.6**	106.0±8.4**

* *p<0.05 по сравнению с группой пациентов без старческой астении*
** *p<0.05 по сравнению с группой пациентов без гликогликемических эпизодов*

Полученные результаты свидетельствуют о важном патогенетическом значении оксидативного стресса в пожилом возрасте в плане развития гипогликемических состояний на фоне сахарного диабета, что подчеркивает необходимость разработки мер по адекватной коррекции оксидативного гомеостаза, как важного направления профилактики гипогликемических состояний в гериатрической практике.

Заключение. Таким образом, у пожилых пациентов с сахарным диабетом второго типа, сопровождающимся гипогликемическими состояниями, имеет место достоверное превалирование прокислительных процессов по сравнению с лицами без гипогликемических состояний, что проявляется наличием достоверно более высокого уровня 8-OH-DG, при этом наличие старческой астении усугубляет прокислительные процессы. У пожилых пациентов с сахарным диабетом второго типа достоверно снижена активность антиокислительных процессов по сравнению с лицами без гипогликемических состояний. Однако присоединение старческой астении дальнейшего ингибирующего влияния на эти процессы не оказывает.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Аметов А.С. Антиоксидантная терапия диабетической полинейроптии // Русский медицинский журнал. 2005. Т. 13, N 6. С. 339-343.
2. Гончарова О.А. Саркопения при сахарном диабете 2 типа: обзор и собственные наблюдения // Международный эндокринологический журнал. 2017. Т. 13, N 2. С. 186-194.
3. Зубкова Н.А. Тихонович Ю.В., Тюльпаков А.Н. Моногенные формы сахарного диабета // Фарматека. 2012. N 16. С. 66-70.
4. Пигарова Е.А. Несахарный диабет: эпидемиология, клиническая симптоматика, подходы к лечению // Доктор. 2009. N 6. С. 24-29.
5. Сунцов Ю.И. Эпидемиология и государственный регистр сахарного диабета // Сахарный диабет. 2005. N 3. С. 40-44.
6. Kaeidi A., Hajializadeh Z., Jahandari F., Fatemi I. Leptin attenuates oxidative stress and neu-

ronal apoptosis in hyperglycemic condition // Fundam Clin Pharmacol. 2018. N 11. P. 23-28.

7. Maki B.E. Control of rapid limb movements for balance recovery: age– related changes and implications for fall prevention // Age Ageing. 2006. N 35. P. 12-18.

8. Li H., Tsui T.Y., Ma W. Intracellular delivery of molecular cargo using cell-penetrating peptides and the combination strategies // Int. J. Mol. Sci. 2015. Vol. 16, N 8. P. 19518-19536.

9. Romano E., Silva A.C., Dias G.M., Carvalho J.J., De Lorenzo A., Kasal D.A. Research proposal: inflammation and oxidative stress in coronary artery bypass surgery graft: comparison between diabetic and non-diabetic patients // BMC Res Notes. 2018. Vol. 11, N 1. P. 635.

10. Saremi A., Bahn G.D., Reaven A link between hypoglycemia and progression of atherosclerosis in the veterans affairs diabetes trial (VADT) // Diabetes Care. 2016. Vol. 39, N 3. P. 448-454.

11. Seaquist E.R., Anderson J. Hypoglycemia and diabetes: a report of a workgroup of the American Diabetes Association and the Endocrine Society // Diabetes Care. 2013. Vol. 36, N 5. P. 1384-1395.

12. Yaribeygi H., Atkin S.L., Sahebkar A. A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia induced free radical generation leading to oxidative stress // J Cell Physiol . 2018. P. 1-13.

References

1. Ametov AS. Antioksidantnaya terapiya diabeticheskoi polineroptii [Antioxidant therapy of diabetic polyneuropathy]. Russian Medical Journal. 2005;13(6):339-343. Russian.

2. Goncharova OA. Sarkopeniya pri sakharnom diabete 2 tipa [Sarcopenia in type 2 diabetes mellitus: review and own observations]. International Endocrinology Journal. 2017;13(2):186-194. Russian.

3. Zubkova NA, Tihonovich YuV, Tyulpakov AN. Monogennye formy sakharnogo diabeta [Monogenic forms of diabetes mellitus]. Pharmatec. 2012;16:66-70. Russian.

4. Pigarova EA. Nesakharny diabet: epidemiologiya, klinicheskaya simptomatika, podkhody k lecheniuy [Diabetes insipidus: epidemiology, clinical symptoms, approaches to treatment]. Doctor. 2009;6:24-29. Russian.

5. Sunchov YuI. Epidemiologiya i gosudarstvenny registr sakharnogo diabeta [Epidemiology and the State Register of Diabetes Mellitus]. Diabetes. 2005;3:40-44. Russian.

6. Kaeidi A, Hajializadeh Z, Jahandari F, Fatemi I. Leptin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis in hyperglycemic condition. Fundam Clin Pharmacol. 2018;11:23-28.

7. Maki BE. Control of rapid limb movements for balance recovery: age– related changes and implications for fall prevention. Age Ageing. 2006;35:12-18.

8. Li H, Tsui TY, Ma W. Intracellular delivery of molecular cargo using cell-penetrating peptides and the combination strategies. Int. J. Mol. Sci. 2015;16(8):19518-19536.

9. Romano E, Silva AC, Dias GM, Carvalho JJ, De Lorenzo A, Kasal DA. Research proposal: inflammation and oxidative stress in coronary artery bypass surgery graft: comparison between diabetic and non-diabetic patients. BMC Res Notes. 2018;11(1):635.

10. Saremi A, Bahn GD, Reaven A link between hypoglycemia and progression of atherosclerosis in the veterans affairs diabetes trial (VADT). Diabetes Care. 2016;39(3):448-454.

11. Seaquist ER, Anderson J. Hypoglycemia and diabetes: a report of a workgroup of the American Diabetes Association and the Endocrine Society. Diabetes Care. 2013;36(5):1384-1395.

12. Yaribeygi H, Atkin SL, Sahebkar A. A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia induced free radical generation leading to oxidative stress. J Cell Physiol. 2018:1-13.

Мурсалов Аким Усман-оглы, начальник филиала №1 Федерального государственного клинического учреждения «442 Военный клинический госпиталь» Министерства обороны Российской Федерации.

Mursalov Akim Usman-ogly, Head of Branch No. 1 of the Federal State Clinical Agency «442 Military Clinical Hospital» of the Ministry of Defense of the Russian Federation.

Статья поступила в редакцию 12 апреля 2018 г.

УДК 575 **DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-7**

Радзинский В.Е.[1], Алтухова О.Б.[2]

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ БЕСПЛОДИЯ ПРИ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

[1] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов»,
117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6
[2] Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа»,
308007, Россия, г. Белгород, ул. Некрасова, 8/9
E-mail: kristalinka@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность.* Генитальный эндометриоз является актуальной проблемой современной медицины. Он входит в число труднообъяснимых заболеваний и является причиной нарушений репродуктивного здоровья, снижения качества жизни и социальной дезадаптации женщин любого возраста. *Цель исследования.* Оценка связей генетических маркеров с развитием бесплодия при генитальном эндометриозе. *Материалы и методы.* Выборка для исследования составила 428 пациенток с генитальным эндометриозом: 132 больных с генитальным эндометриозом сопровождающимся бесплодием (30.84%) и 296 больных с наступившей беременностью (69.16%). Проведено генотипирование 32 полиморфных локусов генов-кандидатов гиперпластических заболеваний матки. Анализ роли исследуемых полиморфных локусов и их комбинаций в формировании бесплодия при генитальном эндометриозе проведен с помощью программного обеспечения APSampler. *Результаты.* Установлено, что факторами риска формирования бесплодия при генитальном эндометриозе являются комбинации генетических вариантов T rs243865 *MMP-2*, 6A rs3025058 *MMP-3*,T rs11568819 *MMP-7* и G rs17577 *MMP-9*(OR= 2.08, p_{perm}=0.009), 2G rs1799750 *MMP-1*, 6A rs3025058 *MMP-3* и G rs17577 *MMP-9* (OR= 2.03, p_{perm}=0.013), T rs4073 *IL-8*, AA rs2107538 *RANTES* и A rs4512021 *I-TAC* (OR=2.23, p_{perm}=0.009), T rs4073 *IL-8*, GA rs1801157 *SDF1* и AA rs2107538 *RANTES* (OR=2.80, p_{perm}=0.007), а протективными факторами риска развития бесплодия при генитальном эндометриозе сочетания молекулярно-генетических факторов G rs1042838 *PGR* , C rs484389 *PGR*, T rs3798577 *ESR1* и C rs2234693 *ESR1* (OR=0.44, p_{perm}=0.008), T rs699517 *TYMS* и AA rs1801394 *MTRR* (OR=0.30, p_{perm}=0.022), A rs4073 *IL-8* и G rs2107538 *RANTES* (OR=0.33, p_{perm}=0.008). *Заключение.* Полиморфизм генов-кандидатов ассоциирован с развитием бесплодия при генитальном эндометриозе.

Ключевые слова: генитальный эндометриоз; бесплодие; генетический полиморфизм; биоинформатика

Информация для цитирования: Радзинский В.Е., Алтухова О.Б. Молекулярно-генетические детерминанты бесплодия при генитальном эндометриозе // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 72-82. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-7

V.E. Radzinsky[1], O.B. Altuchova[2]

MOLECULAR-GENETIC DETERMINANTS OF INFERTILITY IN GENITAL ENDOMETRYOSIS

[1] Peoples' Friendship University of Russia,
8 Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russia
[2] Belgorod Regional Clinical Hospital of St. Iosaph,
8/9, Nekrasov St., Belgorod, Russia, 308007
E-mail: kristalinka@yandex.ru

Abstract. *Background*. Genital endometriosis is an urgent problem of modern medicine. It is one of the hard-to-explain diseases and is the cause of reproductive health disorders, a decline in the quality of life and social disadaptation of women of any age. *The aim of the study.* To evaluate the relationship of genetic markers to the development of infertility in genital endometriosis. *Materials and methods.* The sample for the study included 428 patients with genital endometriosis: 132 patients with genital endometriosis accompanied by infertility (30.84%) and 296 patients with the onset of pregnancy (69.16%). Genotyping of 32 polymorphic loci of genes-candidates of hyperplastic diseases of the uterus was carried out. An analysis of the role of the polymorphic loci and their combinations in the formation of infertility in genital endometriosis was carried out using the APSampler software. *Results.* It was found that the risk factors for infertility in genital endometriosis are combinations of genetic variants T rs243865 MMP-2, 6A rs3025058 MMP-3, T rs11568819 MMP-7 and G rs17577 MMP-9 (OR = 2.08, pperm = 0.009), 2G rs1799750 MMP-1, 6A rs3025058 MMP-3 and G rs17577 MMP-9 (OR = 2.03, pperm = 0.013), T rs4073 IL-8, AA rs2107538 RANTES and A rs4512021 I-TAC (OR = 2.23, pperm = 0.009), T rs4073 IL-8, GA rs1801157 SDF1 and AA rs2107538 RANTES (OR = 2.80, pperm = 0.007), and the protective factors of risk of infertility in genital endometriosis combination of molecular genetic factors G rs1042838 PGR, C rs484389 PGR, T rs3798577 ESR1 and C rs2234693 ESR1 (OR = 0.44, pperm = 0.008), T rs699517 TYMS and AA rs1801394 MTRR (OR = 0.30, pperm = 0.022), A rs4073 IL-8 and G rs2107538 RANTES (OR = 0.33, pperm = 0.008). *Conclusion.* Polymorphism of candidate genes is associated with the development of infertility in genital endometriosis.

Key words: genital endometriosis; infertility; genetic polymorphism; bioinformatics
Information for citation: Radzinsky VE, Altuchova OB. Molekulyarno-geneticheskiye determinanty besplodiya pri genital'nom endometrioze [Molecular-genetic determinants of infertility in genital endometryosis]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):72-82. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-7

Введение. Одним из социально-значимых и распространенных заболеваний среди женского населения, с выраженными клиническими проявлениями и высокой частотой рецидивов после проведенного лечения, влияющими на репродуктивное здоровье и качество жизни женщины, создание полноценной семьи, является эндометриоз [9, 12, 25].

По определению ВОЗ, эндометриоз – это хроническое, дисгормональное, иммунозависимое заболевание с доброкачественными разрастаниями ткани, по морфологическим и функциональным свойствам подобной эндометрию, выходящее за пределы слизистой матки [11]. Значимую роль в развитии эндометриоза играют генетические факторы [2, 17, 23].

Эндометриоз является не только важной медицинской, но и социально-экономической проблемой [13,15] Затраты, связанные с эндометриозом, являются высокими как с экономических, так и с социально-психологических позиций. Ежегодный экономический ущерб от эндометриоза в Соединенных Штатах Америки составляет около 22 млрд. долларов, что значительно выше, чем при болезни Крона (865 млн. долларов) или мигрени (13-17 млрд. долларов) [26].

Одним из частых клинических проявлений эндометриоза является бесплодие (первичное и вторичное). Имеется выраженная связь между тяжестью заболевания и фертильностью, вероятно вследствие нарушения проходимости маточных труб и функции яичников, наличия эндометриом яичников, субклинического пельвиоперитонита, ухудшение качества ооцитов, а также снижение восприимчивости эндометрия к имплантации плодного яйца [18, 20].

Цель исследования – оценка связей генетических маркеров с развитием бесплодия при генитальном эндометриозе.

Материалы и методы исследования. Проведен анализ результатов наблюдений 428 пациенток с генитальным эндометриозом: 132 больных с генитальным эндометриозом сопровождающимся бесплодием (30.84%) и 296 больных с наступившей беременностью (69.16%). В выборку больных включались женщины русской национальности, являющиеся уроженками Центрального Черноземья РФ и не состоящие в родстве между собой. Клинико-инструментальное обследование пациенток с генитальным эндометриозом осуществлялось врачами гинекологического отделения Перинатального центра Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа.

Всем больным с генитальным эндометриозом проводилось типирование 32 полиморфных локусов генов-кандидатов гиперпластических заболеваний матки. Выбор для исследования данных генов-кандидатов определяется тем, что согласно литературным материалам, представленным в он-лайн сервисе «National Center for Biotechnology information» (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/), эти гены имеют важное медико-биологическое значение в организме и могут быть вовлечены в этиопатогенез пролиферативных заболеваний матки. Отобранные для исследования SNP, согласно он-лайн сервиса «Haploreg (V.4.1.)» (htt://archive.broadinsitute.org/mammals/haploreg/) имеют важное функциональное значение.

Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 4 мл, взятая из локтевой вены пробанда. Выделение геномной ДНК из периферической крови проведено стандартным методом фенол-хлороформной экстракции [21]. Анализ исследуемых локусов осуществлялся методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК с использованием олигонуклеотидных праймеров и зондов.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программных пакетов «STATISTICA for Windows 6.0» и «Microsoft Excel 2007». Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Вычисления производили в таблицах сопряженности 2х2 [10].

Анализ роли исследуемых полиморфных локусов и их комбинаций в формировании бесплодия при генитальном эндометриозе проведен с помощью программного обеспечения APSampler, использующего метод Монте-Карло марковскими цепями и байесовскую непараметрическую статистику [16]. Для валидации найденных ассоциаций использовался пермутационный анализ (p_{perm}).

Результаты исследования и их обсуждение. Изучение популяционно-генетических характеристик исследуемых генетических маркеров показало, что для всех рассмотренных локусов в изучаемых группах больных эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга (p>0.05).

При проведении комплексного анализа носительства сочетаний аллелей и генотипов исследуемых генов-кандидатов (таблица 1) установлена ассоциация сочетания аллеля G rs1042838 *PGR* с аллелем C rs484389 *PGR*, аллелем T rs3798577 *ESR1* и аллелем C rs2234693 *ESR1* с бесплодием при генитальном эндометриозе. У 14,28% больных генитальным эндометриозом, сопровождающимся бесплодием, встречается данное сочетание генетических маркеров, тогда как в группе пациенток с наступившей беременностью оно выявлено у 27.07% (p=0.002, p_{perm}=0.008). Такая комбинация полиморфных вариантов генов эстрогенов и прогестерона и их рецепторов является протективным фактором риска развития бесплодия при генитальном эндометриозе (OR=0.44, 95%, CI 0.25-0.78).

Известно, что дисбаланс соотношения эстрогенов и прогестерона создает условия для развития гиперпластических процессов матки. При этом может изменяться степень рецептивности эндо- и миометрия к соответствующим стероидным гормонам, задействованным в формировании пролиферативных заболеваний органов малого таз

По данным Mantena S.R. et al. [19], *PGR* обеспечивает индукцию клеточной дифференцировки и ингибирование эстрогензависимой клеточной пролиферации. Прогестероновый рецептор кодируется одним геном *PGR*, который имеет две изоформы (*a* и *b*) [27]. Ряд работ свидетельствует о достоверном увеличении экспрессии гена *PRG* у пациенток с простой и пролиферирующей миомами матки [7]. По данным

ятность ответа клеток на действие прогестерона. Отношение степени экспрессии в нормальном функционировании эндо- и миометрия. Ряд работ свидетельствует о том, что экспрессия *ESR1* в нормальной ткани повышает риск возникновения гормонзависимых опухолей.

Минимальный риск развития бесплодия при генитальном эндометриозе определяется комбинацией аллеля T rs699517 *TYMS* с генотипом AA rs1801394 *MTRR*. Данное сочетание встречается в 3 раза реже в группе больных с бесплодием (3.84%), чем в группе пациенток с наступившей беременностью (11.45%, p=0.007, p_{perm}=0.022, OR=0.30 95%CI 0.11-0.87). Анализ данных литературы показывает, что полиморфизм *MTRR* c.66A>G (rs1801394) в 4 раза снижает активность *MTRR* [8], вследствие чего повышается уровень гомоцестеина [4], что обеспечивает благоприятные условия для формирования патологических процессов. Результаты о вовлеченности генетического-полиморфизма *MTRR* c.66A>G (rs1801394) в формировании бесплодия при эндометриозе, полученные в нашей работе, согласуются данным работ Малышкиной А.И. и др. [5]. Авторами показано, что аллель G rs1801394 *MTRR* служит молекулярно-генетическим маркером развития быстрорастущей миомой матки (OR=1.77).

Выявлены достоверные различия в распределении комбинации четырех генетических маркеров T rs243865 *MMP-2*, 6A rs3025058 *MMP-3*,T rs11568819 *MMP-7* и G rs17577 *MMP-9* между пациентами с генитальным эндометриозом, сопровождающимся бесплодием (34.92%), и больными с наступившей беременностью (20.51%). Такое сочетание аллелей является фактором риска развития бесплодия при генитальном эндометриозе (p=0.001, p_{perm}=0.009, OR= 2.08, 95%CI 1.30-3.32).

Таблица

Ассоциации сочетаний генов-кандидатов с формированием бесплодия при генитальном эндометриозе

Table

Association of combinations of candidate genes with the formation of infertility in genital endometriosis

Полиморфизмы	Сочетания (аллели/генотипы)	Больные с бесплодием (n=132)		Больные с наступившей беременностью (n=296)		P (p_{perm})	OR (95% CI)
		n/N	%	n/N	%		
***PGR* c.1415-11113G>T (rs1042838)** ***PGR* c.*38T>C (rs484389)** ***ESR1* c.*1029T>C (rs3798577)** ***ESR1*c.453-397T>C (rs2234693)**	G rs1042838 *PGR* совместно с C rs484389 *PGR* и T rs3798577 *ESR1* C rs2234693 *ESR1*	18/126	14.28	75/277	27.07	0.002 (0.008)	0.44 (0.25-0.78)
***TYMS* c.*19C>T (rs699517)** ***MTRR* c.66A>G (rs1801394)**	T rs699517 *TYMS* совместно с AA rs1801394 *MTRR*	5/130	3.84	33/288	11.45	0.007 (0.012)	0.30 (0.11-0.81)
***MMP-2* c.-1586C>T (rs243865)** ***MMP-3* c.-1672_-1671insA (rs3025058)** ***MMP-7* c.-202C>T (rs11568819)** ***MMP-9* c.2003G>A (rs17577)**	T rs243865 *MMP-2* 6A rs3025058 *MMP-3* совместно с T rs11568819 *MMP-7* G rs17577 *MMP-9*	44/126	34.92	57/278	20.51	0.001 (0.009)	2.08 (1.30-3.32)
***MMP-1* c.-1719delG (rs1799750)** ***MMP-3* c.-1672_-1671insA (rs3025058)** ***MMP-9* c.2003G>A (rs17577)**	2G rs1799750 *MMP-1* совместно с 6A rs3025058 *MMP-3* и G rs17577 *MMP-9*	36/124	29.03	46/275	16.72	0.004 (0.013)	2.03 (1.23-3.35)

Полиморфизмы	Сочетания (аллели/генотипы)	Больные с бесплодием (n=132)		Больные с наступившей беременностью (n=296)		P (p_{perm})	OR (95% CI)
		n/N	%	n/N	%		
***IL-8*c.-352 A>T(rs4073) *RANTES* c.- 471 G>A(rs2107538) *I-TAC* c.*1539 T>C (rs4512021)**	T rs4073 *IL-8* совместно с AA rs2107538 *RANTES* A rs4512021 *I-TAC*	48/120	40.00	43/187	22.99	0.001 (0.009)	2.23 (1.35-3.67)
***IL-8*c.-352 A>T(rs4073) *RANTES* c.- 471 G>A(rs2107538)**	A rs4073 *IL-8* совместно с G rs2107538 *RANTES*	11/121	9.09	43/189	22.75	0.001 (0.008)	0.33 (0.16-0.68)
***IL-8*c.-352 A>T(rs4073) *SDF1* c.*519 G>A (rs1801157) *RANTES* c.- 471 G>A(rs2107538)**	T rs4073 *IL-8* совместно с GA rs1801157 *SDF1* AA rs2107538 *RANTES*	26/118	22.03	17/186	9.13	0.001 (0.007)	2.80 (1.44-5.44)

Установлено, что комбинация аллелей 2G rs1799750 *MMP-1,* 6A rs3025058 *MMP-3* и G rs17577 *MMP-9* встречается у 29.03% пациенток с генитальным эндометриозом, сопровождающимся бесплодием, что достоверно превышает аналогичный показатель больных с наступившей беременностью (16.72%, p=0.004, p_{perm}=0.013, OR=2.03, 1.23-3.35). Согласно литературным данным матриксные металлопротеиназы принимают участие в этапах деградации коллагена различных типов, эластина и других белков экстрацеллюлярного матрикса, создавая при этом благоприятные условия для ангиогенеза и избыточной пролиферации в миометрии. Первичная деградация молекул коллагена осуществляется с помощью *MMP-* (коллагеназа-1), после чего происходит их дальнейший распад под действием других *MMP*, в частности *MMP-3* (стромелизина-1), *MMP-7* (матрилизина) и *MMP-9* (желатиназы B) [6]. Обеспечивая деградацию экстацеллюлярного матрикса, *MMP* способствуют развитию ангиогенеза путем миграции эндотелиальных клеток, а также освобождению поглощенных ангиогенных факторов. Эти данные могут объяснять вовлеченность матриксных металлопротеиназ в формирование бесплодия при генитальном эндометриозе.

Показано, что у женщин с генитальным эндометриозом сопровождающимся бесплодием, частота комбинации T rs4073 *IL-8,* AA rs2107538 *RANTES* и A rs4512021 *I-TAC* составила 40,00%, что достоверно больше по сравнению с больными с наступившей беременностью (22.99%, p=0.001, p_{perm}=0.009, OR=2.23, 95%CI 1.35-3.67).

Сочетание генетических факторов, которое наблюдается у 9.09% больных генитальным эндометриозом, сопровождающимся бесплодием и у 22.75% пациенток с наступившей беременностью, включает комбинацию двух генетических маркеров: A rs4073 *IL-8* и G rs2107538 *RANTES* (p=0.001, p_{perm}=0.008, OR=0.33, 95%CI 0.16-0.68).

Обнаружено, что среди пациенток с генитальным эндометриозом сопровождающимся бесплодием частота сочетания аллеля T rs4073 *IL-8,* генотипа GA rs1801157 *SDF1* и генотипа AA rs2107538 *RANTES* составила 22.03% и была наибольшей по сравнению с больными с наступившей беременностью (9.13%, p=0.001, p_{perm}=0.007, Ряд работ демонстрирует высокую экспрессию *IL-8* у пациенток с миомой матки [3], эндометриозом [14, 22]. Таким образом, у женщин с эндометриозом высокий уровень секреции *IL-8* ингибирует апоптоз клеток эндометрия, что благоприятствует эктопическому росту, выживанию и инвазии этих клеток. Авторами установлено, что *IL-8* выступает в качестве ростового фактора для эндометриальных клеток. По данным литературы генетический полиморфизм *IL-8* c.-352 A>T (rs4073) оказывает влияние на экспрессию *IL-8* [24]. Изучению роли полиморфных вариантов *IL-8* c.-352 A>T (rs4073) в формировании пролиферативных заболеваний матки посвящено исследование группы авторов из Ирана. Результаты этой работы свидетельствуют об отсутствии ассоциаций генетического полиморфизма с формированием генитального эндометриоза [24]. Однако сами авторы предполагают, что отсутствие ассоциаций связано с малочисленной выборкой женщин, включенных в исследование.

Заключение. Таким образом, факторами риска формирования бесплодия при генитальном эндометриозе являются комбинации генетических вариантов T rs243865 *MMP-2,* 6A rs3025058 *MMP-3,*T rs11568819 *MMP-7* и G rs17577 *MMP-9*(OR= 2.08, p_{perm}=0.009), 2G rs1799750 *MMP-1,* 6A rs3025058 *MMP-3* и G rs17577 *MMP-9* (OR= 2.03, p_{perm}=0.013), T rs4073 *IL-8,* AA rs2107538 *RANTES* и A rs4512021 *I-TAC* (OR=2.23, p_{perm}=0.009), T rs4073 *IL-8,* GA rs1801157 *SDF1* и AA rs2107538 *RANTES* (OR=2.80, p_{perm}=0.007), а протективными факторами риска развития бесплодия при генитальном эндометриозе сочетания молекулярно-генетических факторов G rs1042838 *PGR* , C rs484389 *PGR,* T rs3798577 *ESR1* и C rs2234693 *ESR1* (OR=0.44, p_{perm}=0.008), T rs699517 *TYMS* и AA rs1801394 *MTRR (*OR=0.30, p_{perm}=0.022), A rs4073 *IL-8* и G rs2107538 *RANTES (*OR=0.33, p_{perm}=0.008).

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Аллель PROGINS гена рецептора прогестерона PGR ассоциирован с риском рака молочной железы в Западно-Сибирском регионе России / Е.В. Печковский [и др.] // Онкология. 2012. Т. 13. С. 207-217.

2. Алтухова О.Б., Пономаренко И.В. Комбинация генетических вариантов rs12444979 и rs2241423 ассоциирована с развитием гиперпластических процессов матки // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. 2015. Вып. 30, N 10(207). С. 91-96.

3. Джемлиханова Л.Х., Ниаури Д.А., Абдулкадырова З.К. Миома матки и эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий // Журнал акушерства и женских болезней. 2016. Т. 65, N 6. С. 79-87.

4. Клинический полиморфизм генетического дефицита энзимов цикла фолиевой кислоты / Мальцев Д.В., Натрус Л.В., Чуприков А.П., Головченко Ю.И., Кириллова Л.Г., Асауленко О.И., Клименко О.В. // Український неврологічний журнал. 2016. N 2. С. 7-16.

5. Малышкина А.И., Фетисова И.Н., Дюжев Ж.А. Генетические маркеры предрасположенности к быстрому росту лейомиомы матки // Проблемы репродукции. 2012. Спец. вып. С. 188-189.

6. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах: обзор / Рогова Л.Н., Шестернина Н.В., Замечник Т.В., Фастова И.А. // Вестник новых медицинских технологий. 2011. Т. 18, N 2. С. 86-89.

7. Молекулярная характеристика миомы тела матки по экспрессии генов стероидных рецепторов, sts, sult и pten / Шрамко С.В., Лещенко А.С., Хвостова Е.П., Сабанцев М.А., Баженова Л.Г., Гуляева Л.Ф. // Молекулярная медицина. 2013. N 6. С. 39-43.

8. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека / Добролюбов А.С., Липин М.А., Поляков А.В., Фетисова И.Н. // Вестник новых медицинских технологий. 2006. Т. XIII, N 4. С. 71-73.

9. Пономаренко И.В., Конева О.А., Алтухова О.Б. Молекулярные основы этиопатогенеза и клиники эндометриоза // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. 2016. Вып. 35, N 19(240). С. 11-16.

10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиасфера, 2006. 305 с.

11. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация: федеральные клинические рекомендации по ведению больных. М.: Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова, 2013. 66 с.

12. Ashrafi M., Sadatmahalleh S.J., Akhoond M.R., Talebi M. Evaluation of Risk Factors Associated with Endometriosis in Infertile Women // International Journal of Fertility & Sterility. 2016. Vol. 10(1). P. 11-21.

13. Ayorinde A.A., Macfarlane G.J., Saraswat L., Bhattacharya S. Chronic pelvic pain in women: an epidemiological perspective // Medical Center Womens Health (Lond). 2015. Vol. 11(6). P. 851-864.

14. Bersinger N.A., Dechaud H., McKinnon B., Mueller M.D. Analysis of cytokines in the peritoneal fluid of endometriosis patients as a function of the menstrual cycle stage using the Bio-Plex® platform // Archives of Physiology and Biochemistry. 2012. Vol. 118(4). P. 210-218.

15. Champaneria R., Shah L., Wilson M.J., Daniels J.P. Clinical effectiveness of transversus abdominis plane (TAP) blocks for pain relief after caesarean section: a meta-analysis // International Journal of Obstetric Anesthesia. 2016. Vol. 28. P. 45-60.

16. Favorov A.V., Andreewski T.V., Sudomoina M.A., Favorova O.O., Parmigiani G., Ochs M.F. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans // Genetics. 2005. Vol. 171(4). P. 2113-2121.

17. Krivoshei I.V., Altuchova O.B., Polonikov A.V., Churnosov M.I. Bioinformatic Analysis of the Liability to the Hyperplastic Processes of the Uterus // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2015. Vol. 6(5). P. 1563-1566.

18. Lessey D.A. Assessment of endometrial receptivity // Fertility and Sterility. 2011. Vol. 96. P. 522-529.

19. Mantena S.R., Bagchi I.C., Kannan A., Bagchi M.K., Johnson P.F. C/EBPβ is a critical mediator of steroid hormone-regulated cell proliferation and differentiation in the uterine epithelium and stroma // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2006. Vol. 103(6). P. 1870-1875.

20. Miller J.E., Ahn S.H., Monsanto S.P., Tayade C. Implications of immune dysfunction on endometriosis associated infertility // Oncotarget. 2017. Vol. 8(4). P. 7138-7147.

21. Miller S.A., Dykes D.D. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // Nucleic acids research. 1988. Vol. 16(3). P. 1215-1221.

22. Petraglia F., Hornung D., Seitz C., Faustmann T., Gerlinger C., Luisi S., Lazzeri L., Strowitzki T. Reduced pelvic pain in women with endometriosis: efficacy of long-term dienogest treatment // Archives of Gynecology and Obstetrics. 2012. Vol. 285(1). P. 167-173.

23. Ponomarenko I.V., Altuchova O.B., Golovchenko O.V., Sorokina I.N., Polonikov A.V., Bushueva O.Y., Churnosov M.I. Molecular-genetic factors of genital endometriosis // International Journal of Pharmacy and Technology. 2016. Vol. 8(2). P. 14190-14195.

24. Rabbanizadeh F., Kohan L., Najib F. Association between Interleukin-8-251T/A polymorphism and endometriosis in Iranian women // Research in Molecular Medicine. 2015. Vol. 3(2). P. 45-49.

25. Rizner T.L. Diagnostic potential of peritoneal fluid biomarkers of endometriosis // Expert Review of Molecular Diagnostics. 2015. Vol. 15(14). P. 557-580.

26. Soliman A.M., Yang H., Du E.X., Kelley C., Winkel C. The direct and indirect costs associated with endometriosis: a systematic literature review // Human Reproduction. 2016. Vol. 31(4). P. 712-722.

27. Wetendorf M., DeMayo F.J. The progesterone receptor regulates implantation, decidualization, and glandular development via a complex paracrine signaling network // Molecular and cellular endocrinology. 2012. Vol. 357(1-2). P. 108-118.

References

1. Pechkovskiy EV, Vainer AS, Boyarskikh UA, et al. Allel RROGINS gena retseptora progesterona RGR assotsiirovan s riskom raka molochnoy zhelezy v Zapadno-Sibirskom regione Rossii [The allele of the RROGINS gene of the receptor of progesterone PGR is associated with the risk of breast cancer in the Western Siberian region of Russia]. Onkologiya. 2012;13:207-217. Russian.

2. Altukhova OB, Ponomarenko IV. Kombinatsiya geneticheskikh variantov rs12444979 i rs2241423 assotsiirovana s razvitiyem giperplasticheskikh protsessov matki [The combination of the genetic variants rs12444979 and rs2241423 is associated with the development of the uterus hyperplastic processes]. Nauchnyye vedomosti BelGU. Seriya Meditsina. Farmatsiya. 2015;30(10(207)):91-96. Russian.

3. Dzhemlikhanova LKh., Niauri DA, Abdulkadyrova ZK. Mioma matki i effektivnost' programm vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologiy [Uterine fibroids and the effectiveness of assisted reproductive technology programs]. Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney. 2016;65(6):79-87. Russian.

4. Malcev DV, Natrus LV, Chuprikov AP, et al. Klinicheskiy polimorfizm geneticheskogo defitsita enzimov tsikla foliyevoy kisloty [Clinical polymorphism of genetic deficiency of folic acid cycle enzymes]. Ukraïns'kiy nevrologíchniy zhurnal. 2016;2:7-16. Russian.

5. Malyshkina AI, Fetisova IN, Dyuzhev ZhA. Geneticheskiye markery predraspolozhennosti k bystromu rostu leyomiomy matki [Genetic markers of predisposition to rapid growth of uterine leiomyoma]. Problemy reprodukcii. spec. vyp. 2012:188-189. Russian.

6. Rogova LN, Shesternina NV, Zamechnik TV, Fastova IA. Matriksnyye metalloproteinazy, ikh rol' v fiziologicheskikh i patologicheskikh protsessakh: obzor [Matrix metalloproteinases, their role in physiological and pathological processes: a review]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2011;18(2):86-89. Russian.

7. Shramko SV, Leshchenko AS, Khvostova EP, et al. Molecular characteristics of the uterine body myoma by expression of steroid receptor, sts, sult and pten genes [Molecular characteristics of uterine fibroids by expression of steroid receptor genes, sts, sult and pten]. Molekulyarnaya meditsina. 2013;6:39-43. Russian.

8. Dobrolyubov AS, Lipin MA, Polyakov AV, Fetisova IN. Polymorphism of folate metabolism

genes and human diseases [Polymorphism of folate metabolism genes and human diseases]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2006;XIII(4): 71-73. Russian.

9. Ponomarenko IV, Koneva OA, Altukhova OB. Molekulyarnyye osnovy etiopatogeneza i kliniki endometrioza [Molecular basis of etiopathogenesis and endometriosis clinic]. Belgorod State University Scientific bulletin Medicine Pharmacy. 2016;35(19(240)):11-16. Russian.

10. Rebrova OYu. Statisticheskiy analiz meditsinskikh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA software package]. Moscow: Mediasfera; 2006. 305 p. Russian.

11. Endometrioz: diagnostika, lecheniye i reabilitatsiya: federal'nyye klinicheskiye rekomendatsii po vedeniyu bol'nykh [Endometriosis: diagnosis, treatment and rehabilitation: federal clinical guidelines for managing patients]. Moscow: Nauchnyj centr akusherstva, ginekologii i perinatologii im. V.I. Kulakova; 2013. 66 p. Russian.

12. Ashrafi M, Sadatmahalleh SJ, Akhoond MR, Talebi M. Evaluation of Risk Factors Associated with Endometriosis in Infertile Women. International Journal of Fertility & Sterility. 2016;10(1):11-21.

13. Ayorinde AA, Macfarlane GJ, Saraswat L, Bhattacharya S. Chronic pelvic pain in women: an epidemiological perspective. Medical Center Womens Health (Lond). 2015;11(6):851-864.

14. Bersinger NA, Dechaud H, McKinnon B, Mueller MD. Analysis of cytokines in the peritoneal fluid of endometriosis patients as a function of the menstrual cycle stage using the Bio-Plex® platform. Archives of Physiology and Biochemistry. 2012;118(4):210-218.

15. Champaneria R, Shah L, Wilson MJ, Daniels JP. Clinical effectiveness of transversus abdominis plane (TAP) blocks for pain relief after caesarean section: a meta-analysis. International Journal of Obstetric Anesthesia. 2016;28:45-60.

16. Favorov AV, Andreewski TV, Sudomoina MA, Favorova OO, Parmigiani G, Ochs MF. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. Genetics. 2005;171(4):2113-2121.

17. Krivoshei IV, Altuchova OB, Polonikov AV, Churnosov MI. Bioinformatic Analysis of the Liability to the Hyperplastic Processes of the Uterus. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2015;6(5):1563-1566.

18. Lessey DA. Assessment of endometrial receptivity. Fertility and Sterility. 2011;96:522-529.

19. Mantena SR, Bagchi IC, Kannan A, Bagchi MK, Johnson PF. C/EBPβ is a critical mediator of steroid hormone-regulated cell proliferation and differentiation in the uterine epithelium and stroma. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2006;103(6):1870-1875.

20. Miller JE., Ahn SH, Monsanto SP, Tayade C. Implications of immune dysfunction on endometriosis associated infertility. Oncotarget. 2017;8(4):7138-7147.

21. Miller SA, Dykes DD. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic acids research. 1988;16(3):1215-1221.

22. Petraglia F, Hornung D, Seitz C, Faustmann T, Gerlinger C, Luisi S, Lazzeri L, Strowitzki T. Reduced pelvic pain in women with endometriosis: efficacy of long-term dienogest treatment. Archives of Gynecology and Obstetrics. 2012;285(1):167-173.

23. Ponomarenko IV, Altuchova OB, Golovchenko OV, Sorokina IN, Polonikov AV, Bushueva OY, Churnosov MI. Molecular-genetic factors of genital endometriosis. International Journal of Pharmacy and Technology. 2016;8(2):14190-14195.

24. Rabbanizadeh F, Kohan L, Najib F. Association between Interleukin-8-251T/A polymorphism and endometriosis in Iranian women. Research in Molecular Medicine. 2015;3(2):45-49.

25. Rizner TL. Diagnostic potential of peritoneal fluid biomarkers of endometriosis. Expert Review of Molecular Diagnostics. 2015;15(14): 557-580.

26. Soliman AM, Yang H, Du EX, Kelley C, Winkel C. The direct and indirect costs associated with endometriosis: a systematic literature review. Human Reproduction. 2016;31(4):712-722.

27. Wetendorf M, DeMayo FJ. The progesterone receptor regulates implantation, decidualization, and glandular development via a complex paracrine signaling network. Molecular and cellular endocrinology. 2012;357(1-2):108-118.

Радзинский Виктор Евсеевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,

профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии с курсом перинатологии.
Алтухова Оксана Борисовна, кандидат медицинских наук, заведующая гинекологическим отделением перинатального центра.

Radzinsky Viktor Evseevich, Corresponding Member of RAS, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department of Obstetrics and Gynecology with the Course of Perinatology.
Altuchova Oksana Borisovna, Candidate of Medical Sciences, Head of Department of Gynecology, Perinatal Center.

Статья поступила в редакцию 30 мая 2018 г.

УДК 575.822 **DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-8**

Сереброва В.Н.,
Трифонова Е.А.,
Степанов В.А.

ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОЛИ РЕГУЛЯТОРНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНА *CORO2A* В ФОРМИРОВАНИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ПРЕЭКЛАМПСИИ У РУССКИХ И ЯКУТОВ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»,
Научно-исследовательский институт медицинской генетики,
634050, Россия, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10
E-mail: vika.serebrova@medgenetics.ru

Аннотация. *Актуальность.* Преэклампсия (ПЭ) признана одним из наиболее тяжелых осложнений беременности и является ведущей причиной материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, поскольку в настоящее время отсутствуют прогностические биомаркеры и эффективная фармакологическая терапия ПЭ, а ее этиопатогенез остается плохо изученным. В связи с этим, изучение генетической компоненты ПЭ представляется актуальным. *Цель исследования.* Изучение генетической компоненты ПЭ по системе регуляторных полиморфных вариантов (rSNP) нового гена-кандидата *CORO2A* и выявление роли естественного отбора в ее формировании. *Материалы и методы.* Проанализировано 925 образцов ДНК женщин из этнических выборок русских и якутов (группа больных ПЭ, N=412 чел.; контрольная группа, N=513 чел.). Поиск rSNP проводили с помощью ресурса «RegulomeDB». Генотипирование осуществляли методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Для сравнения частот аллелей и генотипов между анализируемыми группами использовали критерий χ^2 Пирсона или двусторонний точный тест Фишера. Для поиска сигналов естественного отбора в эволюционной линии парвотряда Catarrhini использовали метод INSIGHT. *Результаты.* В этнической выборке русских для аллеля C регуляторного полиморфного варианта rs10985257 показана ассоциация с развитием ПЭ (p=0.005, OR=2.33, CI:1.32-4.11), тогда как аллель A (p=0.005, OR=0.43, CI:0.24-0.76) и генотип AA (p=0.02, OR=0.45, CI:0.24-0.85) обладают протективными свойствами. В эволюционной линии парвотряда Catarrhini выявлено действие слабого очищающего отбора для rs10985257, rs2231656 и rs78486797. *Заключение.* Продемонстрирована значимая роль rs10985257 и его адаптивных изменений на макроэволюционном уровне в формировании наследственной предрасположенности к ПЭ.

Ключевые слова: преэклампсия; регуляторный однонуклеотидный полиморфный вариант (rSNP); ассоциативное исследование; ген *CORO2A*; плацента; транскриптом; естественный отбор

Информация для цитирования: Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Эволюционно-генетический анализ роли регуляторных участков гена *CORO2A* в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии у русских и якутов // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 83-93. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-8

V.N. Serebrova,
E.A. Trifonova,
V.A. Stepanov

EVOLUTIONARY-GENETIC ANALYSIS OF THE ROLE OF REGULATORY REGIONS IN *CORO2A* GENE IN THE DEVELOPMENT OF HEREDITARY PREDISPOSITION TO PREECLAMPSIA IN RUSSIAN AND YAKUT ETHNIC GROUPS

Research Institute of Medical Genetics,
Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
10 Reka Ushaika Emb., Tomsk, Russia, 634050
E-mail: vika.serebrova@medgenetics.ru

Abstract. *Background.* Preeclampsia (PE) is one of the most serious pregnancy complications and is the leading cause of maternal and perinatal morbidity and mortality, because there are currently no prognostic biomarkers and effective pharmacological therapy of PE, and the etiopathogenesis of this pathology remains poorly understood. Therefore, studying the genetics components of PE is a promising approach. *The aim of the study* was to study PE genetics components via the regulatory polymorphic variants (rSNPs) of the new *CORO2A* candidate gene and to detect the role of natural selection in its formation. *Materials and methods.* We analyzed 925 DNA samples of women from two ethnic groups: Russian and Yakut (a group of patients with PE, N=412 women and a control group, N=513 women). The search of rSNPs was conducted using the online resource «RegulomeDB». Genotyping was performed using MALDI-TOF mass-spectrometry. Chi-square or Fisher's exact tests were used to compare the frequencies of alleles and genotypes between the analyzed groups. We used the INSIGHT method to detect the signals of natural selection in the evolutionary line of parvorder Catarrhini. *Results.* In the Russian population, for the allele C of regulatory polymorphism variant rs10985257 has been shown to associate with preeclampsia (p=0.005, OR=2.33, CI:1.32-4.11), while the allele A (p=0.005, OR=0.43, CI:0.24-0.76) and genotype AA (p=0.02, OR=0.45, CI:0.24-0.85) have protective properties. In the evolutionary line of parvorder Catarrhini we demonstrated the effect of weak negative selection for rs10985257, rs2231656 and rs78486797. *Conclusions.* We demonstrated a significant role of the rs10985257 and adaptive changes of this rSNP at the macroevolutionary level in the formation of hereditary predisposition to PE.

Keywords: preeclampsia; regulatory single-nucleotide polymorphisms (rSNPs); association study; *CORO2A* gene; placenta; transcriptome; natural selection

Information for citation: Serebrova VN, Trifonova EA, Stepanov VA. Evolyutsionno-geneticheskiy analiz roli regulyatornykh uchastkov gena *CORO2A* v formirovanii nasledstvennoy predraspolozhennosti k preeklampsii u russkikh i yakutov [Evolutionary-genetic analysis of the role of regulatory regions in CORO2A gene in the development of hereditary predisposition to preeclampsia in russian and yakut ethnic groups]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):83-93. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-8

Введение. В настоящее время использование подходов эволюционной биологии в изучении различных аспектов многофакторных заболеваний (МФЗ), включая и анализ их генетической архитектуры, приобретает широкое распространение. Результаты ряда проведенных на сегодняшний день исследований свидетельствуют о значимой роли естественного отбора и адаптивных факторов в происхождении генетической компоненты распространенных болезней [12, 18]. Изучение адаптивных изменений в геноме человека, возникших в условиях новой среды обитания с момента расселения *Homo sapiens* из Африки около 100 тыс. лет назад, способствует не только пониманию процессов формирования генетического разнообразия в современных популяциях, а также может использоваться для оценки роли их фенотипических проявлений в развитии болезней и здоровья современного человека и рассматриваться в качестве способа обнаружения «упущенной наследуемости» при МФЗ [25, 27].

В настоящем исследовании эволюционный подход к анализу генетической архитектуры МФЗ был применен в отношении преэклампсии (ПЭ) – наиболее тяжелого гипертензивного расстройства беременности, для которого на сегодняшний день отсутствуют прогностические биомаркеры и эффективная фармакологическая терапия, что определяет высокую частоту материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [9]. Общепризнанно, что основной причиной ПЭ является нарушение процессов формирования плацентарной ткани в ранние сроки гестации, тогда как главным патогенетически значимым процессом в развитии данной патологии считается нарушение ремоделирования спиральных артерий [28]. В связи с этим, все большее внимание направлено на изучение вариабельности уровня экспрессии генов плацентарной ткани при ПЭ и физиологично протекающей беременности, а также регуляции данных изменений [5, 20]. В свою очередь, регуляторные полиморфные варианты (rSNP) представляют значительный интерес, поскольку путем изменения уровня экспрессии кандидатных генов могут играть значимую роль в развитии различных патологических состояний человека [1, 17].

Существенный интерес в контексте ведущей роли плаценты в этиопатогенезе данной патологии беременности представляет эволюционный подход к анализу генетической архитектуры ПЭ по системе генов, вовлеченных в молекулярные процессы, происходящие в плацентарной ткани. Так, риск развития гестационных осложнений, связанных с аномалиями плаценты (ПЭ и послеродовое кровотечение) может быть следствием действия естественного отбора на гены, продукты которых вовлечены в регуляцию глубины инвазии трофобласта и ремоделирования спиральных артерий [7]. Существует предположение, согласно которому в эволюции степени инвазивности плаценты в линии предков человекообразных обезьян участвовал положительный отбор, направленный на гены, кодирующие белки, которые определяют глубину инвазии цитотрофобласта и ремоделирование спиральных артерий [22]. По результатам недавних исследований показано, что для представителей семейства Hylobatidae (гиббон) характерна малая глубина инвазии трофобласта и расширение спиральных артерий внутри децидуальной оболочки, тогда как у представителей подсемейства Homininae (человек, шимпанзе, горилла) наблюдается глубокая степень инвазии трофобласта и ремоделирование спиральных артерий, проходящее в миометрий. Однако следует отметить, что развитие ПЭ характерно прежде всего для человека, имеются редкие сообщения о возникновении данной патологии у обезьян: горилл, шимпанзе, макак [13, 24].

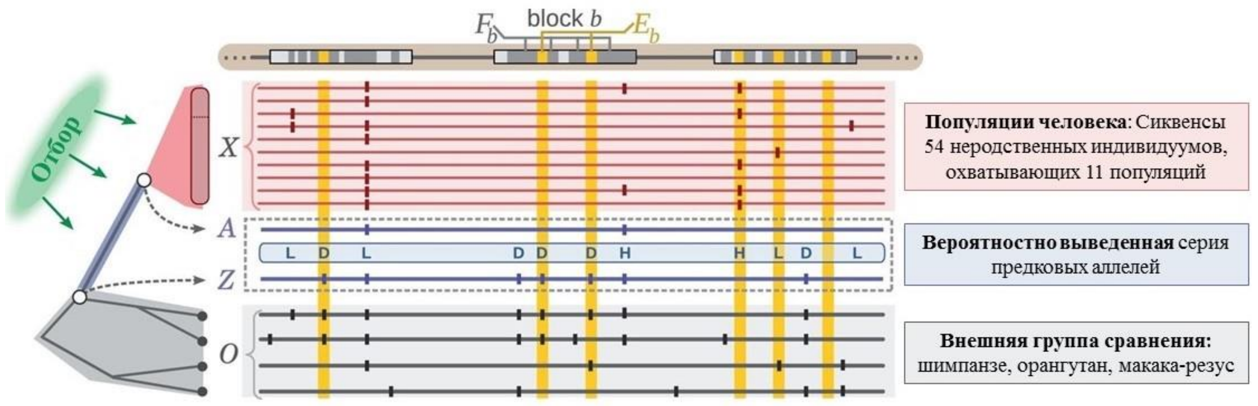
Цель исследования. Охарактеризовать генетическую архитектуру ПЭ по системе rSNP нового гена-кандидата *CORO2A*, впервые выявленного благодаря исследованию транскриптома плацентарной ткани [5, 19, 21] и изучить роль естественного отбора на макроэволюционном уровне в ее формировании.

Материал и методы исследования. В исследовании было проанализировано 925 образцов ДНК женщин из двух этнических выборок: русские из г. Томск (N=498 чел.) и якуты из г. Якутск (N=427 чел.). Группа больных ПЭ включала 412 женщин с умеренной и тяжелой степенью ПЭ (русские, N=195 чел., средний возраст 30±7 лет; якуты, N=217 чел., средний возраст 28±6 лет) и была неоднородной по наличию ранее предшествующих и сопутствующих фоновых заболеваний. Диагноз «преэклампсия» установлен врачами-акушерами в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Контрольная группа представлена 513 женщинами с физиологичной беременностью и родами, отсутствием неблагоприятного акушерского анамнеза (русские, N=303 чел., средний возраст 27±5 лет; якуты, N=210 чел., средний возраст 32±7 лет). Материал собран на базе МАУЗ «Родильный дом № 4» и ОГАУЗ «Областной перинатальный центр» г. Томска, Перинатального центра РБ№4 г. Якутска.

Для поиска значимых rSNP использовали онлайн ресурс «RegulomeDB» [10]. Поиск rSNP проводили с учетом расстояний – 5000 п.н. от начала и + 5000 п.н. от конца гена, в которых расположены энхансеры и инсуляторы [2, 11]. Критерием отбора служили значения «score» равные 1, 2 и 3, определяющие степень доказательности регуляторного потенциала каждого полиморфного варианта гена *CORO2A*, таким образом было выявлено 57 rSNP. Только 39 rSNP встречались с частотой редкого аллеля более 5% (в среднем по популяциям из проекта «1000 геномов»), из которых в состав мультиплекса для дальнейшего анализа вошли 5 rSNP: rs10985257, rs2231656, rs56916178, rs735111, rs78486797. Генотипирование проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на масс-спектрометре «MassARRAY Analyzer 4» («Sequenom», США), как описано ранее [4], последовательности праймеров доступны по запросу.

Проверку распределения наблюдаемых частот генотипов на соответствие ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга осуществляли с помощью точного теста Фишера. Для сравнения частот аллелей и генотипов между анализируемыми группами использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса или двусторонний точный тест Фишера. Для оценки ассоциаций rSNP с развитием ПЭ рассчитывали показатель отношение шансов (OR). Поиск сигналов естественного отбора на макроэволюционном уровне проводили с использованием нового вычислительного ресурса INSIGHT, основанного на методе комбинации межвидовой дивергенции и внутривидового разнообразия (рисунок) [15]. Внешняя группа сравнения была представлена геномами представителей парвотряда Catarrhini: шимпанзе, орангутан и макака-резус, геномы выровнены в соответствии с геномом человека (hg19) база данных «UCSC Genome Browser». Данные о полиморфных вариантах человека получены из полногеномных сиквенсов 54 неродственных индивидуумов, представителей 11 популяций (база «Complete Genomics»): LWK – лухья (г. Уэбуай, Кения), MKK – масаи (Кения), YRI – йоруба (г. Ибадан, Нигерия), ASW – афроамериканцы (США), TSI – тосканцы (Италия), CEU – европейцы (штат Юта, США), GIH – индийцы (выходцы из штата Гуджарат, проживающие в г. Хьюстон, США), CHB – китайцы (г. Пекин), JPT – японцы (г. Токио), MXL – мексиканцы (проживающие в г. Лос-Анджелес, США), PUR – пуэрториканцы (Пуэрто-Рико) [8, 15].

Проведение исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Экспериментальные исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.



	мономорфный		полиморфный	
	N	D	L	H
нейтральный	+	+	+	+
сильный очищающий	+	-	-	-
слабый очищающий	+	-	+	-
положительный	+	+	-	-

	нейтральный	под отбором
N	(1-λ)(1-θ)	(1-ηλ)(1-γθ)
D	λ(1-θ)	ηλ
L	βθ	(1-ηλ)γθ
H	(1-β)θ	0

Горизонтальные линии представляют собой индивидуальные последовательности генома популяций человека (X, красный цвет) или внешней группы сравнения (O, серый цвет). Филогенетическая модель (слева) используется для вероятностного выведения серии предковых аллелей (A и Z) с маркировкой сайтов N, D, L или H (где N – мономорфный недивергентный сайт, D – мономорфный дивергентный сайт, L – полиморфный сайт с низкой частотой производного аллеля (5-35%), H – полиморфный сайт с высокой частотой производного аллеля (65-95%)). В таблице слева представлена модель для естественного отбора, на основе которой происходит оценка общей доли участков, находящихся под отбором (ρ). Таблица справа – вероятностная модель, содержит следующие параметры: λ – нейтральная скорость расхождения между предковым геномом (Z) и популяциями человека (A); θ – нейтральная скорость возникновения полиморфизмов, представлена скоростью мутаций в масштабе популяции; β – относительная частота нейтральных полиморфных участков с низкой частотой аллеля среди нейтральных полиморфизмов; η – отношение скорости дивергенции на сайтах под отбором к нейтральной скорости дивергенции; γ – отношение скорости возникновения полиморфизма на сайтах под отбором к нейтральной скорости возникновения полиморфизма. Желтым цветом обозначены сайты, находящиеся под действием отбора, выявленные путем сравнения частоты четырех классов (N, D, L и H) в пределах элементов с теми, которые находятся во фланкирующих нейтральных сайтах (темно-серый цвет) [15].

Рис. Основной принцип метода INSIGHT
Fig. The main principle of the INSIGHT method

Результаты исследования. Ген *CORO2A*, является новым геном-кандидатом ПЭ и впервые выявлен благодаря исследованию транскриптома плацентарной ткани. Следует отметить, что в опубликованных литературных данных отсутствует информация о роли его однонуклеотидных полиморфных вариантов в развитии данной патологии беременности. Тогда как в исследовании, проведенном нами ранее на меньших объемах выборок [3], показана ассоциация с ПЭ для двух rSNP гена *CORO2A*: rs10985257 в этнических выборках русских и якутов, rs735111 в популяции якутов.

Краткая характеристика изученных пяти rSNP и распределение частот их предковых аллелей в исследуемых этнических выборках, полученных в настоящем исследовании, представлена в таблице. В обследуемых группах для большинства rSNP наблюдалось соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга за исключением трех rSNP в популяции русских: rs78486797 в группе контроля и rs10985257, rs2231656 в группе больных ПЭ, что может отражать специфику популяционно-генетических процессов, происходящих в популяции или функциональную значимость данных rSNP. В целом, частоты генотипов и аллелей соответствовали диапазону частот, наблюдаемому в мировых популяциях по данным проекта «1000 геномов» [6]. Из пяти изученных rSNP полиморфными оказались все, за исключением: rs78486797 во всех изученных группах этнической выборки якутов и группе больных ПЭ в этнической выборке русских. Анализ генетического разнообразия распределения частот генотипов между группами контроля и между группами больных ПЭ, исследуемых этнических выборок выявил статистически значимые различия для rs56916178 (χ^2=9.05, p=0.01) в контрольных группах и rs10985257 (χ^2=9.53, p=0.009) в группах с ПЭ. Вероятно, наблюдаемая вариабельность распределения частот генотипов отражает эволюционные процессы, происходившие в ходе формирования данных популяций.

Результаты анализа распределения частот аллелей и генотипов пяти rSNP гена *CORO2A* продемонстрировали статистически значимую ассоциацию с развитием ПЭ для rs10985257 в этнической выборке русских. Так, значимое повышение частоты встречаемости аллеля С (p=0.005, OR=2.33, CI:1.32-4.11) и снижение частоты генотипа АА (p=0.02, OR=0.45, CI:0.24-0.85) и аллеля А (p=0.005, OR=0.43, CI:0.24-0.76) было показано в группе больных ПЭ по сравнению с группой контроля. Примечательно, что в этнической выборке якутов ни для одного из изученных rSNP не было выявлено статистически значимых ассоциаций с развитием ПЭ.

Таблица

Характеристика изученных rSNP и распределение частот их предковых аллелей (%) в анализируемых группах

Table

Characteristics of the studied rSNPs and the frequency of their ancestral alleles (%) in the analyzed groups

rSNP, значение «score»	Локализация в гене	ПА	Обследованные группы			
			Русские		Якуты	
			ПЭ	К	ПЭ	К
rs10985257, 3a	Интрон	A	83.1	92.0	92.4	96.2
rs2231656, 3a	Интрон вблизи 5'-UTR	C	96.8	97.8	96.9	96.9
rs56916178, 2b	Интрон вблизи 5'-UTR	T	91.1	87.6	91.4	93.7
rs735111, 1f	Экзон	G	87.4	86.0	82.2	86.8
rs78486797, 2b	Вблизи 5'-UTR	G	99.7	99.0	100	100

Значение «score» базы данных «RegulomeDB», характеризующее степень доказательности регуляторного потенциала SNP, обозначено цифровыми и буквенными символами; Наибольшим регуляторным потенциалом обладают rSNP со значением «score» равным 1a (регуляторный потенциал уменьшается с увеличением цифрового значения и в алфавитном порядке). Локализация rSNP определена согласно данным базы «NSBI». ПА – предковый аллель, ПЭ – группа больных с преэклампсией, К – контрольная группа.

При проведении оценки роли действия естественного отбора на формирование генетической структуры пяти rSNP с помощью метода INSIGHT в эволюционной линии представителей парвотряда Catarrhini (человек, шимпанзе, орангутан, макака-резус) на первом этапе расчетов из анализа автоматически были исключены два rSNP (rs56916178 и rs735111), что обусловлено одной из причин: сайт исключен на этапе геномной фильтрации, отсутствуют данные о полиморфном варианте, данные о сиквенсах внешней группы сравнения недостаточны для проведения анализа. Действие слабого очищающего отбора показано для трех rSNP гена *CORO2A*: rs10985257 (апостериорная вероятность 92.11%, p<0.01), rs2231656 (апостериорная вероятность 92.10%, p<0.01) и rs78486797 (апостериорная вероятность 92.14%, p<0.01). Полученные результаты свидетельствуют о консервативном характере данных rSNP в ряду представителей изученной эволюционной линии, возникшем за счет удержания производных аллелей в популяциях на низком уровне. Примечательно, что в этнической выборке русских для rs10985257 при ПЭ характерно значимое повышение частоты производного аллеля C по сравнению с контрольной группой, в то время как предковый аллель A и генотип AA обладают протективными свойствами.

Обсуждение. В настоящем исследовании проведен эволюционно-генетический анализ роли пяти rSNP нового гена-кандидата *CORO2A* в формировании структуры наследственной подверженности к ПЭ. Результаты анализа распределения частот аллелей и генотипов исследуемых rSNP, проведенного на большем объеме выборок, продемонстрировали статистически значимую ассоциацию с развитием ПЭ для rs10985257 в этнической выборке русских, тогда как для rs10985257 и rs735111 в этнической выборке якутов ассоциация с данной патологией беременности не была подтверждена. Поиск сигналов естественного отбора в эволюционной линии парвотряда Catarrhini выявил действие слабого очищающего отбора для трех rSNP: rs10985257, rs2231656 и rs78486797.

Как было отмечено нами ранее [3] ген *CORO2A* (Coronin 2A) является новым геном-кандидатом ПЭ, функции которого на сегодняшний день недостаточно изучены. Однако известно, что продукт данного гена – коронин 2A, принадлежит семейству актин-связывающих белков и вовлечен в процессы, связанные с мембранным транспортом, клеточной подвижностью, трансдукцией межклеточных сигналов. Кроме того, результаты недавнего исследования продемонстрировали способность коронина 2A осуществлять дерепрессию Toll-подобных рецепторов генов-мишеней в макрофагах [16], что способствует формированию воспалительного ответа и, вероятно, может приводить к развитию ПЭ. Следует также отметить, что при ПЭ в плацентарной ткани наблюдается гиперэкспрессия гена *CORO2A* [5, 19, 21].

Примечательно, что ассоциированный в данном исследовании с развитием ПЭ у русских регуляторный полиморфный вариант rs10985257, согласно базе данных «RegulomeDB» располагается в сайте связывания с транскрипционным фактором (ТФ) CEBPB (CCAAT/Enhancer Binding Protein Beta). Данный ТФ играет важную роль в регуляции генов, участвующих в иммунных и воспалительных реакциях, действует как модулятор окислительного стресса. Также известно о способности ТФ CEBPB подавлять экспрессию ТФ MYC (MYC Proto-Oncogene, BHLH Transcription Factor) [29], что приводит к смещению дифференцировки Т-клеток в сторону Т-хелперов 2 типа, которые играют важную роль в успешной беременности путем регулирования иммунного ответа на плод, в то время как для ПЭ характерно смещение баланса в пользу Т-хелперов 1 типа [14, 26]. Важно отметить, что в условиях гипоксии наблюдается повышение уровня экспрессии ТФ CEBPB, что способствует нарушению инвазии вневорсинчатого трофобласта, поверхностной плацентации и, как следствие, развитию ПЭ [23, 30]. Таким образом, регуляторный полиморфный вариант rs10985257 может быть вовлечен в этиопатогенез ПЭ на стадии формирования плаценты посредством взаимодействия с ТФ CEBPB.

Полученные в настоящем исследовании результаты свидетельствуют о консервативном характере трех rSNP (rs10985257, rs2231656 и rs78486797) среди представителей эволюционной линии парвотряда Catarrhini и демонстрируют, что слабый очищающий отбор является значимым эволюционным фактором, действующим на регуляторные участки гена *CORO2A*. Вероятно, все указанные rSNP могут вносить вклад в формирование наследственной подверженности к ПЭ в современных популяциях человека. Доказательством этого предположения может служить полученная в настоящей работе ассоциация rs10985257 с развитием ПЭ в русской этнической выборке. Так, было показано, что действие слабого очищающего отбора приводит к элиминации производного аллеля C, ассоциированного с данной патологией и закреплению предкового аллеля A, обладающего протективными свойствами.

Заключение. Полученные в настоящей работе данные выявили значимую роль rs10985257 гена *CORO2A* и адаптивных изменений данного регуляторного полиморфного варианта на макроэволюционном уровне в формировании наследственной предрасположенности к развитию ПЭ. Продемонстрировано, что слабый очищающий отбор на таком значительном филогенетическом расстоянии является значимым эволюционным фактором, действующим на регуляторные участки исследуемого гена.

В целом, результаты проведенного исследования показали применимость эволюционного подхода к анализу формирования структуры наследственной подверженности к ПЭ. Для дальнейшего анализа эволюционной компоненты данной патологии беременности предполагается расширить список изучаемых rSNP.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Поиск регуляторных SNPs, связанных с развитием рака толстой кишки, в генах *APC* и *MLH1* / Е.В. Антонцева [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011. Т. 15, N 4. С. 644-652.

2. Разин С.В., Гаврилов А.А., Ульянов С.В. Регуляторные элементы эукариотического генома, контролирующие транскрипцию // Молекулярная биология. 2015. Т. 49, N 2. С. 212-223.

3. Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Роль регуляторных участков гена *CORO2A* в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии // Медицинская генетика. 2016. Т. 15, N 5. С. 32-34.

4. Степанов В.А., Трифонова Е.А. Мультиплексное генотипирование однонуклеотидных полиморфных маркеров методом масс-спектрометрии MALDI-TOF: частоты 56 SNP в генах иммунного ответа в популяциях человека // Молекулярная биология. 2013. Т. 47, N 6. С. 976-986.

5. Характеристика транскриптома плацентарной ткани у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией / Е.А. Трифонова [и др.] // Acta Naturae. 2014. Т. 6, N 2(21). С. 77-90.

6. A global reference for human genetic variation // 1000 Genomes Project Consortium. Nature. 2015. Vol. 526(7571). P. 68-74.

7. Abrams E.T., Rutherford J.N. Framing postpartum hemorrhage as a consequence of human placental biology: an evolutionary and comparative perspective // Am Anthropol. 2011. Vol. 113(3). P. 417-430.

8. Arbiza L., Gronau I., Aksoy B.A., Hubisz M.J., Gulko B., Keinan A., Siepel A. Genome-wide inference of natural selection on human transcription factor binding sites // Nat Genet. 2013. Vol. 45(7). P. 723-729.

9. Boeldt D.S. Bird I.M. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia // J Endocrinol. 2017. Vol. 232(1). P. R27-R44.

10. Boyle A.P., Hong E.L., Hariharan M., Cheng Y., Schaub M.A., Kasowski M., Karczewski K.J., Park J., Hitz B.C., Weng S., Cherry J.M., Snyder M. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB // Genome Res. 2012. Vol. 22(9). P. 1790-1797.

11. Cheung V.G., Spielman R.S., Ewens K.G., Weber T.M., Morley M., Burdick J.T. Mapping determinants of human gene expression by regional and genome-wide association // Nature. 2005. Vol. 437(7063). P. 1365-1369.

12. Corbo R.M., Gambina G., Scacchi R. How contemporary human reproductive behaviors

influence the role of fertility-related genes: the example of the p53 gene // PLoS One. 2012. Vol. 7(4). e35431.

13. Elliot M.G. Oxidative stress and the evolutionary origins of preeclampsia // J Reprod Immunol. 2016. N 114. P. 75-80.

14. Gathiram P., Moodley J. Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology // Cardiovasc J Afr. 2016. Vol. 27(2). P. 71-78.

15. Gronau I., Arbiza L., Mohammed J., Siepel A. Inference of natural selection from interspersed genomic elements based on polymorphism and divergence // Mol Biol Evol. 2013. Vol. 30(5). P. 1159-1171.

16. Huang W., Ghisletti S., Saijo K., Gandhi M., Aouadi M., Tesz G.J., Zhang D.X., Yao J., Czech M.P., Goode B.L., Rosenfeld M.G., Glass C.K. Coronin 2A mediates actin-dependent derepression of inflammatory response genes // Nature. 2011. Vol. 470(7334). P. 414-418.

17. Jones B.L., Swallow D.M. The impact of cis-acting polymorphisms on the human phenotype // Hugo J. 2011. Vol. 5(1-4). P. 13-23.

18. Kirwan J.D., Bekaert M., Commins J.M., Davies K.T., Rossiter S.J., Teeling E.C. A phylomedicine approach to understanding the evolution of auditory sensory perception and disease in mammals // Evol Appl. 2013. Vol. 6(3). P. 412-422.

19. Løset M., Mundal S.B., Johnson M.P., Fenstad M.H., Freed K.A., Lian I.A., Eide I.P., Bjørge L., Blangero J., Moses E.K., Austgulen R. A transcriptional profile of the decidua in preeclampsia // Am J Obstet Gynecol. 2011. Vol. 204(1). P. e1-27.

20. Louwen F., Muschol-Steinmetz C., Reinhard J., Reitter A., Yuan J. A lesson for cancer research: placental microarray gene analysis in preeclampsia // Oncotarget. 2012. Vol. 3(8). P. 759-773.

21. Meng T., Chen H., Sun M., Wang H., Zhao G., Wang X. Identification of differential gene expression profiles in placentas from preeclamptic pregnancies versus normal pregnancies by DNA microarrays // OMICS. 2012. Vol. 16(6). P. 301-311.

22. Pijnenborg R., Vercruysse L., Hanssens M. Fetal-maternal conflict, trophoblast invasion, preeclampsia, and the red queen // Hypertens Pregnancy. 2008. Vol. 27(2). P. 183-196.

23. Radde J., Löning T., Bamberger A.M. Expression pattern of the CCAAT/enhancer-binding protein C/EBP-beta in gestational trophoblastic disease // Int J Gynecol Pathol. 2004. Vol. 23(4). P. 373-377.

24. Robillard P.Y., Hulsey T.C., Dekker G.A., Chaouat G. Preeclampsia and human reproduction. An essay of a long term reflection // J Reprod Immunol. 2003. Vol. 59(2). P. 93-100.

25. Saeb A.T., Al-Naqeb D. The impact of evolutionary driving forces on human complex diseases: a population genetics approach // Scientifica (Cairo). 2016. 2016:2079704.

26. Saito S., Sakai M. Th1/Th2 balance in preeclampsia // J Reprod Immunol. 2003. Vol. 59(2). P. 161-173.

27. Scheinfeldt L.B., Tishkoff S.A. Recent human adaptation: genomic approaches, interpretation and insights // Nat Rev Genet. 2013. Vol. 14(10). P. 692-702.

28. Tannetta D., Sargent I. Placental disease and the maternal syndrome of preeclampsia: missing links? // Curr Hypertens Rep. 2013. Vol. 15(6). P. 590-599.

29. Tinel M., Berson A., Elkahwaji J., Cresteil T., Beaune P., Pessayre D. Downregulation of cytochromes P450 in growth-stimulated rat hepatocytes: role of c-Myc induction and impaired C/EBP binding to DNA // J Hepatol. 2003. Vol. 39(2). P. 171-178.

30. Zhuang B., Luo X., Rao H., Li Q., Shan N., Liu X., Qi H. Oxidative stress-induced C/EBPβ inhibits β-catenin signaling molecule involving in the pathology of preeclampsia // Placenta. 2015. Vol. 36(8). P. 839-846.

References

1. Antontseva EV, Bryizgalov LO, Matveeva MYu, et al. Poisk regulyatornyih SNPs, svyazannyih s razvitiem raka tolstoy kishki, v genah *ARS* i *MLH1* [Search for regulatory SNPs associated with colon cancer in the *APC* and *MLH1* genes]. Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. 2011;15(4):644-652. Russian.

2. Razin SV, Ulyanov SV, Gavrilov AA. Transcription-controlling regulatory elements of the eukaryotic genome. Molecular Biology. 2015;49(2):185-194.

3. Serebrova VN, Trifonova EA, Stepanov VA. Rol regulyatornyih uchastkov gena *CORO2A* v formirovanii nasledstvennoy predraspolozhennosti k preeklampsii [The role of *CORO2A* gene regulatory sites in the development of predisposition to preeclampsia]. Meditsinskaya genetika. 206;15(5):32-34. Russian.

4. Stepanov VA, Trifonova EA. Multiplex SNP genotyping by MALDI-TOF mass spectrometry: Frequencies of 56 immune response gene SNPs

in human populations. Molecular Biology. 2013;47(6):852-862.

5. Trifonova EA, Gabidulina TV, Ershov NI, et al. Analysis of the placental tissue transcriptome of normal and preeclampsia complicated pregnancies. Acta Naturae. 2014.6(2):71-83.

6. 1000 Genomes Project Consortium. A global reference for human genetic variation. Nature. 2015;526(7571):68-74.

7. Abrams ET, Rutherford JN. Framing postpartum hemorrhage as a consequence of human placental biology: an evolutionary and comparative perspective. Am Anthropol. 2011;113(3):417-430.

8. Arbiza L, Gronau I, Aksoy BA, et al. Genome-wide inference of natural selection on human transcription factor binding sites. Nat Genet. 2013;45(7):723-729.

9. Boeldt DS, Bird IM. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. J Endocrinol. 2017;232(1):R27-R44.

10. Boyle AP, Hong EL, Hariharan M, et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. Genome Res. 2012;22(9):1790-1797.

11. Cheung VG, Spielman RS, Ewens KG, et al. Mapping determinants of human gene expression by regional and genome-wide association. Nature. 2005;437(7063):1365-1369.

12. Corbo RM, Gambina G, Scacchi R. How contemporary human reproductive behaviors influence the role of fertility-related genes: the example of the p53 gene. PLoS One. 2012;7(4):e35431.

13. Elliot MG. Oxidative stress and the evolutionary origins of preeclampsia. J Reprod Immunol. 2016;114:75-80.

14. Gathiram P, Moodley J. Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology. Cardiovasc J Afr. 2016;27(2):71-78.

15. Gronau I, Arbiza L, Mohammed J, Siepel A. Inference of natural selection from interspersed genomic elements based on polymorphism and divergence. Mol Biol Evol. 2013;30(5):1159-1171.

16. Huang W, Ghisletti S, Saijo K, et al. Coronin 2A mediates actin-dependent de-repression of inflammatory response genes. Nature. 2011;470(7334):414-418.

17. Jones BL, Swallow DM. The impact of cis-acting polymorphisms on the human phenotype. Hugo J. 2011;5(1-4):13-23.

18. Kirwan JD, Bekaert M, Commins JM, et al. A phylomedicine approach to understanding the evolution of auditory sensory perception and disease in mammals. Evol Appl. 2013;6(3):412-422.

19. Løset M, Mundal SB, Johnson MP, et al. A transcriptional profile of the decidua in preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2011;204(1):e1-27.

20. Louwen F, Muschol-Steinmetz C, Reinhard J, et al. A lesson for cancer research: placental microarray gene analysis in preeclampsia. Oncotarget. 2012;3(8):759-773.

21. Meng T, Chen H, Sun M, et al. Identification of differential gene expression profiles in placentas from preeclamptic pregnancies versus normal pregnancies by DNA microarrays. OMICS. 2012;16(6):301-311.

22. Pijnenborg R, Vercruysse L, Hanssens M. Fetal-maternal conflict, trophoblast invasion, preeclampsia, and the red queen. Hypertens Pregnancy. 2008;27(2):183-196.

23. Radde J, Löning T, Bamberger AM. Expression pattern of the CCAAT/enhancer-binding protein C/EBP-beta in gestational trophoblastic disease. Int J Gynecol Pathol. 2004;23(4):373-377.

24. Robillard PY, Hulsey TC, Dekker GA, Chaouat G. Preeclampsia and human reproduction. An essay of a long term reflection. J Reprod Immunol. 2003;59(2):93-100.

25. Saeb AT, Al-Naqeb D. The impact of evolutionary driving forces on human complex diseases: a population genetics approach. Scientifica (Cairo). 2016;2016:2079704.

26. Saito S, Sakai M. Th1/Th2 balance in preeclampsia. J Reprod Immunol. 2003;59(2):161-173.

27. Scheinfeldt LB, Tishkoff SA. Recent human adaptation: genomic approaches, interpretation and insights. Nat Rev Genet. 2013;14(10):692-702.

28. Tannetta D, Sargent I. Placental disease and the maternal syndrome of preeclampsia: missing links? Curr Hypertens Rep. 2013;15(6):590-599.

29. Tinel M, Berson A, Elkahwaji J, et al. Downregulation of cytochromes P450 in growth-stimulated rat hepatocytes: role of c-Myc induction and impaired C/EBP binding to DNA. J Hepatol. 2003;39(2):171-178.

30. Zhuang B, Luo X, Rao H, et al. Oxidative stress-induced C/EBPβ inhibits β-catenin signaling molecule involving in the pathology of preeclampsia. Placenta. 2015;36(8):839-846.

Сереброва Виктория Николаевна, младший научный сотрудник.
Трифонова Екатерина Александровна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник.
Степанов Вадим Анатольевич, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор, руководитель лаборатории эволюционной генетики, директор НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Serebrova Victoria Nicolaevna, Junior Researcher.
Trifonova Ekaterina Aleksandrovna, Candidate of Medical Sciences, Researcher.
Stepanov Vadim Anatolevich, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Evolutionary genetics, Director of the Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC.

Статья поступила в редакцию 19 мая 2018 г.

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-9

**Скачилова С.Я.,
Котельникова А.С.,
Тимохина А.С.,
Щеблыкина О.В.**

ОЦЕНКА АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА В ОПЫТАХ IN VITRO

Акционерное общество «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ»,
142450, Россия, Московская область, Ногинский район, город Старая Купавна, ул. Кирова, 23
E-mail: timoxina_alena@bk.ru

Аннотация. *Актуальность.* Поиск потенциальных кардио- и церебропротекторных средств, среди производных оксипиридина, является актуальным, поскольку среди них обнаружены соединения, обладающие антигипоксической, антиоксидантной активностью, оригинальный спектр нейротропного действия лекарственных препаратов на уровне нейронов (анксиолитический, антистрессовый, противосудорожный, церебропротекторный, противопаркинсонический, антиамнестический и противоалкогольный), улучшают мозговое кровообращение, ингибируют агрегацию тромбоцитов, увеличивают антитромбогенный потенциал крови, снижают общий уровень холестерина, оказывают кардиопротекторный и антиатеросклеротический эффекты. *Цель исследования.* Изучить влияние препаратов этилметилгидроксипиридина сукцинат на интенсивность протеолиза в экстракте ткани головного мозга и сыворотке крови крыс in vitro. *Материалы и методы.* Оценка антигипоксической активности производилась с помощью тест-системы моделирующей условия гипоксии in vitro. *Результаты.* В ходе эксперимента было установлено: количество живых клеток в группе №1 (положительный контроль) составляло 46.82±8.15, мертвых – 23.64±5.52; в группе №2 (отрицательный контроль, 10% раствора формалина) – живых клеток – 32.27±5.18; мертвых – 40.91±7.69; в группе №3 (модель гипоксии) – живых клеток – 30.91±3.75, мертвых – 35.45±10.60; в группе №4 (добавление Мексиприма 0.01 моль/л) живых клеток – 56.36±6.36, мертвых клеток 31.82±4.05; в группе №5 (добавление Мексиприма 0.01 моль/л при гипоксии) количество живых клеток составило 53.18±7.17, мертвых клеток 35.45±4.72. На модели гипоксии in vitro установлено, что препарат Мексидол достоверно повышает жизнеспособность клеток в условиях гипоксии по сравнению с группой контроля (53.18±7.17% против 30.91±3.75, при $p<0.05$). *Заключение.* Установлено, что предложенный метод оценки антигипоксической активности in vitro с использованием в качестве препарата-референса этилметилгидроксипиридина сукцината актуально при скрининге инновационных молекул.

Ключевые слова: этилметилгидроксипиридина сукцинат; мексидол; мексиприм; гипоксия

Информация для цитирования: Оценка антигипоксической активности этилметилгидроксипиридина сукцината в опытах in vitro / С.Я. Скачилова [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 94-99. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-9

S.Ya. Skachilova,
A.S. Kotelnikova,
A.S. Timokhina,
O.V. Shcheblykina

EVALUATION OF ANTIHYPOXIC ACTIVITY OF ETHYLMETHYLHYDROXIPYRIDINE SUKCINATE IN IN VITRO EXPERIMENTS

All-Russian Scientific Center for Safety of Biologically Active Substances,
23 Kirov St., Staraya Kupavna, Noginsk District, Moscow Region, Russia, 142450
E-mail: timoxina_alena@bk.ru

Abstract. *Background*. The search for potential cardio- and cerebroprotective agents among the derivatives of oxypyridine is topical, since they are proven to contain the compounds with antihypoxic, antioxidant activity, and the original spectrum of neurotropic action of drugs at the level of neurons (anxiolytic, antistress, anticonvulsant, cerebroprotective, antiparkinsonic, antiamnestic and antialcoholic), improve cerebral circulation, inhibit platelet aggregation, increase the antithrombogenic potential of blood, reduce total cholesterol, have a cardioprotective and anti-atherosclerotic effects. *The aim of the study.* To study the effect of the preparations of ethylmethylhydroxypyridine succinate on the intensity of proteolysis in the extract of the brain tissue and serum of rats in vitro. *Materials and methods.* The evaluation of antihypoxic activity was performed using a test system for modeling the hypoxia condition in vitro. *Results.* In the course of the experiment it was established that the number of living cells in group No. 1 (positive control) was 46.82±8.15, the dead number was 23.64±5.52; in group 2 (negative control, 10% formalin solution) – living cells – 32.27±5.18; of the dead – 40.91±7.69; in the group №3 (model of hypoxia) – living cells – 30.91±3.75, dead – 35.45±10.60; in group number 4 (addition of Mexiprim 0.01 mol/l) of living cells – 56.36±6.36, dead cells 31.82±4.05; in group number 5 (addition of Mexiprim 0.01 mole/l in hypoxia), the number of living cells was 53.18±7.17, dead cells 35.45±4.72. On the model of hypoxia in vitro, it was established that the Meksid product significantly increases the viability of cells under conditions of hypoxia in comparison with the control group (53.18±7.17% vs. 30.91±3.75, with $p<0.05$). *Conclusion.* It has been established that the proposed method for evaluating antihypoxic activity in vitro, using ethylmethyl hydroxypyridine succinate as a reference substance, is relevant in screening of innovative molecules.

Keywords: ethylmethylhydroxypyridine succinate; mexidol; mexiprim; hypoxia
Information for citation: Skachilova SYa, Kotelnikova AS, Timokhina AS, Shcheblykina OV. Otsenka antigipoksicheskoy aktivnosti etilmetilgidroksipiridina suktsinata v opytakh in vitro [Evaluation of antihypoxic activity of ethylmethylhydroxipyridine sukcinate in in vitro experiments]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):94-99. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-9

Введение. Сердечно-сосудистые заболевания занимают первое место в структуре заболеваемости и смертности, и являются важной медицинской и социальной проблемой [3]. Среди смертельных случаев в Российской Федерации доля ишемической болезни сердца составляет 25.7%, инсультов – 21.4% [7].

В связи с такой далеко неутешительной статистикой существует необходимость в современных инновациях для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Для достижения этой цели, необходимо дальнейшее развитие фундаментальных исследований, целью которых является изменение эндогенного потенциала сердечно-сосудистой системы [8].

Основной задачей лечения сердечно-сосудистых заболеваний является улучшение прогноза заболевания, предупреждение развития осложнений, увеличение продолжительности и улучшение качества жизни, также важно обратить внимание на поиск новых кардио- и церебропротекторных препаратов [4, 5].

Производные 3-оксипиридинового ряда имеют широкий спектр биологических эффектов. Среди них обнаружены соединения, которые обладают антигипоксической, антиоксидантной активностью, оригинальный спектр нейротропного действия лекарственных препаратов на уровне нейронов (анксиолитический, антистрессовый, противосудорожный, церебропротекторный, противопаркинсонический, антиамнестический и противоалкогольный), улучшают мозговое кровообращение, ингибируют агрегацию тромбоцитов, увеличивают антитромбогенный потенциал крови, снижают общий уровень холестерина, оказывают кардиопротекторный и антиатеросклеротический эффекты. Таким образом, целесообразно искать потенциальные кардио- и церебропротективные средства среди производных оксипиридинового ряда [8, 11]. В последние годы активно изучаются лекарственные средства этилметилгидроксипиридина сукцинат и тиотриазолин.

Этилметилмеркаптопиридина сукцинат ингибирует свободно-радикальные процессы окисления липидов и оказывает модулирующее действие на активность связанных с мембраной ферментов и ионных каналов [1, 2]. Выявлено, что этилметилгидроксипиридина сукцинат не оказывает влияния на активность трипсиноподобных, цистеиновых протеиназ и их эндогенных ингибиторов в экстракте мозговой ткани крысы in vitro [10]. Однако, способность этилметилгидроксипиридина сукцината воздействовать на активность протеолитических ферментов и их эндогенных ингибиторов в ткани головного мозга и сыворотке недостаточно изучена [9].

Цель исследования. Изучить влияние препаратов этилметилгидроксипиридина сукцинат и тиотриазолин на интенсивность протеолиза в экстракте ткани головного мозга и сыворотке крови крыс in vitro.

Материалы и методы.

Дизайн исследования включал несколько этапов:

1. Выделение лейкоцитов.
2. Культивирование.
3. Окрашивание прижизненными красителями.
4. Флюоресцентная микроскопия.
5. Анализ результатов методом статистической обработки.

В каждую ячейку 24 луночного планшета добавляли 500 мкл полученной суспензии лейкоцитов, поверх которой добавляли 500 мкл питательной среды RPMI-1640 с глутамином (ПанЭко) – контрольная группа 6 лунок.

В качестве отрицательного контроля использовали 10% раствор формалина – 6 лунок. Для моделирования гипоксии использовали масло Oil for Tissue Culture (для тканевых культур) (SAGE, США), которое вносилось в лунки в количестве 500 мкл поверх питательной среды с глутамином – 6 лунок.

В качестве тестируемого препарата использовался этилметигидроксипиридина сукцинат или препарат с торговой маркой Мексиприм в концентрации 0.01 моль/л, без гипоксии – 6 лунок и с гипоксией – 6 лунок.

Культивирование клеток осуществляли в течении 8 часов в CO_2-инкубаторе, заполненном газовой смесью (95% воздуха + 5% CO_2), при температуре 37ºС и относительной влажности 100%.

Оценку жизнеспособности клеток проводили с использованием двухкомпонентного красителя, включающего 2μM calcein-

AM (Sigma-Aldrich, США) и 4μM Ethidium bromide (Sigma-Aldrich, США). Регистрацию флуоресценции живых и мертвых клеток проводили при помощи микроскопа EclipseTi-S (Nikon, Япония), увеличение x20.

Процент жизнеспособных клеток рассчитывали по формуле: количество мертвых клеток / (количество живых клеток + количество мертвых клеток) x100% [6].

Для подсчета количества клеток использовали специализированное программное обеспечение программу EZ-C1 FreeViewer Ver3.90 (Nikon, Япония).

Статистический анализ производился с помощью программного обеспечения StatSoft

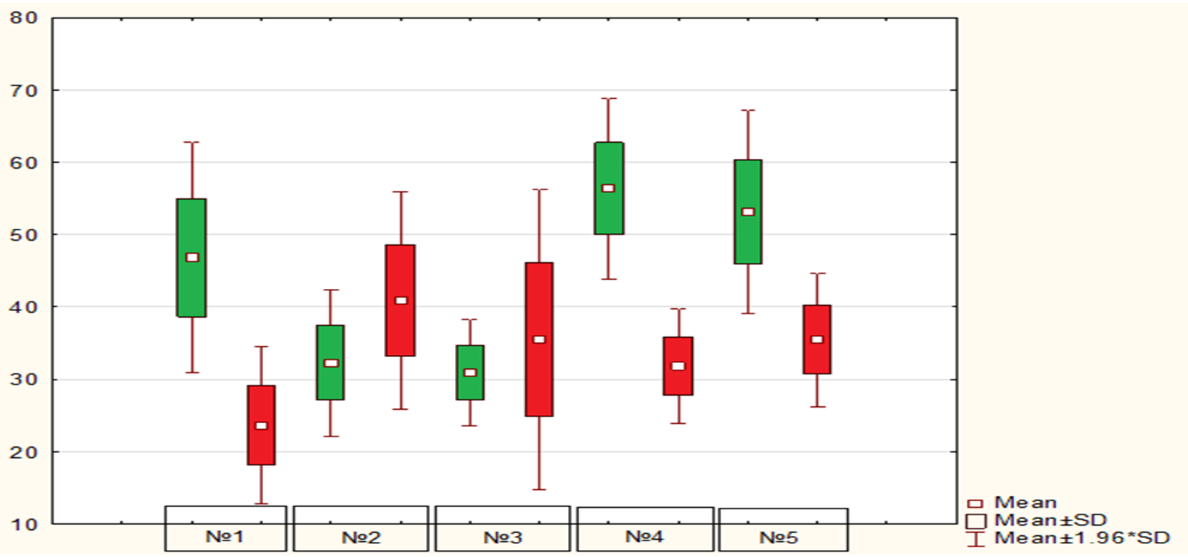
Результаты и их обсуждение. В ходе эксперимента при сравнении статистических данных в представленных исследуемых группах были установлены достоверные статистические различия количества клеток.

Четко прослеживаются достоверные различия в сравнительном количестве клеток в группах (рисунок):

1) Контроль положительный.
2) Контроль отрицательный (с 10% р-ом формалина).
3) Контроль (гипоксия).
4) Контроль положительный + Мексиприм.
5) Контроль (гипоксия) + Мексиприм.

Были установлены достоверные различия (при p<0.01) между группой №1 (положительный контроль) и группами №2 (отрицательный контроль, 10% раствора формалина) №3 (модель гипоксии) со снижением количества жизнеспособных клеток.

Так жизнеспособность клеток во №2 сравнению с №1 группой – 146.82%, что свидетельствует о цитотоксическом эффекте.



*Примечание: №1 – положительный контроль, №2 – отрицательный контроль (с 10% р-ом формалина), №3 – условия гипоксии, №4 –Мексиприм 0,01 моль/л в нормальных условиях; №5 – Мексиприм 0,01 моль/л в условиях гипоксии. * – p<0.05.*

Рис. Результаты эксперимента in vitro
Fig. The results of the in vitro experiment

На ряду с этим в группе №4 (156.36%) и группе №5 (153.18%) процент жизнеспособных клеток был больше по сравнению с группой №1 и имел достоверные различия (при p<0.01), что свидетельствует о стимулирующем и антигипоксическом эффекте препарата Мексиприм, добавленного в культуральную среду.

В ходе эксперимента было установлено: количество живых клеток в группе №1 (положительный контроль) составляло 46.82±8.15, мертвых – 23.64±5.52; в группе №2 (отрицательный контроль, 10% раствора формалина) – живых клеток – 32.27±5.18; мертвых – 40.91±7.69; в группе №3 (модель гипоксии) – живых клеток – 30.91±3.75, мертвых – 35.45±10.60; в группе №4 (добавление Мексиприма 0.01 моль/л) живых клеток – 56.36±6.36, мертвых клеток 31.82±4.05; в группе №5 (добавление Мексиприма 0.01 моль/л при гипоксии) количество живых клеток составило 53.18±7.17, мертвых клеток 35.45±4.72.

О стимулирующем антигипоксическом эффекте препарата Мексиприм, добавленного в культуральную среду. свидетельствует процент жизнеспособных клеток в группе 4 (Мексиприм) и группе 5 (Мексиприм+гипоксия) по сравнению с группой №1 (контроль) и имел достоверные различия (при $p<0.01$).

Заключение. Таким образом, в ходе проведенного исследования установлено, что предложенный метод оценки антигипоксической активности in vitro с использованием в качестве препарата-референса этилметилгидроксипиридина сукцината актуально при скрининге инновационных молекул.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Лисицкая К.В. Цитопротективный и антиоксидантный эффекты препарата «мексидол-вет» на культивируемых клетках человека и собаки (доклинические исследования) // Российский ветеринарный журнал. 2016. Т. 6, N 34. С. 18-22.

2. Чанчаева Е.А., Айзман Р.И., Герасев А.Д. Современное представление об антиоксидантной системе организма человека // Экология человека. 2013. N 7. С. 50-58.

3. Effect of a 3-hydroxypyridine derivative membrane modulator on pharmacological activity of some psychotropic drugs / L.D. Smirnov [et al.] // Bulletin of experimental biology and medicine. 1985. Vol. 99(5). P. 537-540.

4. Effect of Trimetazidine on Carnitine Palmitoyltransferase-1 in the Rat Heart / J. Kennedy, J. Horowitz // Cardiovascular Drugs and Therapy. 1998. N 12. P. 359-363.

5. Evaluation of cardioprotective effects of the incritinmimetics exenatideand vildagliptin in the experiment / A.P. Tarasova [et al.] // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017. Vol. 3(2). P. 57-63.

6. Frimmel G. Immunological methods. Medicine, 1987.

7. Pharmacological protection of the ischemic myocardium by derivatives of 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate and evaluation of their antioxidant activity / S.Ya. Skachilova [et al.] // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2015. Vol.1(1). P. 23-27.

8. Pharmacological screening of substances with cardioprotective effect in the group of 3-oxypyridine derivatives / L.M. Danilenko [et al.] // Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology. 2018. Vol. 4(2). P. 125-131.

9. Study of dose-dependent effect of 2-ethyl-6-methyl-3 hydroxypyridine succinate on the contractile function of isolated rat heat / O.G. Kesarev [et al.] // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017. Vol. 3(1). P. 3-9.

10. Trimetazidine: in vitro influence on heart mitochondrial function / L. Demaison [et al.] // Am J Cardiol. 1995. N 76. P. 31B-37B

11. 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate: new concept of realization of cardioprotective effect / L Danilenko, M Pokrovskii // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2014. Vol. 5(6). P. 1419-1422.

References

1. Lisitskaya KV. Tsitoprotektivny i antioksidantny effekti preparata "meksidol-vet" na kul`tiviruemykh kletkakh cheloveka i sobaki (doklinicheskie issledovaniya) [Cytoprotective and antioxidant effects of the drug "mexidol" on cultured human and dog cells (preclinical studies)]. Rossiykiy veterinarny zhurnal. 2016;6(34):18-22. Russian.

2. Chanchayeva EA, Ayzman RI, Gerasev AD. Sovremennoye predstavleniye ob antioksidantnoy sisteme organizma cheloveka [Modern concept of the antioxidant system of the human body]. Ekologiya cheloveka. 2013;7:50-58. Russian.

3. Smirnov LD, Voronina TA, Dyumaev KM. Effect of a 3-hydroxypyridine derivative membrane modulator on pharmacological activity

of some psychotropic drugs. Bulletin of experimental biology and medicine. 1985;99(5):537-540.

4. Kennedy J, Horowitz J. Effect of trimetazidine on carnitine palmitoyltransferase-1 in the rat heart. Cardiovascular Drugs and Therapy. 1998;12:359-363.

5. Tarasova AP, Danilenko LM, Tatarenkova IA, et al. Evaluation of cardioprotective effects of the incritinmimetics exenatideand vildagliptin in the experiment. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017;3(2):57-63.

6. Frimmel G. Immunological methods. Medicine; 1987.

7. Skachilova SYa, Danilenko LM, Kesarev OG, et al. Pharmacological protection of the ischemic myocardium by derivatives of 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate and evaluation of their antioxidant activity. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2015;1(1):23-27.

8. Danilenko LM, Skachilova SYa, Nadezhdin SV, et al. Pharmacological screening of substances with cardioprotective effect in the group of 3-oxypyridine derivatives. Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology. 2018;4(2):125-131.

9. Kesarev OG, Danilenko LM, Pokrovskii MV, et al. Study of dose-dependent effect of 2-ethyl-6-methyl-3 hydroxypyridine succinate on the contractile function of isolated rat heat. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017;3(1):3-9.

10. Demaison L, Fantini L, Sentex E, et al. Trimetazidine: in vitro influence on heart mitochondrial function. Am J Cardiol. 1995;76:31B-37B.

11. Danilenko LM, Pokrovskiy MV. 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate: new concept of realization of cardioprotective effect. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2014;5(6):1419-1422.

Скачилова Софья Яковлевна, доктор химических наук, профессор, заведующая отделом химии и технологии.

Котельникова Алла Сергеевна, научный сотрудник.

Тимохина Алёна Сергеевна, научный сотрудник.

Щеблыкина Олеся Викторовна, научный сотрудник.

Skachilova Sofya Yakovlevna, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of the Department of Chemistry and Technology.

Kotelnikova Alla Sergeyevna, Researcher.

Timokhina Alyona Sergeevna, Researcher.

Shcheblykina Olesya Viktorovna, Researcher.

Статья поступила в редакцию 13 июня 2018 г.

УДК 576.32/36 **DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-10**

Трифонов Н.И.

ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВ Р16, Р21 И Р53 В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ У ЛЮДЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА В НОРМЕ И ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАРОДОНТИТЕ

Автономная научная некоммерческая организация высшего образования научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»,
197110, Россия, г. Санкт-Петербург, просп. Динамо, д. 3
E-mail: st.nika11@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Нарушения дифференцировки клеток и процессов клеточного обновления буккального эпителия, происходящие при изменении функциональной активности клеток, в том числе и при старении организма, в целом могут показать функционирование системы гомеостаза организма. Высокая распространенность хронического пародонтита, низкая эффективность лечения, особенно у лиц пожилого и старческого возраста, свидетельствует об актуальности проблемы. *Цель исследования:* выявить молекулярно-клеточные механизмы дисфункции буккального эпителия у пациентов зрелого, пожилого и старческого возраста с хроническим генерализованным пародонтитом. *Материалы и методы.* Объектом исследования выбран буккальный эпителий людей разного возраста. Выборка для исследования составила 90 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней тяжести: 34 больных среднего возраста (45-59 лет), 32 больных пожилого возраста (60-74 года) и 24 больных старческого возраста (75-89 лет). В исследовании использовали материал 77 людей без признаков воспалительной патологии пародонта: 27 лиц среднего возраста, 25 человек пожилого возраста и 20 лиц старческого возраста. Было проведено иммуноцитохимическое исследование ряда сигнальных молекул – маркеров функционального состояния слизистой оболочки щеки и гомеостаза организма в целом. Для исследования буккального эпителия использовали метод иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии. Все полученные данные подвергали морфометрическому анализу. *Результаты.* В буккальном эпителии пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом среднего, пожилого и старческого возраста площадь экспрессии маркеров каспаза-зависимого апоптоза p16, p21, p53 возрастала в 2-7 раза по сравнению со здоровыми донорами соответствующего возраста. Площадь экспрессии данных белков увеличивается в среднем в 2-5 раза у лиц пожилого и старческого возраста по сравнению с донорами среднего возраста в норме и при патологии. *Заключение.* Повышение экспрессии белков p16, p21, p53 при хроническом пародонтите, нарастающее с возрастом, указывает на преобладание гибели клеток буккального эпителия и его ускоренного старения.

Ключевые слова: буккальный эпителий; хронический генерализованный пародонтит; белки p16, p21, p53; возрастные изменения; иммунофлуоресцентная конфокальная микроскопия

Информация для цитирования: Трифонов Н.И. Экспрессия белков p16, p21 и p53 в буккальном эпителии у людей разного возраста в норме и при хроническом пародонтите // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 3. С. 100-108. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-10

N.I. Trifonov

EXPRESSION OF P16, P21 AND P53 PROTEINS IN THE BUCHCAL EPITHELIUM IN PEOPLE OF DIFFERENT AGE IN NORM AND WITH CHRONIC PERIODONTITE

St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology,
3 Dynamo Ave., St. Petersburg, Russia, 197110
E-mail: st.nika11@mail.ru

Abstract. *Background.* Disturbances in the differentiation of cells and the processes of cellular renewal of the buccal epithelium, which occur when the functional activity of cells change, or with aging of the organism, in general can show the functioning of the body's homeostasis system. The high prevalence of chronic periodontitis, low effectiveness of treatment, especially in elderly and senior age people, indicates the urgency of the problem. *The aim of the study.* To reveal molecular-cellular mechanisms of dysfunction of the buccal epithelium in patients of mature, elderly and senior age with chronic generalized periodontitis. *Materials and methods.* The object of study was the buccal epithelium of people of different ages. The sample for the study was 90 patients with chronic generalized periodontitis of moderate severity: 34 patients of middle age (45-59 years), 32 elderly patients (60-74 years) and 24 senior age patients (75-89 years). The study used the material of 77 people without signs of inflammatory periodontal pathology: 27 middle-aged people, 25 elderly people and 20 senior age people. An immunocytochemical study was carried out of a number of signal molecules – markers of the functional state of the mucous membrane of the cheek and the homeostasis of the organism as a whole. The method of immunofluorescence confocal microscopy was used to study the buccal epithelium. All the data obtained were subjected to morphometric analysis. *Results.* In the buccal epithelium of patients with chronic generalized periodontitis of middle, elderly and senior age, the area of expression of caspase-dependent apoptosis markers p16, p21, p53 increased 2-7 times compared with healthy donors of the corresponding age. The area of expression of these proteins increases on average 2-5 times in elderly and senior age patients compared with middle-aged donors in norm and in pathology. *Conclusion.* An increase in the expression of proteins p16, p21, p53 in chronic periodontitis, which increases with age, indicates a predominance of death of buccal epithelial cells and accelerated aging.

Keywords: buccal epithelium; chronic generalized periodontitis; proteins p16, p21, p53; age changes; immunofluorescent confocal microscopy

Information for citation: Trifonov NI. Ekspressiya belkov p16, p21 i p53 v bukkalnom epitelii u lyudey raznogo vozrasta v norme i pri khronicheskom parodontite [Expression of p16, p21 and p53 proteins in the buchcal epithelium in people of different age in norm and with chronic periodontite]. Research Results in Biomedicine. 2018;4(3):100-108. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-10

Введение. Нарушение функции жевательного аппарата ведет к снижению качества жизни пожилых людей, поэтому важно разрабатывать новые подходы к диагностике и методы терапии заболеваний, связанных с патологией пародонта [9]. Особенностями течения болезней у пожилых людей являются множественные патологические изменения, быстрое ухудшение состояния при поздней диагностике и отсутствии лечения, высокая частота осложнений, необходимость длительной реабилитации и социализации. В связи с этим, заболевания тканей пародонта являются актуальной проблемой современной геронтостоматологии и гериатрии.

Нарушение гомеостаза при хроническом генерализованном пародонтите приводит к смещению равновесия между синтезом и резорбцией ткани в сторону деструкции [7]. Высокая концентрация хемокинов вызывает активацию лейкоцитов в соединительной ткани. При этом высвобождается большой объем литических ферментов (кислые гидролазы, эластазы, нейтральные протеазы), которые разрушают собственные ткани организма [5].

Изменение клеточного обновления и дифференцировки буккального эпителия (БЭ), экспрессия различных сигнальных молекул показывает трансформацию функциональной активности клеток БЭ и во многом отражает состояние локального и системного гомеостаза организма [3]. С возрастом в БЭ человека наблюдается снижение экспрессии матриксных металлопротеиназ (MMP2, MMP9), CD90 и белка ERBB3, которое наиболее выражено у пожилых людей в сравнении с лицами среднего возраста. Полученные данные позволяют рассматривать БЭ как объект для прижизненной персонализированной оценки темпов старения организма (по снижению способности его клеток к дифференциации и ремоделированию межклеточного матрикса). Использование БЭ позволяет объективно оценить биологический возраст [6]. Анализ БЭ дает возможность изучить экспрессию сигнальных молекул, оценить электрокинетические характеристики клеток, поэтому обладает большой информативностью и может быть применим для ранней диагностики социально значимых заболеваний, воспалительных процессов и онкологических заболеваний, состояния локального иммунитета, а также для оценки влияния на организм неблагоприятных факторов окружающей среды [10].

Преимуществами использования БЭ являются неинвазивность, нетравматичность, легкость получения достаточного количества клеток, возможность оценки общего и местного действия факторов. Кроме этого, эпителиоциты слизистой оболочки ротовой полости обладают чувствительностью к различным экзогенным и эндогенным факторам, так как выполняют защитную функцию в организме. Следовательно, состояние БЭ является важным информативным показателем, использующимся для оценки состояния здоровья, диагностики соматической патологии, стрессорных воздействий, вредных факторов внешней среды. БЭ является частью мукозальной системы, поэтому сохраняет элементы ее активной позиции во взаимоотношениях со стимулами, исходящими из внешней и внутренней среды. Это позволяет использовать БЭ при изучении реактивности и физиологии слизистых оболочек, в том числе в качестве индикатора местных и общих нарушений гомеостаза [4].

Характер дестабилизационных процессов на местном и системном уровнях отражается состоянием клеток БЭ. Буккальные эпителиоциты могут быть индикатором нарушений орального гомеостаза [1]. Разработка новых методов своевременного выявления патологических состояний пародонта позволит заблаговременно начинать лечение и снизить количество возможных осложнений. В качестве такого своевременного метода диагностики возможно использовать измерение экспрессии сигнальных молекул в БЭ лиц пожилого и старческого возраста. Такая методика отличается простотой выполнения и информативностью, так как забор БЭ представляет собой простую процедуру, а его состояние является важным информативным показателем, использующемся при оценке состояния здоровья, и отражающим нарушения орального гомеостаза и наличие патологических процессов зубочелюстной системы.

Цель исследования: выявить молекулярно-клеточные механизмы дисфункции буккального эпителия у пациентов зрелого, пожилого и старческого возраста с хроническим генерализованным пародонтитом.

Материалы и методы исследования. В ходе эксперимента было обследовано 90 пациентов, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести и обратившихся за помощью на кафедру пропедевтики и профилактики стоматологических заболеваний ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России: 34 пациента среднего возраста (45-59 лет), 32 пациента пожилого возраста (60-74 года) и 24 пациента старческого возраста (75-89 лет), и 77 пациентов без признаков воспалительной патологии пародонта: 27 пациентов среднего возраста, 25 пациентов пожилого возраста и 20 пациентов старческого возраста. При постановке диагноза использовали классификацию болезней пародонта, принятую на XVI пленуме Всесоюзного научного общества стоматологов (1983) и одобренную на президиуме одонтологии Российской Академии стоматологии (2001).

Забор БЭ из ротовой полости (слизистая оболочка щеки) осуществляли либо натощак, либо не ранее чем через 4 часа после приема пищи. Непосредственно перед получением материала пациенты полоскали полость рта физиологическим раствором. Забор материала производили стерильными

разовыми зондами с синтетическим ворсом. После получения исследуемого материала, отрезанную рабочую часть зонда помещали в стерильную одноразовую пробирку «Эппендорф», содержащую транспортную среду. Для приготовления цитологических мазков применяли два метода: метод стандартных цитологических мазков на предметных стеклах и метод жидкостной цитологии с использованием автоматизированной системы Novoprep <<NRS>> (Франция).

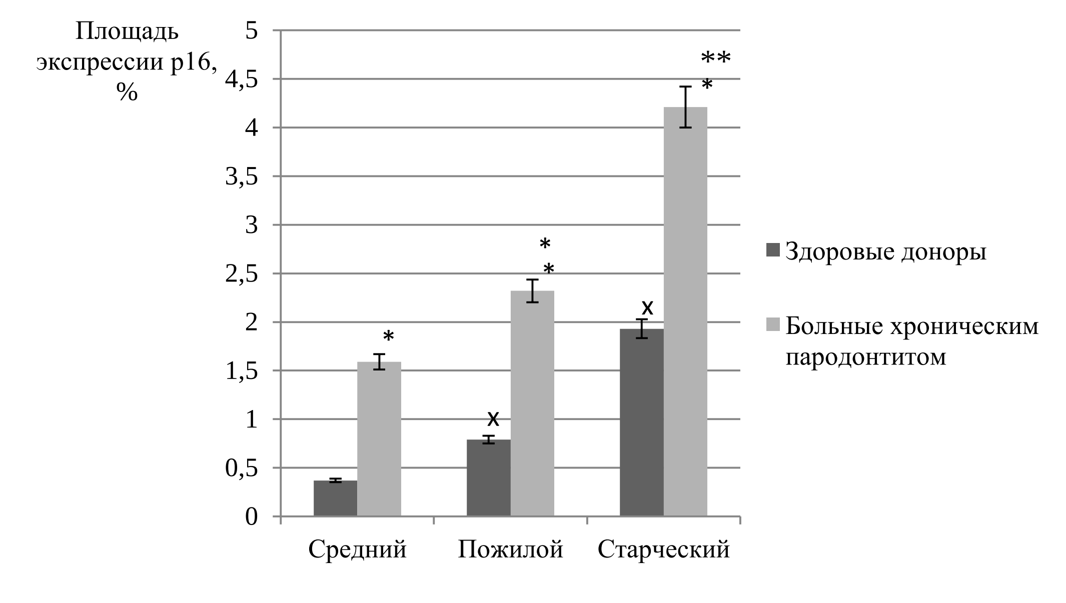
Иммунофлуоресцентную конфокальную микроскопию проводили на нефиксированных суспензиях клеток БЭ. Образцы помещали на покрытые поли-L-лизином предметные стекла (Sigma). Для иммунофлуоресцентного исследования использовали первичные антитела: к ингибитору циклинзависимой киназы 1А белок p21 (1:100, Dako), проапоптотическому белку p53 (1:50, Novocastra), ингибитору циклин-зависимой киназы 2А белку p16 (1:100, Novocastra). Для блокады эндогенной активности фермента при инкубации со щелочной фосфатазой набора добавлялся левамизол (1.25 mM). Изучение препаратов проводили в конфокальном микроскопе Olympus FluoView FV1000 при увеличении 200.

Методика визуализации экспрессии антител проводилась по следующей схеме: Трижды промывали PBS (по 5 мин). Пермеабилизовали клетки 0,1% Triton X-100 (Биолот, РФ (растворенном в PBS) в течение 15 мин. Промывали в трех сменах PBS (по 5 мин). Инкубировали в 1% бычьем сывороточном альбумине (Биолот, РФ) (разведенным PBS, pH 7.5) в течение 30 мин для блокировки неспецифического связывания. Инкубировали с первичными антителами 60 мин. Промывали в трех сменах PBS (трижды по 5 мин). Ядра клеток докрашивали DAPI в течение 1 мин (краситель использовался в качестве флуоресцентного маркера ДНК, при связывании с которой его флуоресценция усиливается). Промывали в PBS 5 мин. Готовые препараты заключали под покровные стекла в монтирующую среду Dako Fluorescent Mounting Medium (Dako, США). Для анализа полученных результатов использовали конфокальный микроскоп Olympus FluoView 1000 (Япония).

Морфометрический анализ полученных изображений проводили в программе «Видеотест-Морфология 5.2». На каждом препарате исследовали 10 полей зрения при увеличении 200 [2]. Площадь экспрессии (%) рассчитывали как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади поля зрения. Указанный параметр отражает интенсивность синтеза или накопления исследуемых сигнальных молекул.

Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием стандартного пакета программ прикладного статистического анализа (Statistica 7.0). Для оценки достоверности межгрупповых различий значений признаков применяли t-критерий Стьюдента при p<0.05.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований выявлены достоверные различия в площади экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы 2А p16 в БЭ у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах (рис. 1).



* – достоверность различий по сравнению со значениями показателя в группе здоровых доноров той же возрастной категории (p<0.05);
** – достоверность различий по сравнению со значениями показателя в группе больных среднего возраста (p<0.05);
x – достоверность различий по сравнению со значениями показателя в группе здоровых доноров среднего возраста (p<0.05)

Рис. 1. Возрастные особенности экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы 2А белка p16 в БЭ в норме и при хроническом пародонтите
Fig. 1. Age specific features of the expression of inhibitor of cyclin-dependent kinase 2A of p16 protein in EB in normal and chronic periodontitis

Площадь экспрессии белка p16 у здоровых доноров среднего, пожилого и старческого возраста составила 0.37±0.05%, 0.79±0.06% и 1.93±0.11% соответственно. В группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом экспрессия маркера p16 увеличилась в 4,3 раза (p<0.05) по сравнению со здоровыми пациентами этой возрастной группы. Установлено, что площадь экспрессии белка p16 в группе больных пожилого возраста увеличилась в 2.94 раза (p<0.05) по сравнению со здоровыми донорами пожилого возраста. В группе доноров старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии белка p16 увеличилась в 2.18 (p<0.05) раза по сравнению со здоровыми донорами этой возрастной группы.

Площадь экспрессии p16 у здоровых доноров пожилого и старческого возраста увеличилась в 2.14 (p<0.05) и 5.22 (p<0.05) раза соответственно по сравнению с этим показателем у здоровых лиц среднего возраста. Экспрессия p16 у больных пожилого возраста повысилась в 1.46 раза (p<0.05) по сравнению с этим показателем у больных среднего возраста. Площадь экспрессии p16 у лиц старческого возраста с хроническим пародонтитом возросла в 2.65 раза ($p<0.05$) по сравнению с этим показателем у больных среднего возраста.

В ходе эксперимента установлено, что площадь экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы 1А p21 в БЭ достоверно увеличивалась у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах (табл. 1).

Таблица 1

Площадь экспрессии белка p21 у здоровых доноров и больных хроническим пародонтитом в разных возрастных категориях

Table 1

Area of expression of p21 protein in healthy donors and patients with chronic periodontitis in different age categories

Группы доноров		Площадь экспрессии белка p21, %
Здоровые доноры	среднего возраста	0.25 ± 0.03
	пожилого возраста	0.24 ± 0.04
	старческого возраста	0.29 ± 0.05
Больные хроническим пародонтитом	среднего возраста	0.99 ± 0.08*
	пожилого возраста	1.67 ± 0.09* **
	старческого возраста	2.06 ± 0.09* **

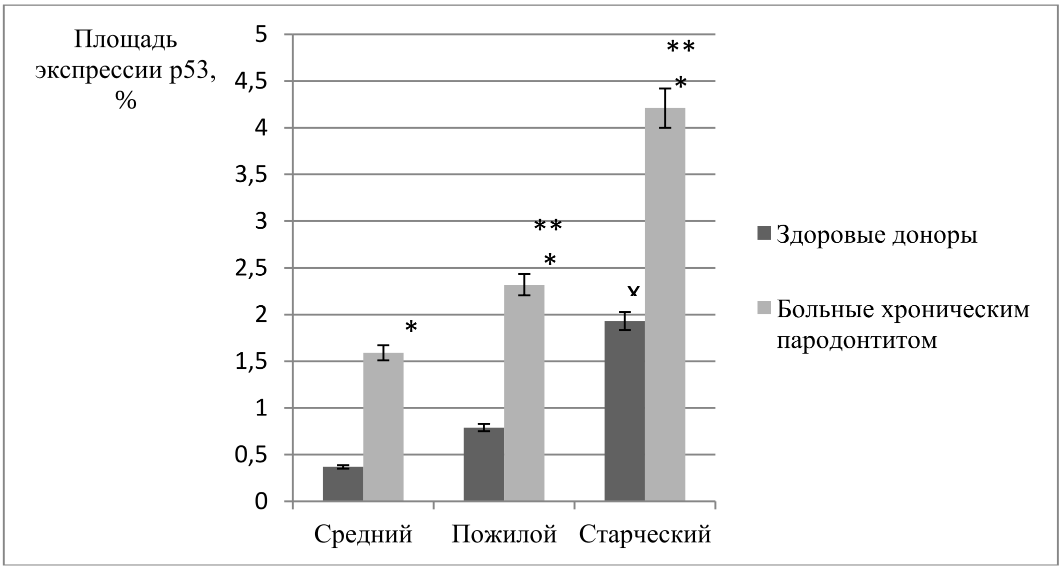
* – достоверность различий по сравнению со значениями показателя в группе здоровых доноров той же возрастной категории ($p<0.05$);
** – достоверность различий по сравнению со значениями показателя в группе больных среднего возраста ($p<0.05$)

Отмечено увеличение площади экспрессии белка p21 в группе больных среднего возраста в 3.96 раза ($p<0.05$) по сравнению со здоровыми донорами этой возрастной категории. Площадь экспрессии белка p21 у лиц пожилого возраста с хроническим пародонтитом увеличилась в 6.96 раз ($p<0.05$) по сравнению со здоровыми донорами этого возраста. В группе больных старческого возраста показатель повысился в 7.1 раза ($p<0.05$) по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста.

У здоровых доноров не наблюдалось достоверных различий экспрессии белка p21 в БЭ между различными возрастными группами. Экспрессия p21 в БЭ лиц пожилого возраста с хроническим пародонтитом достоверно возросла в 1.69 раза ($p<0.05$) по сравнению с этим показателем у больных среднего возраста. У лиц старческого возраста с хроническим пародонтитом экспрессия p21 в БЭ увеличилась в 2.08 ($p<0.05$) раза по сравнению с больными среднего возраста.

Согласно полученным данным иммуноцитохимического исследования площадь экспрессии проапоптотического белка p53 в БЭ у доноров с хроническим пародонтитом достоверно увеличилась по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах (рис. 2).

Площадь экспрессии p53 у здоровых доноров среднего, пожилого и старческого возраста составила 0.76±0.09%, 0.81±0.10% и 1.24±0.10% соответственно. Установлено, что в группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом данный показатель увеличился в 4.39 раза ($p<0.05$) по сравнению со здоровыми донорами этой возрастной категории. В группе пожилых больных отмечено увеличение экспрессии p53 в 4,8 раза по сравнению со здоровыми пациентами этого возраста. У пациентов старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии p53 в БЭ возросла в 3.23 раза по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста.



* – достоверность различий по сравнению со значениями показателя в группе здоровых доноров той же возрастной категории (p<0.05);
** – достоверность различий по сравнению со значениями показателя в группе больных среднего возраста (p<0.05);
x – достоверность различий по сравнению со значениями показателя в группе здоровых доноров среднего возраста (p<0.05)

Рис. 2. Возрастные особенности экспрессии проапоптотического белка p16 в БЭ в норме и при хроническом пародонтите

Fig. 2. Age features of pro-apoptotic protein expression of p16 in BE in norm and in chronic periodontitis

У здоровых доноров старческого возраста площадь экспрессии маркера p53 выросла в 1.63 раза (p<0.05) по сравнению с показателем в группе здоровых людей среднего возраста. Показатель площади экспрессии p53 в группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом возрос в 1.17 раза (p<0.05) по сравнению с больными среднего возраста. У лиц старческого возраста с пародонтитом площадь экспрессии белка p53 увеличилась в 1.2 раза (p<0.05) по сравнению с показателем у больных среднего возраста.

Белки p16, p21 и p53 являются маркерами каспаза-зависимого апопотоза и позволяют характеризовать процессы клеточного обновления БЭ. Белок p21 играет ключевую роль в остановке клеточного цикла после повреждения ДНК, его сверхэкспрессия ведет к аресту клеточного цикла в G1,G2 или S фазах [11]. Известно, что в быстро делящихся клетках, в том числе и в БЭ, было обнаружено увеличение концентрации белка p53 по сравнению с медленно пролиферирующими клетками [12]. Белок p16 играет ключевую роль в контроле клеточного цикла, блокируя сигнальный путь циклин-D-pRb и в механизмах клеточного старения [8]. Повышение экспрессии указанных белков при хроническом пародонтите, нарастающее с возрастом, указывает на преобладание гибли клеток БЭ и его ускоренного старения.

Таким образом, выявленное возрастное изменение экспрессии пула сигнальных молекул (p16, p21, p53) в БЭ у пациентов с хроническим пародонтитом может явиться основой для разработки нового метода определения эффективности лечения этой патологии и ее диагностики на ранних стадиях в зависимости от возраста пациента.

Выводы.

1. Экспрессия маркеров каспаз-зависимого апоптоза p16, p21, p53 в БЭ пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом среднего, пожилого и старческого возраста повышалась в 2-7 раз в зависимости от возраста по сравнению со здоровыми донорами.

2. У здоровых доноров при переходе от среднего к старческому возрасту экспрессия белка p16 возрастала в 4.5 раза, что указывает на наличие механизмов клеточного старения в буккальных эпителиоцитах.

3. Выявленное возрастное изменение экспрессии пула сигнальных молекул (p16, p21, p53) в БЭ у пациентов с хроническим пародонтитом может явиться основой для разработки нового метода определения эффективности лечения этой патологии и ее диагностики на ранних стадиях в зависимости от возраста пациента.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Аболмасов Н.Н. Стратегия и тактика профилактики заболеваний пародонта // Стоматология. 2003. N 4. С. 34-39.

2. Автандилов Г.Г. Диагностическая медицинская плоидометрия. Москва: Медицина, 2006. 191 с.

3. Кветная Т.В., Линькова Н.С., Седов Е.В. Экспрессия факторов дифференциации межклеточного матрикса в буккальном эпителии человека при старении // Успехи геронтологии. 2013. Т. 26, N 3. С. 432-436.

4. Седов Е.В., Линькова Н.С., Козлов К.Л. Буккальный эпителий как объект оценки биологического возраста и темпа старения организма // Успехи геронтологии. 2013. Т. 26, N 4. С. 123-129.

5. Cardoso E.M., Reis C., Manzanares-Céspedes M.C. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases // Postgrad Med. 2017. Vol. 130, N 1. P. 98-104.

6. Eivazi M., Falahi N., Eivazi N. The effect of scaling and root planning on salivary TNF-α and IL-1α concentrations in patients with chronic periodontitis // Open Dent. J. 2017. N 11. P. 573-580.

7. Gross A.J., Paskett K.T., Cheever V.J. Periodontitis: a global disease and the primary care provider's role // Postgrad. Med. J. 2017. Vol. 93, N 1103. P. 560-565.

8. Park I.K., Morrison S.J., Clarke M.F. Bmi1, stem cells, and senescence regulation // J. Clin. Invest. 2004. Vol. 113, N 2. P. 175-179.

9. Petrova T.G., Zvereva T.V., Borodina N.B. Stomatological status and quality of life of elderly and senile people // Adv. Gerontol. 2017. Vol. 30, N 3. P. 390-393.

10. Preshaw P.M., Henne K., Taylor J.J. Age-related changes in immune function (immune senescence) in caries and periodontal diseases: a systematic review // J. Clin. Periodontol. 2017. Vol. 44, N 18. P. S153-S177.

11. Sevrioukova I.F. Apoptosis-inducing factor: structure, function, and redox regulation // Antioxid. Redox. Signal. 2011. Vol. 14, N 12. P. 2545-2579.

12. Shahbazi J., Lock R., Liu T. Tumor protein 53-Induced nuclear protein 1 Enhances p53 function and represses tumorigenesis // Front. Genet. 2013. N 4. P. 80.

References

1. Abolmasov NN. Strategiya i taktika profilaktiki zabolevaniy parodonta [Strategy and tactics of prevention of periodontal diseases]. Stomatologiya. 2003;4:34-39. Russian.

2. Avtandilov GG. Diagnosticheskaya meditsinskaya ploidometriya [Diagnostic medical ploidyometry]. Moscow: Meditsina; 2006. Russian.

3. Kvetnaya TV, Linkova NS, Sedov EV. Ekspressiya faktorov differentsiatsii mezhkletochnogo matriksa v bukkalnom epitelii cheloveka pri starenii [Expression of factors of differentiation of the intercellular matrix in the buccal epithelium of a human with aging]. Uspekhi gerontologii. 2013;26(3):432-436. Russian.

4. Sedov EV, Linkova NS, Kozlov KL. Bukkalny epiteliy kak ob'ekt otsenki biologicheskogo vozrasta i tempa stareniya organizma [Buccal epithelium as an object of assessment of biological age and aging of the organism]. Uspekhi gerontologii. 2013;26(4):123-129. Russian.

5. Cardoso EM, Reis C, Manzanares-Céspedes MC. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases. Postgrad Med. 2017;130(1):98-104.

6. Eivazi M, Falahi N, Eivazi N. The effect of scaling and root planning on salivary TNF-α and

IL-1α concentrations in patients with chronic periodontitis. Open Dent. J. 2017;11:573-580.

7. Gross AJ, Paskett KT, Cheever VJ. Periodontitis: a global disease and the primary care provider's role. Postgrad. Med. J. 2017;93(1103): 560-565.

8. Park IK, Morrison SJ, Clarke MF. Bmi1, stem cells, and senescence regulation. J. Clin. Invest. 2004;113(2):175-179.

9. Petrova TG, Zvereva TV, Borodina NB. Stomatological status and quality of life of elderly and senile people. Adv. Gerontol. 2017:30(3): 390-393.

10. Preshaw PM, Henne K, Taylor JJ. Age-related changes in immune function (immune senescence) in caries and periodontal diseases: a systematic. J. Clin. Periodontol. 2017;44(18): S153-S177.

11. Sevrioukova IF. Apoptosis-inducing factor: structure, function, and redox regulation. Antioxid. Redox. Signal. 2011;14(12):2545-2579.

12. Shahbazi J, Lock R, Liu T. Tumor protein 53-Induced nuclear protein 1 Enhances p53 function and represses tumorigenesis. Front. Genet. 2013;4:80.

Трифонов Николай Игоревич, научный сотрудник лаборатории реабилитации и восстановительного лечения.

Trifonov Nikolay Igorevich, Research Associate of the Laboratory of Rehabilitation and Convalescence.

Статья поступила в редакцию 16 мая 2018 г.