

ISSN 2658-6533

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

7(1) 2021

16+

Сайт журнала:
rrmedicine.ru

сетевой научный рецензируемый журнал
online scholarly peer-reviewed journal



НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БИМЕДИЦИНСКИХ 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. № ФС77-74739 от 29 декабря 2018 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 77-74739 of December 29, 2018



Том 7, №1. 2021

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2014 г.

ISSN 2658-6533



Volume 7, №1. 2021

ONLINE SCHOLARLY PEER-REVIEWED JOURNAL

First published online: 2014

ISSN2658-6533

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

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

Ван Т.С.К., PhD, профессор, госпиталь принца Уэльса Китайского университета Гонконга, Гонконг, Китай

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

Процаев К.И., доктор медицинских наук, профессор, АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «ГЕРОНТОЛОГИЯ», Москва, РФ

Радзинский В.Е., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, РФ

Руженкова В.В., кандидат медицинских наук, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

Сорокин А.В., кандидат медицинских наук, Национальный

EDITORIAL TEAM:

EDITOR-IN-CHIEF: **M.I. Churnosov**, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF: **I.Yu. Iourov**, Doct. Sci. (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences, Mental Health Research Center, Moscow, Russia

EDITORIAL BOARD:

Yu.A. Aleksandrovsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russia

T.S.K. Wan, PhD, Professor, Prince of Wales Hospital of the Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China

S.G. Vorsanova, Doct. Sci. (Biology), 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, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

N.I. Zhernakova, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

T. Illig, Dr. rer. nat., 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. Mijlkovic, PhD, Professor, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

E.Nkenke, MD, DMD, MA, Dr. rer. medic., Full Professor, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

M.V. Pokrovsky, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

A.V. Polonikov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Kursk State Medical University, Kursk, Russia

K.I. Proshchaev, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Research Medical Center "Gerontology", Moscow, Russia

V.E. Radzinsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

V.V. Ruzhenkova, Cand. Sci. (Medicine), Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

A.V. Sorokin, Cand. Sci. (Medicine), National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda, USA

V.A. Stepanov, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Biology), Professor, Research Institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

L. Stojanovska, MSc, PhD, Emeritus Professor, Victoria University, Melbourne, Australia

M.B. Freydin, Doct. Sci. (Biology), King's College London, London, UK

M.B. Khamoshina, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

институт сердца, легких и крови, Бетесда, США

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

Стояновска Л., MSc, PhD, профессор, Университет Виктории, Мельбурн, Австралия

Фрейдин М.Б., доктор биологических наук, Королевский колледж Лондона, Лондон, Великобритания

Хамошина М.Б., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, РФ

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

Цыганков Б.Д., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», Москва, РФ

Эберт А.Д., PhD, доктор медицинских наук, профессор, Клиника женского здоровья, гинекологии и акушерства, Берлин, Германия

E.K. Khusnutdinova, Corresponding Member of the Russian Academy of Education, Doct. Sci. (Biology), Professor, Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

B.D. Tsygankov, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

A.D. Ebert, PhD, Dr. med. habil., Professor, Practice for Women's Health, Gynecology & Obstetrics, Berlin, Germany

РЕДАКЦИЯ ЖУРНАЛА:

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ: **Малютина А.Ю.**, кандидат фармацевтических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

РЕДАКТОР АНГЛИЙСКИХ ТЕКСТОВ: **Ляшенко И.В.**, кандидат филологических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

ТЕХНИЧЕСКИЙ СЕКРЕТАРЬ: **Рудых Н.А.**, кандидат биологических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

EDITORIAL BOARD:

EXECUTIVE SECRETARY: **A.Yu. Malyutina**, Cand. Sci. (Pharmacy), Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

ENGLISH TEXT EDITOR: **I.V. Lyashenko**, Cand. Sci. (Philology), Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

TECHNICAL SECRETARY: **N.A. Rudykh**, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ГЕНЕТИКА

GENETICS

Shaymaa Azawi, Lisa-Marie Barf, Thomas Liehr First molecular cytogenetic characterization of the MMT 060562 murine breast cancer cell line	4	Shaymaa Azawi, Lisa-Marie Barf, Thomas Liehr First molecular cytogenetic characterization of the MMT 060562 murine breast cancer cell line	4
А.В. Полоников, Е.Ю. Клёсова, Ю.Э. Азарова Биоинформатические инструменты и интернет-ресурсы для оценки регуляторного потенциала полиморфных локусов, установленных полногеномными ассоциативными исследованиями мультифакториальных заболеваний (обзор)	15	Alexey V. Polonikov, Elena Yu. Klyosova, Iuliia E. Azarova Bioinformatic tools and internet resources for functional annotation of polymorphic loci detected by genome wide association studies of multifactorial diseases (review)	15
М.В. Медведева Ассоциации полиморфных вариантов rs2305948 и rs1870377 гена рецептора фактора роста сосудистого эндотелия 2 типа (<i>KDR</i>) с риском развития ишемической болезни сердца	32	Maria V. Medvedeva Associations of rs2305948 and rs1870377 polymorphic variants of the vascular endothelial growth factor receptor type 2 (<i>KDR</i>) gene with the risk of coronary heart disease	32
Е.А. Решетников Полиморфизм rs34845949 гена <i>SASH1</i> ассоциирован с риском развития преэклампсии	44	Evgeny A. Reshetnikov rs34845949 polymorphism of the <i>SASH1</i> gene is associated with the risk of preeclampsia	44
И.Н. Фетисова, А.И. Малышкина, И.А. Панова, Е.А. Рокотьянская, Н.С. Фетисов, С.Ю. Ратникова Особенности генного контроля уровня артериального давления у пациенток с гипертензивными расстройствами при беременности	56	Irina N. Fetisova, Anna I. Malyshkina, Irina A. Panova, Elena A. Rokotyanskaya, Nikolay S. Fetisov, Svetlana Y. Ratnikova Features of gene control of blood pressure in patients with hypertensive disorders during pregnancy	56

**ФАРМАКОЛОГИЯ,
КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ**

PHARMACOLOGY

Igor V. Kutepov, Yuri D. Lyashev Pharmacological effect of indolicidin-like peptides on vasoactive substances content in experimental periodontitis	67	Igor V. Kutepov, Yuri D. Lyashev Pharmacological effect of indolicidin-like peptides on vasoactive substances content in experimental periodontitis	67
--	-----------	--	-----------

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

MEDICINE

Sengee Enkhmandal Development of gerontology and geriatrics in Mongolia	72	Sengee Enkhmandal Development of gerontology and geriatrics in Mongolia	72
Ю.А. Лутай Рассогласование суточных биоритмов артериального давления и частоты сердечных сокращений у пожилых больных инфарктом миокарда	80	Yulia A. Lutai Mismatch of daily biorhythms of blood pressure and heart rate in elderly patients with myocardial infarction	80
О.В. Ремнёва, Ю.В. Кореновский, Н.М. Ховалыг, О.В. Колядо Индуцированные преждевременные роды: оценка оксидативного статуса, матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в амниотической жидкости	86	Olga V. Remneva, Yuri V. Korenovsky, Nellya M. Hovalyg, Olga V. Kolyado Induced preterm birth: evaluation of oxidative status, matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in amniotic fluid	86
М.М. Яблоков Тревожно-депрессивные и когнитивные нарушения у пожилых пациентов с возрастной макулярной дегенерацией и катарактой	96	Maxim M. Yablokov Anxiety-depressive and cognitive impairments in elderly patients with age-related macular degeneration and cataracts	96

ГЕТИКА GENETICS



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-1

First molecular cytogenetic characterization of the MMT 060562 murine breast cancer cell line

Shaymaa Azawi , Lisa-Marie Barf , Thomas Liehr 

Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics,
Am Klinikum 1, D-07747 Jena, Germany

Corresponding author: Thomas Liehr (Thomas.Liehr@med.uni-jena.de)

Abstract

Background: Murine cell lines are working horses applied as model systems in multiple research studies in many laboratories. Nonetheless, most of them are not well characterized at the genetic level. This diagnosis holds also true for the MMT 060562 murine breast cancer cell line, also referred to as MMT060562 or MMT-060562. **The aim of the study:** To provide detailed cytogenetic characterization of the MMT 060562 cancer cell line. **Materials and methods:** The cell line was studied by molecular cytogenetics, namely by fluorescence in situ hybridization applying all murine whole chromosome paints in one probe set and all chromosome-specific murine multicolor banding probe sets. **Results:** For this we present here the first detailed karyotype of the established in 1962 cell line, a comprehensive map of chromosomal imbalances and an in-silico translation of the results to the human genome. Surprisingly, MMT 060562 has only few chromosomal aberrations, even a cell clone without any gross chromosomal abnormalities in ~40% of the cells, and with most aberrant of four cell clones showing a dicentric dic(2;17)(A1A1), a derivative del(3)(A3C), a trisomy 6, and a derivative der(14)t(13;14)(14pter→14D1::14B→14D1::13A3→13qter). **Conclusion:** It could be shown, that MMT 060562 is most similar to human breast cancer of basal-like tumor type. Thus, this cell line can serve as a model for a very early breast cancer stage and thus closes a gap in the yet available cell lines.

Keywords: breast cancer (BC); MMT 060562 murine cell line; murine multicolor banding (mcb)

For citation: Azawi S, Barf LM, Liehr T. First molecular cytogenetic characterization of the MMT 060562 murine breast cancer cell line. Research Results in Biomedicine. 2021;7(1):4-14. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-1

Introduction. In female breast cancer (BC), being a major leading cause of human cancer death, survival chance varies still tremendously, depending on many factors like awareness, preventive programs, diagnostic regimens, and possibilities to treat this disease [1]. The incidence of this malignancy is furthermore influenced by such factors as average life expectancy in the country the person is derived from, life style, individual estrogen-levels, number of children of the woman, and family history of cancer, including adverse gene mutations [1, 2]. As BC is heterogenic, it is divided into subtypes according to morphology, molecular profiles, and specific biomarker expression [3]. Accordingly, various subtypes may have different prognoses, clinical outcomes, and maybe in need of specific treatment regimens [3, 4]. Biomarkers studied to perform BC subclassifications may include oncogene and tumor suppressor gene expression levels, as well as that of other gene-products, like estrogen-, progesterone-, human epidermal growth factor-2- (HER-2/ ERBB2) and epidermal growth factor-receptor, or cytokeratin 5 or nuclear protein Ki67 [5, 6]. Thus, BC may be classified in (a) luminal A-like, (b) luminal B-like (HER2-positive and HER2-negative), (c) HER2-overexpressing, and (d) triple-negative subtypes [3, 6]. Furthermore, liquid biopsy plays an increasingly important role in BC follow-up [7].

Various treatment regimens for BC subtypes are available [6, 8], however, severe side effects cannot be excluded in many of these approaches. Also, aggressive courses of disease and limitations in BC treatment are not unusual [9]. Therefore, research on BC-biology, as well as for new treatment strategies is imperative [10], which are undertaken in cell cultures based on murine BC cell lines [5].

The MMT 060562 murine BC-cell line, also referred to as MMT060562 or MMT-060562, has been applied in about 2 dozen studies (see [11]), and, as most of other such cell lines [12], still been not characterized in detail genetically. According to ATCC, this cell line was established in 1962 [13] as being derived from a hybrid female C57BL/6xAf mouse as a spontaneous malignant neoplasm

of the mouse mammary gland [14]. To the best of our knowledge the karyotype of this cell line was never published before, however, according to ATCC, MMT 060562 has a modal number of 40 chromosomes with a range of 36 to 81, and a stem line number being diploid [13], while ECAAC gives a description that the cell line is diploid with $2n = 40$ [14]. To close the gap in the literature, here we present the first molecular cytogenetic characterization of the MMT 060562 cell line.

Material and Methods

Cell line. The MMT 060562 cell line was purchased from the American Type Culture Collection (ATCCR CCL-51™; Wesel Germany) and grown adherently according to the company's instructions: the cells were cytogenetically worked up as previously described [12].

Molecular cytogenetics. FISH was done as previously reported [15] applying whole chromosome paints ("SkyPaint™ DNA Kit M-10 for Mouse Chromosomes", Applied Spectral Imaging, Edingen-Neckarhausen, Germany) for multicolor-FISH (mFISH), and murine chromosome-specific multicolor banding (mcb) probe mixes for FISH-banding [16]. At least 30 metaphases were analyzed for each probe set (Zeiss Axioplan microscopy, equipped with ISIS software (MetaSystems, Altlußheim, Germany)).

Data analyses. Imbalances and breakpoints of MMT 060562 were determined according to mcb data and aligned to human homologous regions using the Ensembl and the UCSC Genome Browser, as previously described [12]. The obtained data were compared to genetic changes known from human BCs as previously done [5].

Ethics Statement. According to the Ethical Committee (medical faculty) and the Animal Experimentation Commission of the Friedrich Schiller University, there are no ethical agreements necessary for studies involving murine tumor cell lines like MMT 060562.

Results. MMT 060562 is a cell line with nearly stable diploid karyotype, only few single cell aberrations were present, which are not reported here. The aberrations detected

could be divided in two clones, with clone 2 having three sub-clones.

—Clone 1 can be considered as the ancestor and has a completely normal murine karyotype representing 42% of the studied metaphases; karyotype: 40,XY.

—Clone 2, falling in three subclones, has as typical aberration in common an additional chromosome 6:

- clone 2a showed a trisomy of chromosome 6 and an inversion in a chromosome 2 (11.3% of the cells); karyotype: 41,XY,inv(2)(C3E5),+6;

- clone 2b1 (28.5% of the cells) acquired a complicated aberration involving chromosomes 13 and 14;

41,XY,+6,der(14)t(13;14)(14pter→14D1::14B→14D1::13A3→13qter);

- clone 2b2 (18.2% of the cells) acquired an additional aberration involving chromosomes 2 and 17 and showed the karyotype

40,XY,dic(2;17)(A1A1),del(3)(A3C),+6,der(14)t(13;14)(14pter→14D1::14B→14D1::13A3→13qter) (Fig. 1).

FISH-data translated to CGH-data is summarized in Table 1 and Fig. 2A. An in-silico translation of those results to the human genome identified the corresponding homologous region in the human genome (Table 1, Fig. 2B).

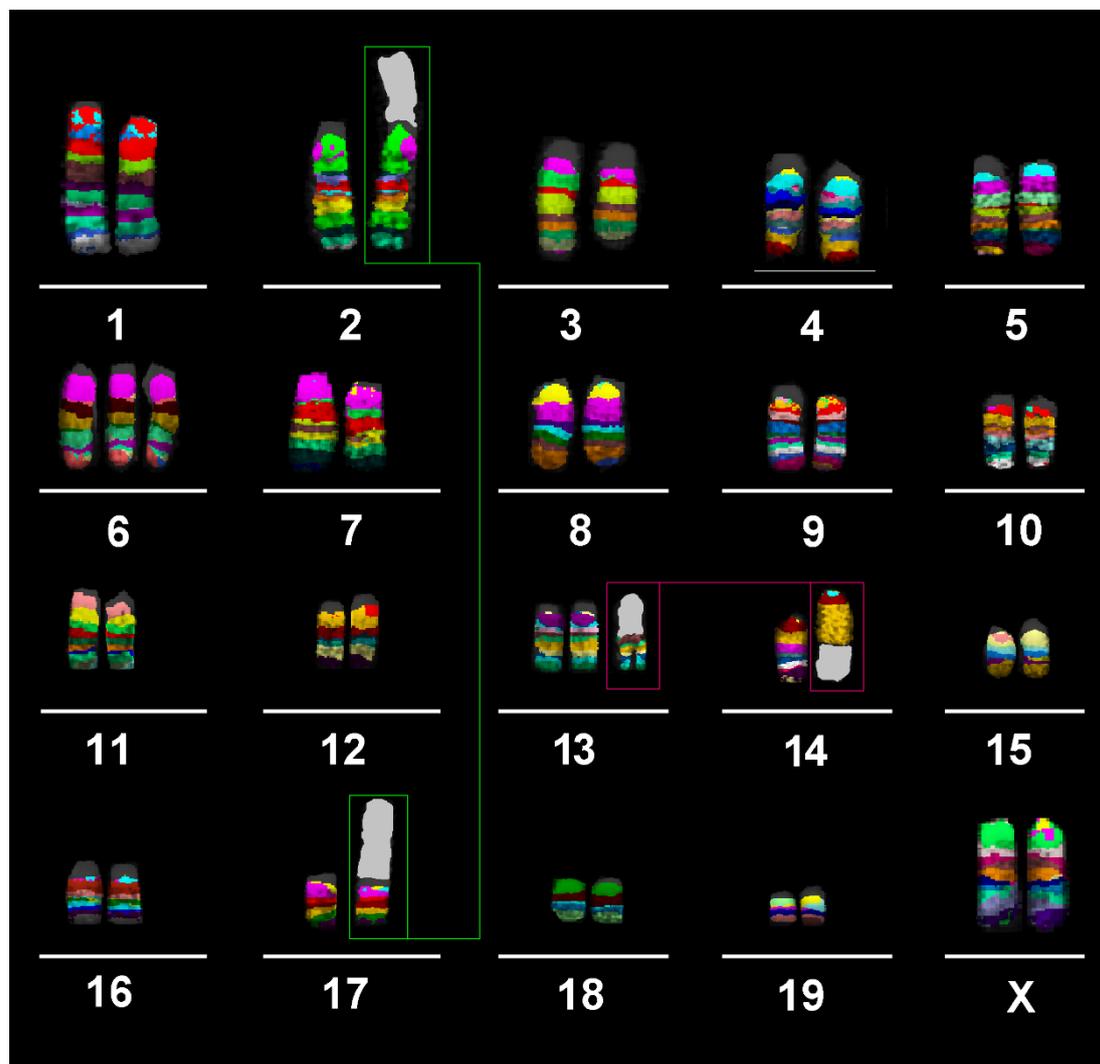


Fig. 1. Murine multicolor banding (mcb) was applied on chromosomes of the MMT 060562 cell line – here the result for clone 2b2 is shown. This figure depicts the summary of 20 chromosome-specific FISH-experiments as typical pseudocolor banding. Derivative chromosomes consisting of different chromosomes are highlighted by frames and shown twice in this summarizing karyogram.

Beginning of Table 1

Homologous regions of the MMT 060562 mouse cell line CNVs, translated to human

Mouse	Human	Type of CNV
2A1-A3 2A3 2A3-B 2B-D 2D-E3 2E3-F1 2F1 2F1 2F1-H4	10p12.1 2q22.2-q13 9q33.2-q34.3 2q22.1-q32.1 11p14.2-q12.1 15q13.3-q21.2 2p11.2-q11.2 2q13 20p13-q13.33	gain
6A1 6A1 6A1-B2 6B2 6B2-B3 6B3-C1 6C1 6C1 6C1-D1 6D1 6D1 6D1-E 6E1-E3 6E3 6E3-F1 6F1 6F1-F3 6F3 6F3 6F3-G3	7p22.1-p21.3 7q21.2-q21.3 7q31.1-q36.1 7q36.1 7p15.3-p14.3 4q22.1-q22.3 4q27 1p31.3 2p13.3-p11.2 3p25.2-p25.1 3q21.2-q21.3 3p14.1-p12.3 3p26.3-p25.2 3q21.3-q22.1 10q11.21-q11.22 22q11.1-q11.21 12p13.33-p13.31 12p11.21 12p11.21 12p13.31-p11.21	gain
13A3-A5 13A5 13A5-B1 13B1 13B1 13B1-B2 13B3 13B3 13B3 13B3 13B3 13B3 13B3-C1 13C1-C3 13C3-D1 13D1-D2 13D2 13D2	6p25.3-p23 6p23-p22.3 9q22.1-q22.32 5q31.1-q31.2 5q35.2-q35.3 9q21.32-q21.33 8q22.1 9p11.2 9p13.1 9q12-q13 9q22.32-q22.33 5p15.33-p15.31 5q14.3-q15 5q13.2-q14.3 5q11.1-q13.2 5p12 1p11.2	gain

End of Table 1

Homologous regions of the MMT 060562 mouse cell line CNVs, translated to human

Mouse	Human	Type of CNV
14B	3p25.1	gain
14B	10q11.2-q11.23	
14C1	14q22.1-q23.1	
14C1-C3	14q11.2-q12	
14C3	13q12.11	
14C3	13q12.12	
14C3-D1	13q14.2	
14D1	13q12.12	
14D1	13q14.2-q14.3	
14D1	13q12.13	
17A1	6q25.2-q25.3	gain
17A1	6q25.3-q27	
17A1	6q27	
17A1-A2	6q27	
17A2-A3	5q15-q21.1	
17A3	5q35.1	
17A3	6p21.32-p21.2	
17A3	16p13.3	
17A3-B1	21q22.3	
17B1	6p22.1-p21.32	
17B1	19p13.12	
17B1	19p13.2	
17B2-C	6p21.2-p12.3	
17C	2q12.2-q12.3	
17C	3p25.1-p24.3	
17D	19p13.3	
17D-E1	5q21.1-q22.1	
17E1	18p11.32-p11.22	
17E1-E5	2p23.2-p16.3	
17E5	2p16.3-p16.2	
17E5	18p11.32	
3A3	3q26.2-q26.32	loss
3A3-B	3q26.32-q27.1	
3B	9p11.2	
3B	9p12	
3B	9q13	
3B-C	4q27-q31.1	
14D1	8p23.1	loss
14D1-D2	8p21.3-p12	
14D2-D3	13q14.11-q14.2	
14D3-E4	13q14.3-q33.1	
2A1	n.a.	breakpoint
2C3	2q23	breakpoint
2E5	15q15	breakpoint
3A3	3q26.2	breakpoint
3C	4q31.1	breakpoint
14D1	13q14.1	breakpoint
17A1	n.a.	breakpoint

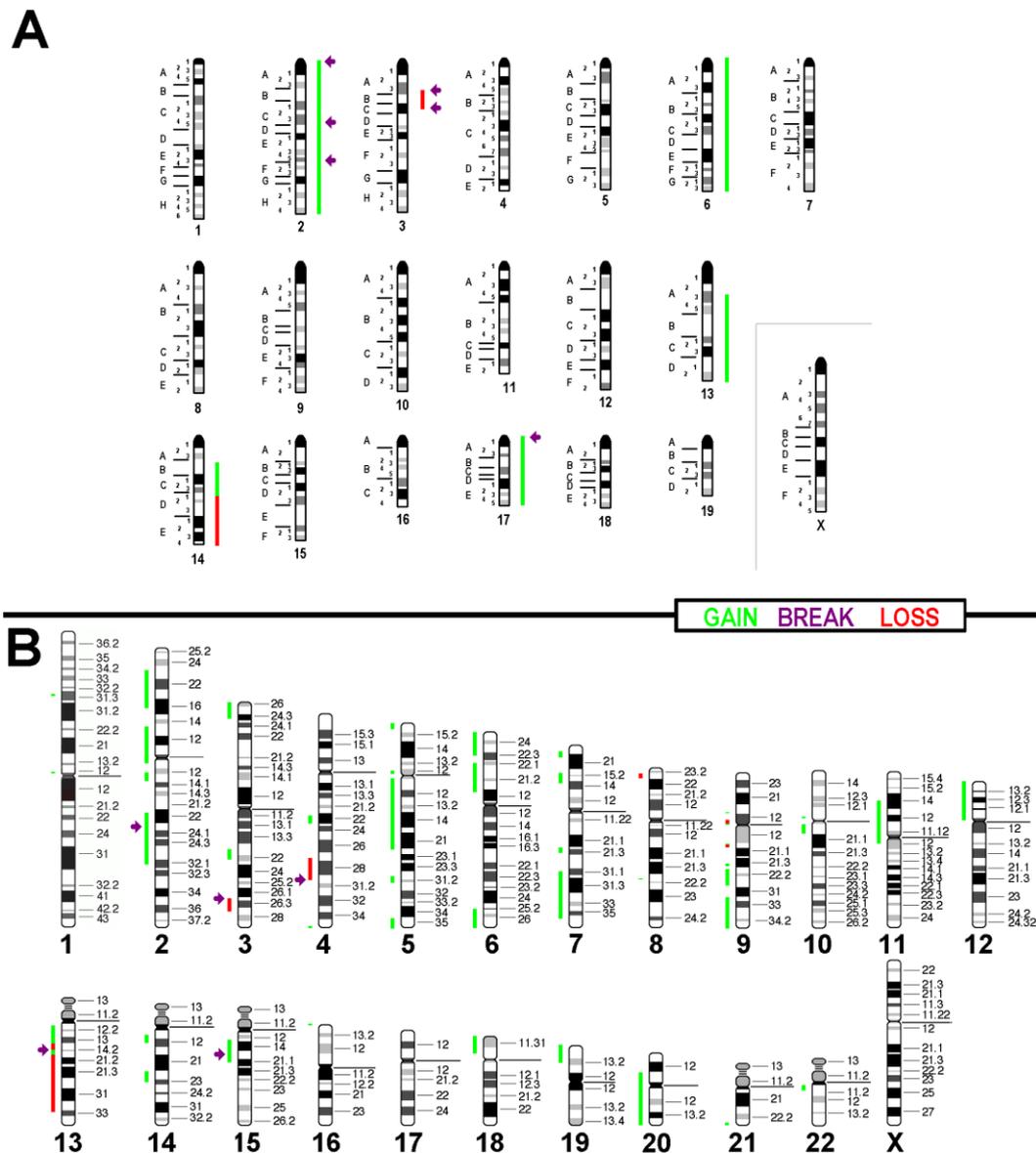


Fig. 2. Copy number variations detected in the MMT 060562 cell line are summarized here with respect to a diploid-basic karyotype. Gains are shown as green bars and losses are red, and breaks are registered as arrows. (A) Imbalances found in the cell line depicted along a murine chromosome set; (B) Results translated and projected along the human chromosome set.

Comparison with literature. The corresponding homologous regions of the MMT 060562 cell line compared with the common imbalances in related to human BC [5, 17, 18] revealed copy number variations in 9 of 21 regions (43%) known to harbor oncogenes and tumor suppressor genes (Table 2). The here reported breakpoints of MMT 060562

compared to chromosomal breaks of human BC presented a congruency of 6%, only (Table 3). The genetic alterations in the cell line correlated with the molecular subtype for human BC as shown in Table 4. The results revealed the best correspondence between MMT 060562 and human BC subtype basal-like tumors (18%).

Table 2

Oncogenes and tumor suppresser genes of importance in BC according to the literature [17, 18] and their involvement in gains or loss of copy numbers in the studied cell line

Oncogenes and tumor suppressor genes	Gene loci in human	MMT 060562
<i>NRAS</i>	1p22 or p13	no CNV
<i>MSH2</i>	2p22	gain
<i>RAF1</i>	3p25	gain
<i>RARβ2</i>	3p24	no CNV
<i>MLH1</i>	3p21	no CNV
<i>APC</i>	5q21	gain
<i>MYB</i>	6q22-q23	no CNV
<i>IGFII-R</i>	6q26	gain
<i>MYC</i>	8q24	no CNV
<i>CDKN2A (p16INK4)</i>	9p21	no CNV
<i>PTEN</i>	10q23	no CNV
<i>HRAS</i>	11p15.5	no CNV
<i>CCND1</i>	11q13	no CNV
<i>INT2</i>	11q13	no CNV
<i>ATM</i>	11q22	no CNV
<i>CDKN1B (p27kip1)</i>	12p13	gain
<i>KRAS2</i>	12p12.1	gain
<i>BRCA2</i>	13q12	gain
<i>RB1</i>	13q14.2	gain
<i>CDH1 (E-cadherin)</i>	16q22	no CNV
<i>TP53 (p53)</i>	17p13	no CNV
<i>ERBB2</i>	17q21	no CNV
<i>BRCA1</i>	17q21	no CNV
<i>SERPINB5 (maspin)</i>	18q21	no CNV
<i>STK11 (LKB1)</i>	19p13	gain
SUM of concordance in CNVs of potentially affected regions		9/21

Note: CNV – copy number variant

Table 3

Breakpoints in MMT 060562 compared to the observed acquired breaks in human BCs according to the literature [5]. Concordances with human breakpoints are highlighted in bold

Breakpoint acc. to human genome	Human BC	MMT 060562
1p33	+	-
1q25.3	+	-
2p23	-	+
2q31.3	+	-
3p26.1	+	(+)
3p12.3	+	-
3q21.3	+	-
4q22.3	+	-
4q26	+	-
4q31.23	+	(+)
5p14.2	+	-
5q13.2	+	-
5q14.3	+	-
6q12	+	-
8q23.3	+	-
8q24.22	+	-
9p24.2	+	-
9p21	+	-
10p11.21	+	-
11p15.5	+	-
12q12.1	+	-
12q24.31	+	-
13q21.2	+	-
13q14.1	-	+
14q32	+	-
15q15	-	+
16q13.3	+	-
17p12	+	-
17q21	+	-
19p13.1	+	-
20q13.3	+	-
22q12.2	+	-
SUM of concordance		2/32

Table 4

Copy number changes associated with molecular subtypes of human BC, according to [19], with the copy number variants (CNVs) in the MMT 060562 cell line. Concordances with human CNVs (in italics) are highlighted in bold

DNA changes in BC Subtypes	Human BC	MMT 060562
HER2+		
17q11.1~12	<i>gain</i>	no CNV
17q21.31~23.2	<i>gain</i>	no CNV
<i>SUM of concordance</i>		0/2
Basal-like tumors		
4p15.31	<i>loss</i>	no CNV
5q12.3~13.2	<i>loss</i>	gain
5q33.1	<i>loss</i>	no CNV
6p12.3	<i>gain</i>	gain
6p21.1~23	<i>gain</i>	gain
8q24.21~24.22	<i>gain</i>	no CNV
10p12.33~14	<i>gain</i>	no CNV
10q23.33	<i>loss</i>	no CNV
12q13.13~13.3	<i>loss</i>	no CNV
15q15.1	<i>loss</i>	gain
15q21.1	<i>loss</i>	gain
<i>SUM of concordance</i>		2/11
Luminal A		
1q21.3~44	<i>gain</i>	no CNV
16p13.12~13.13	<i>gain</i>	no CNV
16q11.2~13	<i>loss</i>	no CNV
16q22.1-24.1	<i>loss</i>	no CNV
<i>SUM of concordance</i>		0/4
Luminal B		
1p31.3	<i>loss</i>	gain
8p21.2~23.1	<i>loss</i>	no CNV
17q23.2	<i>gain</i>	no CNV
<i>SUM of concordance</i>		0/3

Note: no CNV – no copy number variant

Discussion. Heterogeneity of BC is one of the reasons that its biology is overall still poorly understood. Correspondingly, basic research and studies testing new potential therapeutics are necessary [9; 20]. MMT 060562 is a murine BC cell line yet not characterized cytogenomically in detail. Thus, its reluctant use in research studies, according to PUBMED [11] only ~20 papers are published using this cell line, here we did the first detailed molecular cytogenetic study to close this gap. The same approach as previously undertaken for several other murine cell lines

was done for MMT 060562 [5, 12, 15, 16, 21-23].

The MMT 060562 cell line presents a normal karyotype in ~40% of the studied cells, which is surprising for an almost 60-year-old cell line. Most likely it would be an ideal candidate to be studied by sequencing, to find submicroscopic mutations leading cells on the path towards BC-malignization. Also it is striking that since its establishment MMT 060562 cells did not tertaploidize, as reported mainly for human cell lines [24] and ~50% of murine tumour cell lines [5, 12, 15,

16, 21-23]. To the best of our knowledge, the MMT 060562 cell line is the less chromosomal aberrant malignant cell line ever reported. However, it is definitely a cell line, which induced tumors in nude mice [25].

Conclusion. Overall and in conclusion, the MMT 060562 cell line is a very interesting model system for early human BC, which should be studied in more detail and applied in corresponding studies for new therapeutics.

Financial support

Supported by grant # 2013.032.1 of the Wilhelm Sander-Stiftung.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Shah R, Rosso K, Nathanson SD. Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. *World Journal of Clinical Oncology*. 2014;5(3):283-298. DOI: <https://doi.org/10.5306/wjco.v5.i3.283>
2. Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, et al. Risk factors and preventions of breast cancer. *International Journal of Biological Sciences*. 2017;13(11):1387-1397. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>
3. Januškevičienė I, Petrikaitė V. Heterogeneity of breast cancer: The importance of interaction between different tumor cell populations. *Life Sciences*. 2019;239(1):117009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117009>
4. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clinical Cancer Research*. 2005;11(16):5678-5685. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-2421>
5. Azawi S, Liehr T, Rincic M, et al. Molecular cytogenomic characterization of the murine breast cancer cell lines C-127I, EMT6/P and TA3 Hauschka. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(13):4716. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21134716>
6. Kikuchi-Koike R, Nagasaka K, Tsuda H, et al. Array comparative genomic hybridization analysis discloses chromosome copy number alterations as indicators of patient outcome in lymph node-negative breast cancer. *BMC Cancer*. 2019;19(1):521. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5737-7>
7. Alimirzaie S, Bagherzadeh M, Akbari MR. Liquid biopsy in breast cancer: A comprehensive review. *Clinical Genetics*. 2019;95(6):643-660. DOI: <https://doi.org/10.1111/cge.13514>
8. Yersal O, Barutca S. Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *World Journal of Clinical Oncology*. 2014;5(3):412-424. DOI: <http://dx.doi.org/10.5306/wjco.v5.i3.412>
9. Feng Y, Spezia M, Huang S, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes and Diseases*. 2018;5(2):77-106. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001>
10. Raihan J, Ahmad U, Yong YK, et al. Regression of solid breast tumours in mice by Newcastle disease virus is associated with production of apoptosis related cytokines. *BMC Cancer*. 2019;19(1):315. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5516-5>
11. PUBMED [Internet]. Search for MMT 060562, MMT060562 or MMT-060562 [cited 2021 Jan 22]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>
12. Rhode H, Liehr T, Kosyakova N, et al. Molecular cytogenetic characterization of two murine colorectal cancer cell lines. *OBM Genetics*. 2018;2(3):1803037. DOI: <https://doi.org/10.21926/obm.genet.1803037>
13. ATCC [Internet]. [cited 2021 Jan 22]. Available from: https://www.lgcstandards-atcc.org/Products/All/CCL-51.aspx?geo_country=de#history
14. ECACC [Internet]. [cited 2021 Jan 22]. Available from: https://www.phculturecollections.org.uk/products/celllines/generalcell/detail.jsp?refId=90111911&collection=ecacc_gc
15. Kubicova E, Trifonov V, Borovecki F, et al. First molecular cytogenetic characterization of murine malignant mesothelioma cell line AE17 and in silico translation to the human genome. *Current Bioinformatics*. 2017;12(1):11-18. DOI: <https://doi.org/10.2174/1574893611666160606164459>
16. Leibiger C, Kosyakova N, Mkrtchyan H, et al. First molecular cytogenetic high resolution characterization of the NIH 3T3 cell line by murine multicolor banding. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2013;61(4):306-312. DOI: <https://doi.org/10.1369/0022155413476868>

17. Hall JM, Zuppan PJ, Anderson LA, et al. Oncogenes and human breast cancer. *American Journal of Human Genetics*. 1989;44(4):577-584.

18. Lebok P, Roming M, Kluth M, et al. p16 overexpression and 9p21 deletion are linked to unfavorable tumor phenotype in breast cancer. *Oncotarget*. 2016;7(49):81322-81331. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13227>

19. Horlings HM, Lai C, Nuyten DS, et al. Integration of DNA copy number alterations and prognostic gene expression signatures in breast cancer patients. *Clinical Cancer Research*. 2010;16(2):651-663. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0709>

20. Ye Y, Qiu TH, Kavanaugh C, et al. Molecular mechanisms of breast cancer progression: Lessons from mouse mammary cancer models and gene expression profiling. *Breast Disease*. 2004;19(1):69-82. DOI: <https://doi.org/10.3233/bd-2004-19109>

21. Guja K, Liehr T, Rincic M, et al. Molecular cytogenetic characterization identified the murine B-cell lymphoma cell line A-20 as a model for sporadic Burkitt's lymphoma. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2017;65(11):669-677. DOI: <https://doi.org/10.1369/0022155417731319>

22. Steinacker R, Liehr T, Kosyakova N, et al. Molecular cytogenetic characterization of two murine cancer cell lines derived from salivary gland. *Biological Communications*. 2018;63(4):243-255. DOI: <https://doi.org/10.21638/spbu03.2018.403>

23. Wahlbul E, Liehr T, Rincic M, et al. Cytogenomic characterization of three murine malignant mesothelioma tumor cell lines. *Molecular Cytogenetics*. 2020;13(1):43. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-020-00511-4>

24. Tan Z, Chu DZV, Chan YJA, et al. Mammalian cells undergo endoreduplication in response to lactic acidosis. *Scientific Reports*. 2018;8(1):2890. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20186-7>

25. Ono K, Akatsu T, Kugai N, et al. The effect of deletion of cyclooxygenase-2, prostaglandin receptor EP2, or EP4 in bone marrow cells on osteoclasts induced by mouse mammary cancer cell lines. *Bone*. 2003;33(5):798-804. DOI: [https://doi.org/10.1016/s8756-3282\(03\)00264-3](https://doi.org/10.1016/s8756-3282(03)00264-3)

Received 9 January 2021

Revised 12 February 2021

Accepted 14 February 2021

Information about the authors

Shaymaa Azawi, Researcher at the Molecular Cytogenetics Laboratory, Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics, Jena, Germany, E-mail: shayma.alazawi@yahoo.com, ORCID: 0000-0001-8681-1768.

Lisa-Marie Barf, Researcher at the Molecular Cytogenetics Laboratory, Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics, Jena, Germany, E-mail: Lisa-Marie.Barf@uni-jena.de, ORCID: 0000-0001-7535-2690.

Thomas Liehr, PhD, PD, Head of Molecular Cytogenetics Laboratory, Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics, Jena, Germany, E-mail: Thomas.Liehr@med.uni-jena.de, ORCID: 0000-0003-1672-3054.



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-2

УДК 616-056.7:575

Биоинформатические инструменты и интернет-ресурсы для оценки регуляторного потенциала полиморфных локусов, установленных полногеномными ассоциативными исследованиями мультифакториальных заболеваний (обзор)

А.В. Полоников , Е.Ю. Клёсова , Ю.Э. Азарова 

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация
Автор для переписки: Е.Ю. Клёсова (*ecless@yandex.ru*)

Резюме

Актуальность: Полногеномные ассоциативные исследования (genome-wide association studies, GWAS) представляют собой разновидность генетических исследований, целью которых является анализ ассоциаций между геномными вариантами и фенотипическими признаками в популяции. За последние 12 лет было установлено более 60 тысяч ассоциаций между тремя миллионами однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNPs) и 829 заболеваниями. Тем не менее, несмотря на достигнутые успехи, большую проблему представляет вопрос патогенетической интерпретации полученных данных, поскольку абсолютное большинство локусов находятся в межгенных областях и некодирующих последовательностях генома. **Цель исследования:** Изучить возможности существующих биоинформатических инструментов, позволяющих оценить возможные фенотипические эффекты SNPs на определенные молекулярные функции и биологические процессы, а также имеющие патогенетическое значение для развития мультифакториальных заболеваний. **Материалы и методы:** Проведен анализ российской и зарубежной научной литературы по биоинформатическим методам анализа и интернет-ресурсам, необходимым для оценки регуляторного потенциала полиморфных локусов, установленных в полногеномных ассоциативных исследованиях мультифакториальных заболеваний. **Результаты:** В обзоре представлены основные итоги изучения спектра применения баз данных и интернет ресурсов для оценки влияния вариантов ДНК на экспрессию генов в различных тканях, метилирование ДНК, характеристики метаболомного профиля, рассмотрены алгоритмические подходы, систематизированы качественные и количественные online-инструменты, а также вычислительные методы. **Заключение:** Полногеномные ассоциативные исследова-

ния открыли новую эру в истории генетических исследований мультифакториальных заболеваний. Биоинформатический анализ *in silico* позволяет дать всестороннюю оценку эффектам SNPs и их роли в развитии того или иного фенотипического признака болезни.

Ключевые слова: ДНК-полиморфизмы; полногеномные ассоциативные исследования; мультифакториальные заболевания; биоинформатические инструменты

Для цитирования: Полоников АВ, Клёсова ЕЮ, Азарова ЮЭ. Биоинформатические инструменты и интернет-ресурсы для оценки регуляторного потенциала полиморфных локусов, установленных полногеномными ассоциативными исследованиями мультифакториальных заболеваний (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(1):15-31. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-2

Bioinformatic tools and internet resources for functional annotation of polymorphic loci detected by genome wide association studies of multifactorial diseases (review)

Alexey V. Polonikov , Elena Yu. Klysova , Iuliia E. Azarova 

Kursk State Medical University,
3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia

Corresponding author: Elena Yu. Klysova (*ecless@yandex.ru*)

Abstract

Background: Genome-wide association studies (GWAS) are a type of genetic research whose purpose is to analyze the associations between genomic variants and phenotypic traits in a population. Over the past 12 years, more than 60000 associations have been established between three million single nucleotide variants (SNPs) and 829 diseases, however, despite the progress achieved, the pathogenetic interpretation of the data is a huge problem, since the vast majority of the loci are located in intergenic regions and non-coding sequences of the genome, or in genes that are not related to metabolic pathways involved in the development of a particular pathology. In this regard, the integrated usage of bioinformatic tools gives an opportunity to evaluate the possible effects of SNPs on certain molecular functions and biological processes related to disease pathogenesis. **The aim of the study:** To examine the capabilities of existing bioinformatics tools to evaluate possible phenotypic effects of SNPs on certain molecular functions and biological processes, as well as having pathogenetic significance for the development of multifactorial diseases. **Materials and methods:** The authors carried out an analysis of the Russian and foreign scientific literature on bioinformatic methods of analysis and Internet resources necessary for the assessment of the regulatory potential of polymorphic loci established in genome-wide associative studies of multifactorial diseases. **Results:** The review presents the main results of studying the spectrum of application of databases and Inter-

net resources for assessing the effect of DNA variants on gene expression in various tissues, DNA methylation, and characteristics of the metabolomic profile. **Conclusion:** Genome-wide associative research has opened a new era in the history of genetic research on multifactorial diseases. In silico bioinformatics analysis provides a comprehensive assessment of the effects of SNPs and their role in the development of a phenotypic trait of disease.

Keywords: DNA polymorphisms; genome-wide association studies; multifactorial diseases; bioinformatics tools

For citation: Polonikov AV, Klyosova EYu, Azarova IE. Bioinformatic tools and internet resources for functional annotation of polymorphic loci detected by genome wide association studies of multifactorial diseases (review). Research Results in Biomedicine. 2021;7(1):15-31. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-2

Введение. Полногеномные ассоциативные исследования (genome-wide association studies, GWAS) представляют собой разновидность генетических исследований, целью которых является анализ ассоциаций между геномными вариантами и фенотипическими признаками в популяции [1, 2]. На сегодняшний день GWAS стали флагманом медицинской геномики открытию новых генов, которые вносят вклад в развитие полигенных мультифакториальных заболеваний. Главная цель этих исследований – формирование более глубокого понимания фундаментальных биологических основ болезни, что *априори* должно способствовать разработке и внедрению более эффективных способов профилактики и лечения заболеваний. Фактически при GWAS сравнивают геномы группы больных людей с геномами контрольной группы, включающей в себя аналогичных по возрасту, полу и другим признакам здоровых людей [1]. GWAS выявляют ассоциации конкретных локусов генома с признаками или заболеваниями с использованием набора однонуклеотидных полиморфизмов или SNP, максимально покрывающих геном и маркирующих блоки взаимосвязанных частых SNPs (*tagSNP*). Современные чипы для GWAS содержат 300000–5000000 *tagSNPs* с максимально возможным покрытием генома. Обнаружение ассоциации *tagSNP* с фенотипом означает, что один или несколько маркированных им коррелирующихся SNP должны контролировать биологические

функции, которые лежат в основе выявленной ассоциации [3]. Однако трансляция накопленных в результате GWAS генофенотипических ассоциаций с позиции патогенеза существенно осложняется тем, что факт статистической ассоциации полиморфного варианта в геноме с каким-либо признаком не всегда является прямым свидетельством влияния гена и отражает механизмы формирования патологического процесса.

Для понимания патофизиологической взаимосвязи генетического варианта с фенотипом болезни ключевым моментом является структурно-функциональная характеристика и классификация полиморфных молекулы ДНК. Выделяют 4 основных класса полиморфных вариантов ДНК: 1) однонуклеотидные варианты (SNVs или SNPs): их число колеблется по разным данным от 3750000 до 4500000 [4]; 2) короткие (<50 нуклеотидов) инсерции и делеции (InDels): их насчитывается от 700000 до 1000000 [4]; 3) варианты числа копий (CNVs) – в основном представлены тандемными дупликациями и составляют 5-10% генома [5]; 4) структурные варианты (SVs) – составляют в среднем 13% генома [6]. Каждый вариант ДНК характеризуется собственным фенотипическим эффектом. Одни из таких вариантов хорошо изучены, другие – нет. SNPs, локализованные в области дистального промотора или 5'-нетранслируемого региона (5'-UTR), способны влиять на экспрессию гена, в котором они находятся (цис-эффекты), а также и близлежащих генов (транс-

эффекты) [7]. SNPs, находящиеся в консенсусных последовательностях и регуляторных элементах (энхансерах, сайленсерах) могут влиять на сборку сплайсосомы и процесс сплайсинга [8, 9]. Варианты в 3'-нетранслируемой области (3'-UTR) и полиА-сигнальной последовательности (ААТAAA) способны снижать стабильность мРНК и уменьшать ее количество, и, следовательно, и количество синтезируемого белкового продукта. Варианты, расположенные в старт- и стоп-кодонах могут существенно изменять качество трансляции, приводя к образованию более длинного или более короткого полипептида с более низкой термодинамической стабильностью по сравнению с нормальным белком [10]. Описаны необычные эффекты вариантов в межгенных элементах, способных включать или выключать экспрессию удаленных генов путем изменения статуса их метилирования.

В таблице 1 суммированы основные достижения в медицинской генетике, полученные в результате полногеномных ас-

социативных исследований [1]. С помощью GWAS установлено более 10,000 надежных ассоциаций SNPs с фенотипами и болезнями. В частности, была установлена выраженная вариация показателя неравновесия по сцеплению (LD) в геноме. Выявлено, что большая доля генетической изменчивости, детерминирующей полигенные признаки и болезни, связана с влиянием частых SNPs. Был подтвержден феномен плейотропии: многие SNPs одновременно влияют на множество признаков. GWAS позволили подтвердить причинно-следственные связи и доказать ложноположительных взаимосвязи генотипов и фенотипов. С помощью GWAS было показано, что генетическая структура может имитировать географическую структуру и представлены доказательства действия естественного отбора. Сочетание GWAS с омиксными технологиями позволило установить, что 2/3 GWAS-ассоциированных SNPs расположены в гене, который не является ближайшим геном к наиболее ассоциированному SNP.

Таблица 1

Достижения GWAS в медицинской генетике

Table 1

GWAS achievements in medical genetics

Анализ	Цель	Открытия
Полногеномный анализ ассоциации (GWAS)	Обнаружение ассоциаций SNP с фенотипами/болезнями	Установлено более 10,000 надежных ассоциаций SNPs с фенотипами и болезнями
Полногеномная оценка неравновесия по сцеплению (linkage disequilibrium, LD)	Количественная оценка архитектуры генома	Выраженная вариация показателя LD в геноме, в том числе и межпопуляционная
Оценка наследуемости SNP	Генетическая архитектура	Большая доля генетической изменчивости связана с частыми SNPs
Оценка генетической корреляции	Обнаружение и количественная оценка плейотропии	Плейотропия вездесуща (многие SNPs влияют на множество признаков)
Полигенные оценки риска (Polygenic risk scores)	Обнаружение плейотропии; валидация результатов GWAS	Обнаружение ассоциаций с новыми признаками. Подтверждение прогнозирования на независимых выборках.
Менделевская рандомизация (Mendelian randomization)	Тестирование причинно-следственных связей	Подтверждение известных причинно-следственных связей; эмпирическое доказательство ложноположительных взаимосвязей.
Популяционные различия в частотах аллелей	Реконструкция истории народонаселения; обнаружение естественного отбора	Генетическая структура может имитировать географическую структуру; доказательство действия естественного отбора
Сочетание GWAS с omics-технологиями	Точное картирование; обнаружение генов-мишеней; функции генов	Две трети GWAS-ассоциированных SNPs расположены в гене, который не является ближайшим геном к наиболее ассоциированному SNP

На май 2018 года каталог полногеномных ассоциативных исследований (GWAS catalog, <https://www.ebi.ac.uk/gwas/home>) включал более 69 млн. ассоциаций SNP с фенотипами/болезнями, обнаруженными более чем в 5000 работ и опубликованными в 3378 научных статьях. На март 2019 года база GWAS central (<https://www.gwascentral.org>) включала 69 986 326 ассоциаций между 2974967 уникальными SNP и 829 уникальными болезнями/фенотипами.

Несмотря на достигнутые успехи, GWAS столкнулись с очень серьезной проблемой – сложностью патофизиологической интерпретации выявленных гено-фенотипических ассоциаций. Как правило, связь между генетическим вариантом и признаком не дает непосредственной информации о гене-мишени или механизме, посредством которого данный вариант связан с фенотипом [11]. Проблема заключается в том, что наборы tagSNP, анализируемые GWAS, несмотря на максимально возможное покрытие генома, зачастую не являются причинами изучаемого заболевания. Причинный SNP может находиться где угодно в пределах гаплотипического блока, который может охватывать более 100 kb и часто содержат более 1000 отдельных SNPs [11].

Некоторые значимые ассоциации в системе полиморфизм – фенотип – метаболический путь могут быть обнаружены при рассмотрении дистантных по отношению к данному SNP генов. Так, в GWAS Catalog было зарегистрировано 12 однонуклеотидных полиморфизмов, ассоциированных с множественной миеломой [11]. Картирование этих SNP в генах, удаленных менее чем на 10 000 килобаз, не выявило генов, которые могли бы быть отнесены к какому-либо метаболическому пути. Увеличение расстояния до 400 килобаз также не дало положительных результатов. Однако, анализ SNP в связи с генами, удаленными от них более чем на 500 килобаз, привел к формированию кластеров, вовлеченных в 2 пути - «Миелома» и «Метабо-

лизм при раке», оба имеющих близкое отношение к фенотипу. Так же, многие SNPs показали ассоциации с цветом глаз, однако, анализ связей между ними и близкорасположенными генами не дал результатов [12]. Отношение этого фенотипа к пути «меланогенез» открылось только при картировании SNPs в генах, расположенных на расстоянии 100 килобаз [13]. Парадигма «один SNP – много генов» может быть весьма полезной в обнаружении молекулярных основ фенотипического признака. Интересно, что геном существует в трехмерном измерении, и это является главным фактором, объясняющим дистанционный эффект SNPs на удаленные гены [14-16]. Накапливающиеся данные о 3D-упаковке генома позволят в ближайшем будущем определить положение SNPs в их трехмерном пространственном окружении. К сожалению, сделать это сейчас не представляется возможным в виду нехватки знаний о структурной и пространственной организации хроматина. Еще одно объяснение дистанционных эффектов SNP заключается в том, что однонуклеотидных полиморфизмы являются маркерами больших структурных вариантов, затрагивающих крупные сегменты хромосом [17].

Подавляющее большинство SNP (около 90%), ассоциированных с болезнями в результате GWAS, располагаются в некодирующих областях генома [18]. В расшифровке регуляторного потенциала некодирующих SNPs важную роль могут играть *in silico* инструменты, оперирующие доступными базами данных с достаточными характеристиками генной экспрессии, эпигенетических маркеров, 3D-контактов хроматина и других геномных параметров, включая гены-мишени фармакотерапии.

Использование уже разработанных биоинформатических инструментов будет способствовать пониманию функциональной значимости ассоциированных с фенотипом SNPs, что уже успешно продемонстрировано рядом работ [18-23]. Например, Watanabe K. и др. [24], опираясь на данные полногеномного исследования ас-

социаций однонуклеотидных вариантов с индексом массы тела, обрабатывают результаты, используя биоинформатическую онлайн-платформу FUMA (<http://fuma.ctglab.nl>) для функционального аннотирования приоритетных SNPs и интерактивной визуализации взаимодействующих генов. Chen и соавторы [12] также использовали биоинформатические инструменты и ресурсы VEP, Regulome DB, ANNOVAR, HaploReg для предсказания функционального и регуляторного потенциала 9 184 некодирующих вариантов базы NHGRI, и описали регулируемые механизмы 96% изученных вариантов. Более того, 3 случайно выбранных варианта из этого списка были подвержены функциональному тестированию и проявили энхансерную или сайленсерную активность. Однако фактически с начала 2015 года менее 40% GWAS использовали биоинформатические инструменты для приоритезации и предсказания функции некодирующих SNPs [25].

Биоинформатические методы и подходы к оценке регуляторного потенциала полиморфных локусов.

В обзорном исследовании Nishizaki и Boyle [26] представлена детальная характеристика современных онлайн-инструментов для оценки функциональной роли SNPs в геноме.

Функциональный анализ и интерпретация локусов, ассоциированных с болезнью в результате GWAS представляет собой сложную и многоэтапную задачу, начиная с точного картирования причинных SNPs до исследования функции гена-мишени. При этом на ключевых этапах данного процесса используются различные биоинформатические инструменты. На рисунке 1 представлены наиболее популярные подходы к выявлению функциональных полиморфизмов, ассоциированных с развитием патологии [3]. Данная схема анализа выявленных ассоциаций GWAS-локусов направлена на выделение приоритетных SNPs из общей массы ассоциированных с фенотипом генетических

вариантов. Этот подход подразумевает интеграцию генетических данных, биоинформатического анализа и вычислительных процедур. Однако функциональная оценка некодирующих регуляторных вариантов требует поэтапного применения значительного арсенала программных вычислений, в том числе обращение к большим массивам биологических данных, *in silico* инструментам и результатам экспериментальных молекулярных этиологий.

Первый этап – точное картирование, которое направлено на обнаружение т.н. причинных SNP, влияющих на молекулярные и клеточные процессы, связанные с фенотипом болезнью. Достигается посредством, например, более “плотного” генотипирования участка генома или процедурой импутации недостающих данных генотипирования, а также статистическими процедурами (логистическая регрессия, тест отношения правдоподобия, анализ гаплотипов и др.) для выявления SNP, наиболее значимо ассоциированного с фенотипом - с наибольшим размером эффекта (effect size) и наиболее значимым уровнем значимости (P-value) влияния на фенотип [14, 27, 28].

Следующий этап – *in silico* аннотирование SNPs, направлен на выяснение механизма, посредством которого данный генетический вариант может влиять на экспрессию гена или активность его продукта. Сложность данной задачи заключается в интерпретации некодирующих SNP, что требует применения множества вычислительных процедур, включая анализ специальных баз данных, содержащих экспериментально подтвержденную информацию о регуляторном потенциале SNP (например, Regulome, TRANFAC, ChiA) и применение специальных биоинформатических инструментов. Сканируя мотивы в базах данных TRANSFAC, JASPAR и UniPRODE, можно легко оценить аффинность транскрипционных факторов в отношении связывания с заданными участками ДНК [19-21].



Рис.1. Способы функционального анализа и интерпретации локусов GWAS
Fig. 1. Workflow for functional analysis and interpretation of GWAS loci

Следующий этап – оценка функциональности SNP и идентификация гена-мишени. Для некодирующих регуляторных вариантов используются: методы анализа экспрессии генов, включая выявление eQTL (локусов в геноме, ассоциированных с количественными изменениями экспрессии генов) в различных тканях с полногеномным уровнем значимости; анализ влияния 3-мерной структуры хроматина на регион ДНК с SNP, люциферазный тест, *in vitro* тест связывания белка с ДНК [29, 30].

Для некодирующих вариантов РНК, используются инструменты для поиска их генов-мишеней и таким образом оценивают потенциал связывания микроРНК с областью SNP (TargetScan, MiRanda) [31]. Для некодирующих эпигенетических вариантов оценивают уровень метилирования ДНК, проводят иммунопреципитацию

хроматина в сочетании с высокоэффективным секвенированием [32-34].

Формулировка гипотезы о биоинформатически предсказанном эффекте SNP на фенотип затем используется для тестирования этого эффекта в эксперименте. На заключительном этапе исследуют функции гена-мишени с использованием культивированных клеточных линий человеческих тканей, нокаут-моделей животных, технологии геномного редактирования (CRISPR) и других методологий [35].

Таким образом, именно некодирующие SNP являются главным и наиболее сложным объектом для анализа и биологической интерпретации связи с фенотипом болезни. Рассмотрим основные особенности регуляторного потенциала некодирующих SNP. Многие некодирующие SNPs находятся в регуляторных последовательностях генома и способны влиять на экс-

прессию генов на транскрипционном, посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях [36,37]. Некодирующие варианты в энхансерах – одни из главных кандидатов для функциональной интерпретации GWAS-локусов. Регуляторные сигналы могут действовать на больших расстояниях по всему геному и вступать в контакт с промоторами-мишенями посредством трехмерной упаковки ДНК. Доступность транскрипционных факторов зависит от структурных изменений хроматина, обусловленных посттрансляционными модификациями гистонов, такими как метилирование и ацетилирование [38]. В отличие от закрытого хроматина, т.н. пермиссивный хроматин достаточно динамичен для факторов транскрипции, инициируя ремоделирование доступности специфической последовательности ДНК и обеспечивая открытую конформацию хроматина [39].

На сегодняшний день существует внушительный арсенал *in silico* инструментов и интернет-ресурсов для анализа регуляторного потенциала локусов, ассоциированных с болезнями [39]. Биоинформатические подходы к определению потенциальных регуляторных эффектов не кодирующих SNPs были значительно усилены экспериментальными исследованиями полногеномного формата. Данные проектов ENCODE и проект Национального Института здоровья «Дорожная карта эпигенома» могут быть использованы для оценки регуляторного потенциала не кодирующих вариантов и их проявления различных тканях [40, 41]. Регуляторная функция полиморфизма может быть проявлением эпигенетической модификации генома, включая модификацию гистонов, регуляцию открытости хроматина, связывающую способность транскрипционных факторов. При этом можно оценить потенциальное влияние варианта посредством оценки различных геномных характеристик, таких как количественная оценка экспрессии гена в различных тканях (картирование eQTL), секвенирование хроматина (CHIP-seq технологии), секвенирование гиперчувствительных участков для

ДНК-азы I, анализ взаимодействия хроматина, идентификация ДНК-мотивов, специфически связывающих транскрипционные факторы.

Активно используемые на сегодняшний день онлайн биоинформатические ресурсы направлены на оценку влияния открытого хроматина (ресурсы ENCODE, RegulomeDB, данные проекта «Дорожная карта эпигенома человека»); предсказание связывания участка транскрипционных факторов с ДНК (TRANSFAC, JASPAR); оценку ДНК-белковых взаимодействий (ENCODE, RegulomeDB, HarloReg), оценку метилирования ДНК (ENCODE, MethDB, проект «Дорожная карта эпигенома человека»); анализ экспрессии РНК, модификации гистонов и взаимодействия хроматина. В таблице 2 представлены онлайн-ресурсы для доступа к наиболее популярным биоинформатическим инструментам оценки регуляторного потенциала полиморфизмов. Данные инструменты позволяют аннотировать и предсказывать регуляторные эффекты SNPs с использованием трех основных методологических подходов: функционального аннотирования, оценки консервативности и технологии машинного обучения.

Экспериментальные подтверждения функциональности SNPs реализуется посредством современных биотехнологий. Исследования репортного гена являются дополнением к вышеописанным поисковым системам и предлагают прямое измерение функционального эффекта варианта на уровень экспрессии гена. Для этого регуляторный элемент помещают выше промотора и вводят плазмиду, содержащую интересующий ген [23]. Также, трансгенные линии животных, включая мышей и рыб, представляют собой ценный способ оценки фенотипического эффекта мутации *in vivo* [54]. С открытием редактирования регуляторных коротких палиндромных повторов (технология геномного редактирования CRISPR), не кодирующие варианты и структурные изменения могут быть легче изучены на таких более сложных модельных системах [55].

Таблица 2

Online-ресурсы для доступа к *in silico* инструментам аннотирования полиморфизмов

Table 2

Online resources for access to *in silico* polymorphism annotation tools

Ресурс	Описание, URL	Ссылка
VEP	Включает аннотации из базы Ensembl, предсказывает эффекты SNPs на полногеномном уровне, а также прогнозирует тканеспецифическую активность для 13 клеточных линий человека. http://www.ensembl.org/info/docs/tools/vep/script/index.html	McLaren et al., 2010 [42]
RegulomeDB	Использует бальную систему оценки функциональности полиморфизма с использованием данных более чем 100 типов клеток. http://regulomedb.org	Boyle et al., 2012 [43]
FunciSNP	Использует в качестве вводных пользовательские аннотации для приоритизации SNPs, позволяя пользователям настраивать свои аннотации для запроса интересующего клеточного типа. http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/FunciSNP.html	Coetzee et al., 2012 [44]
ANNOVAR	Инструмент командной строки, который использует аннотации в привязке регионам для аннотирования некодирующих вариантов (включая indels) в дополнение к сравнению их с известными базами данных. http://annovar.openbioinformatics.org	Wang et al., 2010 [45]
HaploReg	Поисковый репозиторий для SNPs и indels Проекта 1000 геномов, представляет сводные данные известных аннотаций для SNPs внутри LD блока. http://www.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php	Ward and Kellis, 2012 [46]
GWAS3D	Оценивает SNPs и indels посредством анализа их трехмерных хромосомных взаимодействий и нарушений связывания транскрипционных факторов. http://jjwanglab.org/gwas3d	Li et al., 2013 [25]
fitCons	Использует метод INSIGHT для предсказания возможности того, что SNP будет влиять на конформацию посредством скрининга сигнатур положительного и отрицательного отбора с на основе трех типов клеток. http://compgen.bscb.cornell.edu/fitCons/	Gulko et al., 2015 [47]
GWAVA	GWAVA основан на алгоритме random forest, использует базы данных HGMD и контрольные варианты проекта 1000 геномов для предсказания функциональности SNP. ftp://ftp.sanger.ac.uk/pub/resources/software/gwava/	Ritchie et al., 2014 [48]
CADD	CADD основан на методе опорных векторов (SVM), используя симулированные варианты как патологические и аллели, сходные у человека и шимпанзе в качестве контрольных. http://cadd.gs.washington.edu	Kircher et al., 2014 [49]
DANN	DANN основан на алгоритме нелинейного обучения нейронных сетей (фиксированные аллели сравнивают со стимулированными вариантами) подобно CADD. https://cbcl.ics.uci.edu/public_data/DANN/	Quang et al., 2015 [51]
FATHMM-MKL	Реализует Kernel-классификатор для оценки сложных нелинейных моделей с использованием патогенных вариантов (HGMD) и обучающих вариантов Проекта 1000 геномов. http://fathmm.biocompute.org.uk	Shihab et al., 2015 [10]
deltaSVM	Использует алгоритм gkm-SVM машинного обучения для оценки эффекта варианта в специфических типах клеток. http://www.beerlab.org/deltasvm/	Lee et al., 2015 [52]
DeepSEA	Использует многослойную иерархическую структурированную модель последовательности глубокого обучения для прогнозирования функциональных SNP с чувствительностью к одному нуклеотиду с использованием данных ENCODE и Roadmap Epigenomics. http://deepsea.princeton.edu/job/analysis/create/	Zhou and Troyanskaya, 2015 [53]

Метилирование ДНК – это фундаментальная эпигенетическая характеристика, контролирующая включение/выключение генной экспрессии. Тем

не менее, взаимосвязь между характером последовательности ДНК и степенью метилирования до конца не ясна [56]. Исследования позволили выявить корреляции

между профилем метилирования ДНК и индивидуальными генотипами для идентификации локусов, способных повлиять на статус метилирования генов. Было открыто множество генных локусов, объясняющих различную степень метилирования т.н. CpG-островков в зависимости от популяции или типа клеточной линии. Однако далеко не все варианты метилирования могут быть интерпретированы только лишь с учетом одних генетических факторов [56, 58]. Поэтому изучение роли SNP в формировании того или иного профиля метилирования становится одним из главных объектов для биоинформатического анализа.

Секвенирование генома нового поколения (NGS) позволяет измерить в полногеномном масштабе экспрессию генов, привязку транскрипционных факторов, доступность/открытость хроматина, модификации гистонов и метилирование ДНК. Огромные усилия были приложены для характеристики вариаций генома на транскриптомом уровне в различных клеточных линиях и тканях. Проект GENCODE (www.genencodegenes.org) содержит огромный пласт экспериментальных данных о функциональных элементах генома и представляет собой высококачественный каталог транскриптов [57]. Количественные данные о функциональной значимости вариантов могут отличаться в разных базах данных. Так, McCarthy et al [58] показали, что конкордантность Loss of Function (LoF) вариантов между ANNOVAR и VEP составляет 65%, хотя обе поисковые системы используют один и тот же набор транскриптов. Что требует стандартизации представления данных, The Sequence Ontology Project – это первый ресурс, направленный на стандартизацию описательных характеристик генома, опирающийся на базы VEP и ANNOVAR [59].

Таким образом, вся выше представленная информация в полном объеме депонирована в сети баз данных, доступных в Internet, однако, понимание биологического смысла этой информации представляет не меньшую трудность, чем сам про-

цесс их получения. Интерпретация выявленных ассоциаций с позиций формальной логики системы ген-мРНК-белок-метаболит в большинстве случаев крайне проблематична, поскольку абсолютное число локусов, обнаруживших ассоциации с различными фенотипами находятся в некодирующих областях генома, межгенных пространствах или в генах, не имеющих прямого отношения к изучаемому заболеванию. Путь от генотипа к фенотипу в таком случае удастся проложить с помощью биоинформатического инструментария, позволяющего предсказать эффект варианта ДНК на различные аспекты молекулярной жизни в микромире, включая транскрипцию, связывание транскрипционных факторов, созревание пре-мРНК, сплайсинг, трансляцию, эпигенетические модификации (метилирование ДНК, открытость хроматина). Онлайн ресурсы позволяют дать всестороннюю оценку эффектам SNPs и их роли в развитии того или иного фенотипического признака болезни.

В перспективе, увеличение объема выборки до 100000 и более человек позволит в будущих GWAS открыть новые варианты ассоциаций с известными заболеваниями, что поможет конкретизировать диагноз вплоть до его молекулярных основ и выбрать персонализированное лечение болезней. Безусловно, с течением времени, GWAS на основе SNP-панелей будут замещены GWAS на основе полногеномного секвенирования, что, вероятно, прольет свет на неизвестные по сей день аспекты взаимосвязей в системе генотип-фенотип-среда. Если 10-15 лет назад технология генотипирования была лимитирующим фактором в сфере генетических исследований, то сейчас этим фактором является полнота фенотипической характеристики обследуемых лиц. Современный биоинформатический анализ подразумевает стратификацию по фенотипическим признакам с целью выявления причинно-следственных отношений между ними и понимания того, как той или иной фактор среды опосредует воздействие генотипа на формирование

признака. В конечном счете, результаты полногеномных ассоциативных исследований должны быть всесторонне проанализированы и имплементированы в практическое здравоохранение в виде более точных (по чувствительности и специфичности) диагностических предсказательных тестов и алгоритмов персонализированного лечения и профилактики социально значимой мультифакториальной патологии.

Заключение. Полногеномные ассоциативные исследования открыли новую эру в истории генетических исследований мультифакториальных заболеваний. В данном обзоре мы представили способ поэтапного функционального анализа и интерпретации локусов GWAS, описали инструменты и online-ресурсы, позволяющие аннотировать и предсказывать регуляторные эффекты SNPs, основываясь на трех основных методиках. Выяснили, что биоинформатический анализ *in silico* позволяет дать всестороннюю оценку эффектам SNPs и их роли в развитии того или иного фенотипического признака болезни. Полученные результаты были успешно дополнены результатами изучения экспрессии генов в различных тканях, метилировании ДНК и характеристиками метаболомного профиля.

Информация о финансировании

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-15-00227).

Financial support

The study was supported by the Russian Science Foundation (№20-15-00227).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Visscher PM, Wray EM, Zhang Q, et al. 10 years of GWAS discovery: biology, function, and translation. *The American Journal of Human*

Genetics. 2017;101(1):5-22. DOI: 10.1016/j.ajhg.2017.06.005

2. Ermann J, Glimcher LH. After GWAS: mice to the rescue? *Current opinion in immunology.* 2012;24(5):564-570. DOI: 10.1016/j.coi.2012.09.005

3. Edwards SL, Beesley J, French JD, et al. Beyond GWASs: illuminating the dark road from association to function. *The American Journal of Human Genetics.* 2013;93(5):779-797. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.10.012>

4. Wu J, Yu Z, Chen G. PD-1/PD-Ls: A New Target for Regulating Immunopathogenesis in Central Nervous System Disorders. *Current drug delivery.* 2017;14(6):791-796. DOI: <https://doi.org/10.2174/1567201814666161123152311>

5. Zarrei M, MacDonald J, Merico D, et al. A copy number variation map of the human genome. *Nature reviews genetics.* 2015;16(3):172-183. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg3871>

6. Grimm JB, English BP, Chen J, et al. A general method to improve fluorophores for live-cell and single-molecule microscopy. *Nature methods.* 2015;12(3):244-250. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3256>

7. Butkiewicz M, Bush WS. In silico functional annotation of genomic variation. *Current protocols in human genetics.* 2016;88(1):6.15.1-6.15.17. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0615s88>

8. Lower KM, Hughes JR, De Gobbi M, et al. Adventitious changes in long-range gene expression caused by polymorphic structural variation and promoter competition. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2009;106(51):21771-21776. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0909331106>

9. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences.* 1977;74(12):5463-5467. DOI: 10.1073/pnas.74.12.5463

10. Shihab HA, Rogers MF, Gough J, et al. An integrative approach to predicting the functional effects of non-coding and coding sequence variation. *Bioinformatics.* 2015;31(10):1536-1543. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv009>

11. Brodie A, Azaria JR, Ofran Y. How far from the SNP may the causative genes be? *Nucleic acids research.* 2016;44(13):6046-6054. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkw500>

12. Chen G, Yu D, Chen J, et al. Re-annotation of presumed noncoding disease/trait-associated genetic variants by integrative analyses. *Scientific reports*. 2015;5:9453. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep09453>
13. Law MH, Bishop DT, Lee JE, et al. Genome-wide meta-analysis identifies five new susceptibility loci for cutaneous malignant melanoma. *Nature Genetics*. 2015;47(9):987-995. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3373>
14. Sidore C, Busonero F, Maschio A, et al. Genome sequencing elucidates Sardinian genetic architecture and augments association analyses for lipid and blood inflammatory markers. *Nature genetics*. 2015;47(11):1272-1281. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3368>
15. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409(6822):860-921. DOI: [10.1038/35057062](https://doi.org/10.1038/35057062)
16. Hagege H, Klous P, Braem, C, et al. Quantitative analysis of chromosome conformation capture assays (3C-qPCR). *Nature protocols*. 2007;2(7):1722-1733. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.243>
17. Bulik-Sullivan B, Loh P, Finucane H, et al. LD Score regression distinguishes confounding from polygenicity in genome-wide association studies. *Nature genetics*. 2015;47(3):291-295. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3211>
18. Zhang F, Lupski JR. Non-coding genetic variants in human disease. *Human molecular genetics*. 2015;24(R1):R102-R110. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv259>
19. Matys V, Fricke E, Geffers R, et al. TRANSFAC®: transcriptional regulation, from patterns to profiles. *Nucleic acids research*. 2003;31(1):374-378. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkg108>
20. Sandelin A, Alkema W, Engstrom P, et al. JASPAR: an open-access database for eukaryotic transcription factor binding profiles. *Nucleic acids research*. 2004;32(1):D91-D94. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkh012>
21. Newburger DE, Bulyk ML. UniPROBE: an online database of protein binding microarray data on protein-DNA interactions. *Nucleic acids research*. 2008;37(1):D77-D82. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkn660>
22. Bailey TL, Boden M, Buske FA, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic acids research*. 2009;37(2):W202-W208. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkp335>
23. Bryzgalov LO, Antontseva EV, Matveeva MYu, et al. Detection of regulatory SNPs in human genome using ChIP-seq ENCODE data. *PLoS one*. 2013;8(10):e78833. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078833>
24. Watanabe K, Taskesen E, van Bochoven A, et al. FUMA: Functional mapping and annotation of genetic associations. *European Neuropsychopharmacology*. 2019;29(3):S789-S790. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.08.018>
25. Li MJ, Yan B, Sham PCh, et al. Exploring the function of genetic variants in the non-coding genomic regions: approaches for identifying human regulatory variants affecting gene expression. *Briefings in bioinformatics*. 2014;16(3):393-412. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbu018>
26. Nishizaki SS, Boyle AP. Mining the unknown: assigning function to noncoding single nucleotide polymorphisms. *Trends in Genetics*. 2017;33(1):34-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2016.10.008>
27. Ameer A, Rada-Iglesias A, Komorowski J, et al. Identification of candidate regulatory SNPs by combination of transcription-factor-binding site prediction, SNP genotyping and haploChIP. *Nucleic acids research*. 2009;37(12):e85-e85. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkp381>
28. Pabinger S, Dander A, Fischer M, et al. A survey of tools for variant analysis of next-generation genome sequencing data. *Briefings in bioinformatics*. 2014;15(2):256-278. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbs086>
29. Duggal G, Wang H., Kingsford C. Higher-order chromatin domains link eQTLs with the expression of far-away genes. *Nucleic acids research*. 2013;42(1):87-96. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkt857>
30. Pruitt KD, Tatusova T, Maglott DR. NCBI reference sequences (RefSeq): a curated non-redundant sequence database of genomes, transcripts and proteins. *Nucleic acids research*. 2007;35(1):D61-D65. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkl842>
31. Nishizaki SS, Boyle A. Mining the unknown: assigning function to noncoding single nucleotide polymorphisms. *Trends in Genetics*. 2017;33(1):34-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2016.10.008>
32. Gibbs JR, van der Brug MP, Hernandez DG, et al. Abundant quantitative trait loci exist for DNA methylation and gene expression in human brain. *PLoS genetics*. 2010;6(5):e1000952. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000952>
33. Gutierrez-Arcelus M, Lappalainen T, Montgomery SB, et al. Passive and active DNA

methylation and the interplay with genetic variation in gene regulation. *Nelife*. 2013;2:e00523. DOI: 10.7554/eLife.00523

34.Kato N, Loh M, Takeuchi F, et al. Trans-ancestry genome-wide association study identifies 12 genetic loci influencing blood pressure and implicates a role for DNA methylation. *Nature genetics*. 2015;47(11):1282-1293. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3405>

35.Fisher S, Grice E, Vinton R, et al. Evaluating the biological relevance of putative enhancers using Tol2 transposon-mediated transgenesis in zebrafish. *Nature protocols*. 2006;1(3):1297-1305. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.230>

36.Kheradpour P, Ernst J, Melnikov A, et al. Systematic dissection of regulatory motifs in 2000 predicted human enhancers using a massively parallel reporter assay. *Genome research*. 2013;23(5):800-811. DOI: 10.1101/gr.144899.112

37.Arnold CD, Gerlach D, Stelzer Ch, et al. Genome-wide quantitative enhancer activity maps identified by STARR-seq. *Science*. 2013;339(6123):1074-1077. DOI: 10.1126/science.1232542

38.Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature*. 2000;403(6765):41. DOI: <https://doi.org/10.1038/47412>

39.Klemm SL, Shipony Z, Greenleaf WJ. Chromatin accessibility and the regulatory epigenome. *Nature Reviews Genetics*. 2019;20:207-220. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0089-8>

40.Harrow J, Frankish A, Gonzalez JM, et al. GENCODE: the reference human genome annotation for The ENCODE Project. *Genome research*. 2012;22(99):1760-1774. DOI: 10.1101/gr.135350.111

41.Mungall CJ, Batchelor C, Eilbeck K. Evolution of the Sequence Ontology terms and relationships. *Journal of biomedical informatics*. 2011;44(1):87-93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2010.03.002>

42.McLaren W, Pritchard B, Rios D, et al. Deriving the consequences of genomic variants with the Ensembl API and SNP Effect Predictor. *Bioinformatics*. 2010;26(16):2069-2070. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq330>

43.Boyle A, Hong EL, Hariharan M, et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome research*. 2012;22(9):1790-1797. DOI: 10.1101/gr.137323.112

44.Coetzee SG, Rhie SK, Berman BP, et al. FunciSNP: an R/bioconductor tool integrating functional non-coding data sets with genetic association studies to identify candidate regulatory SNPs. *Nucleic acids research*. 2012;40(18):e139-e139. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks542>

45.Zhang Z, Wang Y, Wang L, et al. The combined effects of amino acid substitutions and indels on the evolution of structure within protein families. *PLoS One*. 2010;5(12):e14316. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014316>

46.Ward LD, Kellis M. Interpreting noncoding genetic variation in complex traits and human disease. *Nature biotechnology*. 2012;30(11):1095-1106. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt.2422>

47.Gulko B, Hubisz M, Gronau I, et al. A method for calculating probabilities of fitness consequences for point mutations across the human genome. *Nature genetics*. 2015;47(3):276-283. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3196>

48.Ritchie GRS, Dunham I, Zeggini E, et al. Functional annotation of noncoding sequence variants. *Nature methods*. 2014;11(3):294-296. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2832>

49.Kircher M, Witten D, Jain P, et al. A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants. *Nature genetics*. 2014;46(3):310-315. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2892>

50.Quang D, Chen Y, Xie X. DANN: a deep learning approach for annotating the pathogenicity of genetic variants. *Bioinformatics*. 2014;31(5):761-763. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu703>

51.Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*. 2015;348(6230):124-128. DOI: 10.1126/science.aaa1348

52.Zhou J, Troyanskaya OG, Predicting effects of noncoding variants with deep learning-based sequence model. *Nature methods*. 2015;12(10):931-934. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3547>

53.Maher B. ENCODE: The human encyclopedia. *Nature News*. 2012;489(7414):46-48. DOI: <https://doi.org/10.1038/489046a>

54.Li MJ, Sham PC, Wang J. FastPval: a fast and memory efficient program to calculate very low P-values from empirical distribution. *Bioinformatics*. 2010;26(22):2897-2899. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq540>

55. Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nature Reviews Genetics*. 2012;13(7):484-492. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg3230>

56. Schübeler D. Epigenetic islands in a genetic ocean. *Science*. 2012;338(6108):756-757. DOI: [10.1126/science.1227243](https://doi.org/10.1126/science.1227243)

57. Flicek P, Ahmed I, Amode MR, et al. Ensembl 2013. *Nucleic acids research*. 2013;41(D1):D48-D55 DOI: [10.1093/nar/gks1236](https://doi.org/10.1093/nar/gks1236)

58. McCarthy DJ, Humburg P, Kanapin A, et al. Choice of transcripts and software has a large effect on variant annotation. *Genome medicine*. 2014;6(3):26. DOI: <https://doi.org/10.1186/gm543>

59. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall A, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature*. 2011;476(7360):298-303. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10351>

References

1. Visscher PM, Wray EM, Zhang Q, et al. 10 years of GWAS discovery: biology, function, and translation. *The American Journal of Human Genetics*. 2017;101(1):5-22. DOI: [10.1016/j.ajhg.2017.06.005](https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.06.005)

2. Ermann J, Glimcher LH. After GWAS: mice to the rescue? *Current opinion in immunology*. 2012;24(5):564-570. DOI: [10.1016/j.coi.2012.09.005](https://doi.org/10.1016/j.coi.2012.09.005)

3. Edwards SL, Beesley J, French JD, et al. Beyond GWASs: illuminating the dark road from association to function. *The American Journal of Human Genetics*. 2013;93(5):779-797. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.10.012>

4. Wu J, Yu Z, Chen G. PD-1/PD-Ls: A New Target for Regulating Immunopathogenesis in Central Nervous System Disorders. *Current drug delivery*. 2017;14(6):791-796. DOI: <https://doi.org/10.2174/1567201814666161123152311>

5. Zarrei M, MacDonald J, Merico D, et al. A copy number variation map of the human genome. *Nature reviews genetics*. 2015;16(3):172-183. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg3871>

6. Grimm JB, English BP, Chen J, et al. A general method to improve fluorophores for live-cell and single-molecule microscopy. *Nature methods*. 2015;12(3):244-250. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3256>

7. Butkiewicz M, Bush WS. In silico functional annotation of genomic variation. *Current protocols in human genetics*. 2016;88(1):6.15.1-

6.15.17. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0615s88>

8. Lower KM, Hughes JR, De Gobbi M, et al. Adventitious changes in long-range gene expression caused by polymorphic structural variation and promoter competition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(51):21771-21776. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0909331106>

9. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*. 1977;74(12):5463-5467. DOI: [10.1073/pnas.74.12.5463](https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463)

10. Shihab HA, Rogers MF, Gough J, et al. An integrative approach to predicting the functional effects of non-coding and coding sequence variation. *Bioinformatics*. 2015;31(10):1536-1543. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv009>

11. Brodie A, Azaria JR, Ofran Y. How far from the SNP may the causative genes be? *Nucleic acids research*. 2016;44(13):6046-6054. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkw500>

12. Chen G, Yu D, Chen J, et al. Re-annotation of presumed noncoding disease/trait-associated genetic variants by integrative analyses. *Scientific reports*. 2015;5:9453. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep09453>

13. Law MH, Bishop DT, Lee JE, et al. Genome-wide meta-analysis identifies five new susceptibility loci for cutaneous malignant melanoma. *Nature Genetics*. 2015;47(9):987-995. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3373>

14. Sidore C, Busonero F, Maschio A, et al. Genome sequencing elucidates Sardinian genetic architecture and augments association analyses for lipid and blood inflammatory markers. *Nature genetics*. 2015;47(11):1272-1281. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3368>

15. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409(6822):860-921. DOI: [10.1038/35057062](https://doi.org/10.1038/35057062)

16. Hagège H, Klous P, Braem C, et al. Quantitative analysis of chromosome conformation capture assays (3C-qPCR). *Nature protocols*. 2007;2(7):1722-1733. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.243>

17. Bulik-Sullivan B, Loh P, Finucane H, et al. LD Score regression distinguishes confounding from polygenicity in genome-wide association studies. *Nature genetics*. 2015;47(3):291-295. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3211>

18. Zhang F, Lupski JR. Non-coding genetic variants in human disease. *Human molecular genetics*. 2015;24(R1):R102-R110. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv259>
19. Matys V, Fricke E, Geffers R, et al. TRANSFAC®: transcriptional regulation, from patterns to profiles. *Nucleic acids research*. 2003;31(1):374-378. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkg108>
20. Sandelin A, Alkema W, Engstrom P, et al. JASPAR: an open-access database for eukaryotic transcription factor binding profiles. *Nucleic acids research*. 2004;32(1):D91-D94. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkh012>
21. Newburger DE, Bulyk ML. UniPROBE: an online database of protein binding microarray data on protein-DNA interactions. *Nucleic acids research*. 2008;37(1):D77-D82. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkn660>
22. Bailey TL, Boden M, Buske FA, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic acids research*. 2009;37(2):W202-W208. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkp335>
23. Bryzgalov LO, Antontseva EV, Matveeva MYu, et al. Detection of regulatory SNPs in human genome using ChIP-seq ENCODE data. *PLoS one*. 2013;8(10):e78833. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078833>
24. Watanabe K, Taskesen E, van Bochoven A, et al. FUMA: Functional mapping and annotation of genetic associations. *European Neuropsychopharmacology*. 2019;29(3):S789-S790. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.08.018>
25. Li MJ, Yan B, Sham PCh, et al. Exploring the function of genetic variants in the non-coding genomic regions: approaches for identifying human regulatory variants affecting gene expression. *Briefings in bioinformatics*. 2014;16(3):393-412. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbu018>
26. Nishizaki SS, Boyle AP. Mining the unknown: assigning function to noncoding single nucleotide polymorphisms. *Trends in Genetics*. 2017;33(1):34-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2016.10.008>
27. Ameer A, Rada-Iglesias A, Komorowski J, et al. Identification of candidate regulatory SNPs by combination of transcription-factor-binding site prediction, SNP genotyping and haploChIP. *Nucleic acids research*. 2009;37(12):e85-e85. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkp381>
28. Pabinger S, Dander A, Fischer M, et al. A survey of tools for variant analysis of next-generation genome sequencing data. *Briefings in bioinformatics*. 2014;15(2):256-278. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbs086>
29. Duggal G, Wang H., Kingsford C. Higher-order chromatin domains link eQTLs with the expression of far-away genes. *Nucleic acids research*. 2013;42(1):87-96. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkt857>
30. Pruitt KD, Tatusova T, Maglott DR. NCBI reference sequences (RefSeq): a curated non-redundant sequence database of genomes, transcripts and proteins. *Nucleic acids research*. 2007;35(1):D61-D65. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkl842>
31. Nishizaki SS, Boyle A. Mining the unknown: assigning function to noncoding single nucleotide polymorphisms. *Trends in Genetics*. 2017;33(1):34-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2016.10.008>
32. Gibbs JR, van der Brug MP, Hernandez DG, et al. Abundant quantitative trait loci exist for DNA methylation and gene expression in human brain. *PLoS genetics*. 2010;6(5):e1000952. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000952>
33. Gutierrez-Arcelus M, Lappalainen T, Montgomery SB, et al. Passive and active DNA methylation and the interplay with genetic variation in gene regulation. *Nelife*. 2013;2:e00523. DOI: 10.7554/eLife.00523
34. Kato N, Loh M, Takeuchi F, et al. Trans-ancestry genome-wide association study identifies 12 genetic loci influencing blood pressure and implicates a role for DNA methylation. *Nature genetics*. 2015;47(11):1282-1293. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3405>
35. Fisher S, Grice E, Vinton R, et al. Evaluating the biological relevance of putative enhancers using Tol2 transposon-mediated transgenesis in zebrafish. *Nature protocols*. 2006;1(3):1297-1305. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.230>
36. Kheradpour P, Ernst J, Melnikov A, et al. Systematic dissection of regulatory motifs in 2000 predicted human enhancers using a massively parallel reporter assay. *Genome research*. 2013;23(5):800-811. DOI: 10.1101/gr.144899.112
37. Arnold CD, Gerlach D, Stelzer Ch, et al. Genome-wide quantitative enhancer activity maps identified by STARR-seq. *Science*. 2013;339(6123):1074-1077. DOI: 10.1126/science.1232542
38. Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature*.

- 2000;403(6765):41. DOI: <https://doi.org/10.1038/47412>
39. Klemm SL, Shipony Z, Greenleaf WJ. Chromatin accessibility and the regulatory epigenome. *Nature Reviews Genetics*. 2019;20:207-220. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0089-8>
40. Harrow J, Frankish A, Gonzalez JM, et al. GENCODE: the reference human genome annotation for The ENCODE Project. *Genome research*. 2012;22(9):1760-1774. DOI: [10.1101/gr.135350.111](https://doi.org/10.1101/gr.135350.111)
41. Mungall CJ, Batchelor C, Eilbeck K. Evolution of the Sequence Ontology terms and relationships. *Journal of biomedical informatics*. 2011;44(1):87-93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2010.03.002>
42. McLaren W, Pritchard B, Rios D, et al. Deriving the consequences of genomic variants with the Ensembl API and SNP Effect Predictor. *Bioinformatics*. 2010;26(16):2069-2070. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq330>
43. Boyle A, Hong EL, Hariharan M, et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome research*. 2012;22(9):1790-1797. DOI: [10.1101/gr.137323.112](https://doi.org/10.1101/gr.137323.112)
44. Coetzee SG, Rhie SK, Berman BP, et al. FungiSNP: an R/bioconductor tool integrating functional non-coding data sets with genetic association studies to identify candidate regulatory SNPs. *Nucleic acids research*. 2012;40(18):e139-e139. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks542>
45. Zhang Z, Wang Y, Wang L, et al. The combined effects of amino acid substitutions and indels on the evolution of structure within protein families. *PLoS One*. 2010;5(12):e14316. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014316>
46. Ward LD, Kellis M. Interpreting noncoding genetic variation in complex traits and human disease. *Nature biotechnology*. 2012;30(11):1095-1106. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt.2422>
47. Gulko B, Hubisz M, Gronau I, et al. A method for calculating probabilities of fitness consequences for point mutations across the human genome. *Nature genetics*. 2015;47(3):276-283. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3196>
48. Ritchie GRS, Dunham I, Zeggini E, et al. Functional annotation of noncoding sequence variants. *Nature methods*. 2014;11(3):294-296. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2832>
49. Kircher M, Witten D, Jain P, et al. A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants. *Nature genetics*. 2014;46(3):310-315. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2892>
50. Quang D, Chen Y, Xie X. DANN: a deep learning approach for annotating the pathogenicity of genetic variants. *Bioinformatics*. 2014;31(5):761-763. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu703>
51. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*. 2015;348(6230):124-128. DOI: [10.1126/science.aaa1348](https://doi.org/10.1126/science.aaa1348)
52. Zhou J, Troyanskaya OG. Predicting effects of noncoding variants with deep learning-based sequence model. *Nature methods*. 2015;12(10):931-934. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3547>
53. Maher B. ENCODE: The human encyclopedia. *Nature News*. 2012;489(7414):46-48. DOI: <https://doi.org/10.1038/489046a>
54. Li MJ, Sham PC, Wang J. FastPval: a fast and memory efficient program to calculate very low P-values from empirical distribution. *Bioinformatics*. 2010;26(22):2897-2899. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq540>
55. Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nature Reviews Genetics*. 2012;13(7):484-492. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg3230>
56. Schübeler D. Epigenetic islands in a genetic ocean. *Science*. 2012;338(6108):756-757. DOI: [10.1126/science.1227243](https://doi.org/10.1126/science.1227243)
57. Flicek P, Ahmed I, Amode MR, et al. Ensembl 2013. *Nucleic acids research*. 2013;41(D1):D48-D55 DOI: [10.1093/nar/gks1236](https://doi.org/10.1093/nar/gks1236)
58. McCarthy DJ, Humburg P, Kanapin A, et al. Choice of transcripts and software has a large effect on variant annotation. *Genome medicine*. 2014;6(3):26. DOI: <https://doi.org/10.1186/gm543>
59. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall A, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature*. 2011;476(7360):298-303. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10351>

Статья поступила в редакцию 17 июня 2020 г.
Поступила после доработки 5 сентября 2020 г.
Принята к печати 25 октября 2020 г.

Received 17 June 2020

Revised 5 September 2020

Accepted 25 October 2020

Информация об авторах

Алексей Валерьевич Полоников, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, заведующий лабораторией статистической генетики и биоинформатики НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, директор НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: polonikov@rambler.ru, ORCID: 0000-0001-6280-247X.

Елена Юрьевна Клёсова, инженер-биотехнолог, НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: ecless@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-1543-9230.

Юлия Эдуардовна Азарова, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии, заведующая лабораторией биохимической генетики и метаболомики, НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»,

г. Курск, Российская Федерация, E-mail: azzzzar@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-8098-8052.

Information about the authors

Alexey V. Polonikov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Professor at the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Head of the Laboratory of Statistical Genetics and Bioinformatics, Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Director of Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: polonikov@rambler.ru, ORCID: 0000-0001-6280-247X.

Elena Yu. Klyosova, Engineer-biotechnologist of Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: ecless@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-1543-9230.

Iuliia E. Azarova, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Biological Chemistry, Head of the Laboratory of Biochemical Genetics and Metabolomics of Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: azzzzar@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-8098-8052.



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-3

УДК 575.174.015.3:616.127-005.4

Ассоциации полиморфных вариантов rs2305948 и rs1870377 гена рецептора фактора роста сосудистого эндотелия 2 типа (*KDR*) с риском развития ишемической болезни сердца

М.В. Медведева 

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация
Автор для переписки: М.В. Медведева (medvedevamariakgavm@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: По данным статистики, первое место среди причин смертности во всем мире занимают сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), из которых большую долю составляют случаи ишемической болезни сердца (ИБС). В связи с этим, на сегодняшний день активно ведутся исследования по изучению ее ранее неизвестных этиологических аспектов. Особенно актуальным в условиях современности представляется поиск генетических маркеров заболевания, в перспективе потенциально применимых для ранней диагностики ИБС, а также установления наследственной предрасположенности к ней. **Цель исследования:** Изучить ассоциации полиморфных вариантов rs2305948 и rs1870377 гена *KDR* с риском развития ИБС у жителей Центральной России. **Материалы и методы:** В исследование было включено 1390 образцов ДНК: 635 больных ИБС и 755 здоровых людей. ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование ДНК-полиморфизмов проводилось с помощью ПЦР в реальном времени (Real-time PCR) с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов. Использовали амплификатор CFX96 и наборы Applied Biosystems. Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием ресурсов программы SNPstats. Функциональное аннотирование SNPs мы проводили на базе доступных биоинформатических ресурсов. **Результаты:** Мы обнаружили, что существует половой диморфизм в связи *KDR* с развитием ИБС. Нами была установлена статистически значимая ассоциация генотипа А/Т rs1870377 гена *KDR* с риском развития ИБС у мужчин. При биоинформатическом анализе мы выявили взаимосвязь полиморфизма rs1870377 с повышенной экспрессией гена *SRD5A* (фермента, конвертирующего тестостерон в дигидротестостерон), что может служить одной из причин гендерных особенностей при изучении риска ИБС в данном конкретном случае. **Заключение:** В рамках исследования впервые в российской популяции были изучены взаимосвязи полиморфных вариантов гена *KDR* с риском развития ИБС. Установлено,

что полиморфизм rs1870377 гена *KDR* статистически значимо ассоциирован с повышенным риском развития ИБС у представителей мужского пола.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца; ген сосудистого эндотелиального фактора роста 2 типа (*KDR*); однонуклеотидный полиморфизм (SNP); анализ ассоциации, половой диморфизм

Благодарности: Выражаем благодарность сотрудникам и руководству Научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии (НИИ ГМЭ) Курского государственного медицинского университета Минздрава России за содействие в выполнении настоящего исследования. Автор выражает благодарность профессору кафедры биологии, медицинской генетики и экологии Курского государственного медицинского университета, д.б.н., Солодиловой Марии Андреевне за научное руководство и поддержку при проведении научного исследования

Для цитирования: Медведева МВ. Ассоциации полиморфных вариантов rs2305948 и rs1870377 гена рецептора фактора роста сосудистого эндотелия 2 типа (*KDR*) с риском развития ишемической болезни сердца. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(1):32-43. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-3

Associations of rs2305948 and rs1870377 polymorphic variants of the vascular endothelial growth factor receptor type 2 (*KDR*) gene with the risk of coronary heart disease

Maria V. Medvedeva 

Kursk State Medical University,
3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia

Corresponding author: Maria V. Medvedeva (medvedevamariakgavm@yandex.ru)

Abstract

Background: According to statistics, the first place among the causes of death worldwide is occupied by cardiovascular diseases (CVD), of which a large proportion are cases of coronary heart disease (CHD). In this regard, to date, research is actively being conducted to study its previously unknown etiological aspects. Especially relevant in modern conditions is the search for genetic markers of the disease, potentially applicable in the future for the early diagnosis of CHD, as well as the establishment of a hereditary predisposition to it. **The aim of the study:** To study the association of polymorphic variants of rs2305948 and rs1870377 of the *KDR* gene with the risk of CHD in Central Russia. **Materials and methods:** The study included 1390 DNA samples: 635 CHD patients and 755 healthy people. DNA was isolated by phenol-chloroform extraction. Genotyping of DNA polymorphisms was performed using real-time PCR with allele discrimination using TaqMan probes. We

used the CFX96 amplifier and Applied Biosystems kits. Statistical processing of results was carried out using the resources of the SNPstats program. We performed functional annotation of SNPs on the basis of available bioinformatic resources. **Results:** We found that there is sexual dimorphism in relation to KDR with the development of CHD. We found a statistically significant Association of the a/T rs1870377 genotype of the VDR gene with the risk of CHD in men. Bioinformatic analysis revealed the relationship of rs1870377 polymorphism with increased expression of the SRD5A gene (an enzyme that converts testosterone to dihydrotestosterone), which may be one of the reasons for gender differences in studying the risk of CHD in this particular case. **Conclusion:** For the first time in the Russian population, the study examined the relationship of polymorphic variants of the KDR gene with the risk of CHD. It was found that the rs1870377 polymorphism of the KDR gene is statistically significantly associated with risk of CHD in males.

Keywords: ischemic heart disease; vascular endothelial growth factor type 2 gene (*KDR*); single nucleotide polymorphism (SNP); association analysis; sex dimorphism

Acknowledgements: We would like to thank the research Institute of genetic and molecular epidemiology of the KSMU for their assistance in the implementation of this study. The author expresses his gratitude to Solodilova Maria Andreevna, professor of the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology of Kursk State Medical University, Doctor of Biological Sciences, for scientific guidance and support in this research.

For citation: Medvedeva MV. Associations of rs2305948 and rs1870377 polymorphic variants of the vascular endothelial growth factor receptor type 2 (*KDR*) gene with the risk of coronary heart disease. *Research Results in Biomedicine*. 2021;7(1):32-43. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-3

Введение. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) основной причиной заболеваемости и смертности населения во всём мире (55%) являются обусловленные атеросклерозом сердечно-сосудистые заболевания, более 66% из которых представлены ишемической болезнью сердца, инсультом и заболеваниями периферических артерий [1]. В Российской Федерации (РФ) в общей структуре заболеваемости также доминируют ССЗ, от которых в год умирает более 1 млн человек – 56,4% (в 6 раз больше, чем в развитых странах Европы, США и Японии). Доля ИБС в структуре смертности от ССЗ составляет 56,6 % у мужчин и 40,4% у женщин [1, 2]. Прогнозируется, что в 2020 г. смертность от ССЗ составит 22–25 млн, почти 50 % из которых придется на долю ИБС [1, 3, 4, 5].

Согласно российским клиническим рекомендациям, ИБС представляет собой поражение миокарда, вызванное наруше-

нием кровотока по коронарным артериям [1]. Исходя из классификации форм ИБС, выделяют: внезапную сердечную смерть (первичная остановка сердца), стенокардию (напряженную, впервые возникшую, стабильную, прогрессирующую), инфаркт миокарда (ИМ) крупноочаговый, мелкоочаговый, постинфарктный кардиосклероз, сердечную недостаточность, нарушения сердечного ритма, позднее в эту классификацию была добавлена «безболевая ишемия миокарда» (БИМ). Сердечная недостаточность и нарушения сердечного ритма рассматриваются как самостоятельные варианты течения заболевания и диагностируются при отсутствии других симптомов ИБС [2]. Наиболее частой причиной развития ишемической болезни сердца (до 95%) является атеросклеротическое поражение крупных и средних коронарных артерий или атеротромбоз, которое может протекать со спазмом и без него. Патогенез атеросклероза чрезвычайно сложен и многие

его звенья до сих пор остаются малоизученными или имеют различную интерпретацию. Обобщенные современные представления о патогенетическом механизме развития атеросклероза заключаются в том, что основу процесса составляет последовательное взаимодействие нескольких патогенетических факторов, ведущее в конечном счете к образованию фиброзной бляшки. Различают три основные стадии формирования атеросклеротической бляшки (атерогенез): стадия липоидоза (образование липидных пятен и полосок); стадия липосклероза (образование фиброзной бляшки); формирование осложненной атеросклеротической бляшки [2]. В настоящее время доказано, что наиболее значимыми факторами риска атеросклероза являются: дислипидемия, АГ (которая также имеет изученную генетическую компоненту) [3, 4], курение, ожирение, сахарный диабет [2, 5-8].

Собственно ИБС представляет собой мультифакториальное заболевание, развитие которого обусловлено сочетанным воздействием наследственных и средовых факторов [9]. Известно, что до 60% смертности от сердечно-сосудистой патологии зависит от распространенности в популяции так называемых факторов риска (ФР). Среди ФР выделяют: немодифицируемые и модифицируемые. ФР могут накапливаться у одного человека и взаимодействовать друг с другом, оказывая множественный эффект, что особенно характерно для представителей населения с низким социальным статусом, у которых в 5-7 раз возрастает вероятность наступления смерти от ССЗ [1, 9]. В развитии ИБС выделяют следующие ФР: биологические, образа жизни, общие фиксированные и общие модифицируемые. К биологическим ФР относят: повышенное артериальное давление (гипертоническая болезнь), повышение глюкозы крови (нарушение толерантности к глюкозе или сахарный диабет 2 типа), повышение холестерина в крови (дислипидемия, избыточная масса тела, абдоминальное ожирение), неблагоприятный психосоциальный статус (стрессы). К ФР об-

раза жизни относят: курение, нерациональное питание, злоупотребление алкоголем, низкую физическую активность. К общим фиксированным ФР относят: генетические факторы, возраст старше 55 лет у женщин и старше 45 лет у мужчин, мужской пол, этническую принадлежность. К общим модифицируемым ФР относят: низкий уровень образования, низкий уровень дохода, неблагоприятные условия жизни и работы. Протективными факторами, в свою очередь, считаются регулярное употребление фруктов и овощей, регулярная физическая активность, а также умеренное потребление алкоголя [1].

Генетическая компонента ИБС активно исследуется во всем мире и на сегодняшний день установлен широкий спектр генов, ассоциированных с развитием заболевания: гены системы свертывания крови, провоспалительных цитокинов, дисфункции эндотелия, обмена липидов, сосудистого гомеостаза, факторов адгезии [10, 11, 12]. Среди генетических маркеров развития ИБС изучаются ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) генов семейства сосудистых эндотелиальных факторов роста (*VEGF*). Мета-анализы генетических исследований показали, что SNPs гена *VEGFA* связаны с развитием ИБС в различных расовых и этнических группах. В частности, наиболее исследован вклад SNPs rs699947, rs3025039, rs1570360 в развитие заболевания [13, 14, 15]. В то же время как ген рецептора фактора роста сосудистого эндотелия 2 типа (*KDR*) изучался в большинстве работ в качестве фактора риска развития церебрального атеротромбоза, лакунарных инфарктов, внутримозговых кровоизлияний и геморрагического инсульта [16], и в значительно меньшей степени ИБС. В частности, в исследовании авторы [17] установили, что SNP 2305948 и SNP 1870377 статистически значимо связаны с пониженной функцией связывания *KDR* с *VEGF*. Ранее в Японии была исследована ассоциация выше указанных полиморфных вариантов с поражением коронарных артерий у больных болезнью Кавасаки [18]. Кроме этого, SNPs rs2305948 and rs1870377 рассматри-

вались как маркеры ИБС еще в нескольких исследованиях [18, 19, 20]. Однако среди населения нашей страны ни в одном регионе в качестве потенциальных маркеров риска развития ИБС до настоящего времени никем не изучались SNPs гена *KDR*.

Цель исследования. Изучить ассоциации двух частых полиморфных вариантов rs2305948 и rs1870377 гена *KDR* с риском развития ишемической болезни сердца у жителей Центральной России, учитывая половой диморфизм.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования была цельная венозная кровь.

Работа проводилась на базе лаборатории Научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии Курского государственного медицинского университета Минздрава России (НИИ ГМЭ КГМУ). В исследование было включено 1390 образцов ДНК, выделенной из крови биобанка НИИ Генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ. Выборка была представлена 635 образцами ДНК больных с подтвержденным диагнозом ИБС (45,7%), из которых 356 мужчин (56%) и 279 женщин (44%), а также 755 образцами ДНК относительно здоровых людей, не имеющих хронических заболеваний (54,3%), из которых 393 (52%) мужчин и 362 (48%) женщин. Основная часть пациентов были представителями русской национальности (более 90% от общего количества участников исследования) и коренными жителями Курской области. Все пациенты давали свое информированное согласие на участие в научном исследовании. Протокол настоящего исследования был одобрен Региональным этическим комитетом КГМУ на плановом заседании с составлением соответствующего протокола.

Все пациенты с диагнозом ИБС находились на стационарном лечении в кардиологическом отделении больницы скорой медицинской помощи г. Курска (ОБУЗ КГКБ СМП), а также в кардиологическом отделении и в отделении сосудистой хирургии и рентгенохирургических методов диагности-

ки областной клинической больницы г. Курска (БМУ КОКБ), в период с 2011 по 2015 годы в рамках проведения генетико-эпидемиологических исследований ряда различных сердечно-сосудистых заболеваний [21-25]. Диагноз ИБС устанавливался квалифицированными врачами-кардиологами вышеуказанных медицинских учреждений на основании комплексного клинического обследования и инструментального обследования пациентов.

ДНК выделяли из цельной венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Два частых SNPs rs2305948 и rs1870377 гена рецептора фактора роста сосудистого эндотелия 2 типа (*KDR*) были включены нами в программу исследования. Генотипирование ДНК-полиморфизмов гена *KDR* проводилось по средствам ПЦР в реальном времени (Real-time PCR) с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов. Для работы мы использовали амплификатор CFX96 (BioRad, США) и коммерческие наборы Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific).

Статистическая обработка полученных нами данных проводилась с использованием электронных ресурсов программы SNPstats (<https://www.snpstats.net/start.htm>) [26]. При расчете равновесия Харди-Вайнберга использовали точный тест Фишера. Ассоциации аллелей и генотипов гена *KDR* с вероятностью развития заболевания оценивались с использованием следующих показателей: отношения шансов с 95%-м доверительным интервалом (OR 95% CI) и *p*-уровня значимости ($p \leq 0,05$). Учитывая половой диморфизм предрасположенности к ИБС, анализ ассоциаций проводился отдельно в группах мужчин и женщин. При оценке ассоциаций во всех расчетах вводили поправку на возраст.

Функциональное аннотирование SNPs мы проводили на базе доступных биоинформатических ресурсов. Для изучения QTLs (локусов количественных признаков), имеющих взаимосвязь с SNPs, мы использовали данные электронных баз данных (<https://www.snpedia.com>; <https://www.ensembl.org/index.html>;

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>;
<http://mulinlab.tmu.edu.cn/qtlbase/index.html>).

Результаты и их обсуждение.

Распределение частот генотипов в изучаемой популяции жителей Центральной России не имело значимых отклонений от равновесия ХВ (p>0,05). Для выявления и оценки возможных гендерных особенностей вклада SNPs rs2305948 и rs1870377 гена *KDR* при интерпретации результатов работы, мы разделили общую выборку на две (по полу). При всех расчетах мы вводили поправку на возраст.

В таблице 1 представлена частота аллелей и генотипов в исследованных группах пациентов. Для rs2305948 статистически значимых ассоциаций с риском развития ИБС не наблюдалось (p ≥ 0,05). Однако SNP rs1870377 (генотип А/Т) ассоциировался с повышенным риском развития ИБС (OR 1,43: 1,05-1,94, p=0,025). Причем, ассоциация данного SNP наблюдалась только среди представителей мужского пола. Мы проанализировали гаплотипы, образованные полиморфными

вариантами rs2305948 и rs1870377 гена *KDR* (табл. 2). Статистически значимых ассоциаций гаплотипов гена *KDR* с риском развития ИБС не было установлено ни у мужчин, ни у женщин (p>0,05).

В таблице 3 представлены данные неравновесия по сцеплению (linkage disequilibrium, LD) между SNPs rs2305948 и rs1870377 гена *KDR* в разделенных по полу группах (P<0,05). SNPs rs2305948 находился в положительном неравновесии по сцеплению с rs1870377, как мужчин, так и у женщин.

Для функционального аннотирования SNPs нами использовались биоинформатические инструменты ресурса QTLbase (<http://mulinlab.tmu.edu.cn/qtlbase/index.html>), который не показал ассоциации аллелей rs1870377 с уровнем экспрессии гена *KDR* ни в одной из анализируемых тканей. Однако было установлено, что аллель Т SNP rs1870377 ассоциирован с повышенной экспрессией гена *SRD5A3* в крови (P=1,51×10⁻⁴).

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов

Table 1

Frequencies of alleles and genotypes

rs2305948				
мужчины				
Генотип/аллель	ИБС	Здоровые ¹	OR ²	P ³
С/С-Т/С	293 (99,3%)	329 (98,5%)	1,00	0,37
Т/Т	2 (0,7%)	5 (1,5%)	0,47 (0,09-2,56)	
женщины				
С/С-Т/Т	210 (80,8%)	239 (73,8%)	1,00	0,12
Т/С	50 (19,2%)	85 (26,2%)	0,71 (0,46-1,10)	
rs1870377				
мужчины				
Т/Т-А/А	200 (56,3%)	249 (63,7%)	1,00	0,025
А/Т	155 (43,7%)	142 (36,3%)	1,43 (1,05-1,94)	
женщины				
Т/Т-А/Т	266 (95,3%)	333 (92,8%)	1,00	0,15
А/А	13 (4,7%)	26 (7,2%)	0,59 (0,28-1,23)	

Примечание: ¹ – абсолютное число и процент лиц с указанным генотипом; ² – отношение шансов с 95% доверительными интервалами с поправками на пол и возраст; ³ – уровень значимости, отражающий генно-средовые взаимодействия.

Note: ¹ – the absolute number and percentage of individuals with the indicated genotype; ² – odds ratio with 95% confidence intervals adjusted for gender and age; ³ – significance level, reflecting the gene-environmental interactions.

Таблица 2

Частоты гаплотипов полиморфных вариантов rs2305948 и rs1870377 гена *KDR*

Table 2

Frequencies of haplotypes of polymorphic variants rs2305948 and rs1870377 of the *KDR* gene

SNPs <i>H</i> ²	rs2305948	rs1870377	Контроль	Больные	OR (95%CI) ¹	<i>P</i> ³
мужчины						
<i>H1</i>	C	T	0,6807	0,6742	1,00	-
<i>H2</i>	C	A	0,1948	0,2021	1,03 (0,77 - 1,38)	0,83
<i>H3</i>	T	A	0,0889	0,0923	1,07 (0,71 - 1,60)	0,74
<i>H4</i>	T	T	0,0356	0,0314	0,93 (0,44 - 1,97)	0,85
женщины						
<i>H1</i>	C	T	0,6814	0,7098	1,00	-
<i>H2</i>	C	A	0,1758	0,1844	1,01 (0,72 - 1,42)	0,94
<i>H3</i>	T	A	0,1016	0,0862	0,85 (0,54 - 1,34)	0,48
<i>редкие</i>	T	T	0,0412	0,0196	0,52 (0,21 - 1,27)	0,15

Примечание: OR – отношения шансов и 95% доверительные интервалы с поправкой на пол и возраст; *H* – гаплотипы; *p* – уровень значимости.

Note: OR – odds ratios and 95% confidence intervals adjusted for sex and age; *H* – haplotypes; *p* – level of significance.

Таблица 3

Показатели неравновесия по сцеплению между полиморфными вариантами гена *KDR*

Table 3

Indicators of disequilibrium in coupling between polymorphic variants of the *KDR* gene

SNP ID	SNPs	
	rs2305948	rs1870377
мужчины		
rs2305948	-	0,0549
	-	0,6190
женщины		
rs2305948	-	0,0605
	-	0,6534

Примечание: показатели неравновесия по сцеплению между SNPs rs2305948 и rs1870377: верхние ячейки – *D* (темные поля), нижние – *D'* (светлые поля).

Note: indices of linkage disequilibrium between SNPs rs2305948 and rs1870377: upper cells – *D* (dark fields), lower cells – *D'* (light fields).

Продуктом экспрессии гена *KDR* является белок тирозинкиназа, который выполняет функцию рецептора фактора роста сосудистого эндотелия VEGF (VEGFA, VEGFC и VEGFD), таким образом, играя роль регулятора ангиогенеза, проницаемости стенки кровеносных сосудов, а также гематопоза в эмбриональном развитии, активизирует пролиферацию, миграцию и дифференцировку эндотелиоцитов, влияет

на реорганизацию актинового цитоскелета [27, 28, 29]. Изоформы 2 и 3 данного белка могут оказывать ингибирующее воздействие на VEGF, а именно изоформа 2 служит отрицательным регулятором ангиогенеза. Это обусловлено тем, что снижается количество свободных VEGFA и VEGFC, не происходит их связывания с FLT4 (рецептор тирозинкиназы для VEGFC и -D). Известно, что мутации в гене *FLT4* вызы-

вают возникновение наследственной лимфедемы [27]. Имеются данные, что снижение активности *KDR* коррелирует с сосудистой дисфункцией и может быть связано с развитием и прогрессированием атеросклероза. В исследовании, которое выполняла группа китайских ученых, было показано, что SNP rs2305948 и SNP rs1870377 ассоциированы со значительным снижением эффективности связывания VEGF с *KDR*. Предполагается, что снижение функции *KDR* провоцирует повреждение эндотелиоцитов, нарушение их выживаемости, а также снижение антиапоптотических эффектов VEGF и аномальное развитие сосудов [27, 28, 29]. Вышеизложенные факты могут косвенно указывать на прогрессирование атеросклеротического поражения сосудов на фоне ослабления эффекта *KDR* [17].

В исследовании 2016 года было изучено, что SNPs VEGFA (rs699947 CC/CA) и VEGFR2 (rs2305948 TT) оказывали протективное воздействие относительно ИБС. Взаимодействие VEGFA (rs699947 CA/AA) с VEGFR2 (rs1870377 TA) напротив, ассоциировалось с повышением риска развития болезни. Сочетание генотипов VEGFA rs3025039 (CC/CT) и VEGFR2 (rs2305948 CC/CT/TT) имело взаимосвязь со снижением риска ИБС. При анализе гаплотипов почти все потенциальные комбинированные генотипы VEGFA (rs1570360) и VEGFR2 (rs1870377), за исключением AAAA, были положительно связаны с восприимчивостью к ИБС по сравнению с AATT ($p < 0,05$). Аналогичным образом, 8 комбинированных генотипов VEGFA (rs1570360) и VEGFR2 (rs7667298), за исключением AAAG, также были связаны с более высокой частотой ИБС [19]. В другом исследовании, проведенном китайскими генетиками, были получены следующие результаты: SNPs rs2305948 и rs1870377 показали статистически значимые взаимосвязи с развитием ИБС. Субъекты, несущие варианты генотипы AA/GA и TT отдельно, имели более высокий риск ИБС, чем соответствующие носители GG. Также на основании

анализа двух независимых популяционных исследований, в 2016 году китайские ученые показали, что 3 полиморфизма гена *KDR* были связаны с риском ИБС для SNP-604, SNP rs2305948 и SNP rs1870377 в первой популяции, а также для SNP rs2305948 ($p = 0,003$) и для SNP rs 1870377 во второй популяции [17].

В настоящей работе мы обнаружили, что существует половой диморфизм в связи *KDR* с развитием ИБС у мужчин. По всей видимости, данный факт связан с особенностями развития атеросклеротического процесса у мужчин, лежащего в основе патогенеза ИБС. Известно, что существуют гендерные особенности подверженности ИБС и характера её течения [2, 8]. Среди женщин наиболее распространено поражение мелких коронарных артерий, в отличие от мужчин [2, 8]. Кроме того, у мужчин с возрастом степень поражения коронарных артерий значительно возрастает, а у женщин фактор старения не имеет ассоциации с усугублением коронарного атеросклероза. В научных исследованиях при проведении аутопсии группой ученых было доказано, что обструктивный характер поражения коронарных артерий менее распространен у женщин с ИБС (63%), чем у мужчин (77%) [2, 8, 30].

Проведенный нами биоинформатический анализ данных показал связь полиморфизма rs1870377 с повышенной экспрессией гена *SRD5A*. *SRD5A3* – фермент полипренолредуктаза, который играет ключевую роль на ранних стадиях N-связанного гликозилирования белка, превращая полипренол в долихол (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20637498>). Интересно, что *SRD5A3* – фермент, конвертирующий тестостерон в дигидротестостерон – самый мощный эндогенный андроген, обладающий в 2-5 раз большей способностью связываться с рецептором андрогена и в 10 раз более высокой эффективностью индуцировать передачу сигналов, опосредованную рецептором андрогена, чем тестостерон [31]. Однако для понимания феномена полового диморфизма в ассоциации rs1870377 гена *KDR* с развити-

ем ИБС необходимо проведение функциональных генетических исследований пациентов различного пола с данными анатомо-морфологического строения коронарного кровообращения (результаты коронарографии).

Заключение. Таким образом, можно сказать, что проведенное нами исследование на популяции жителей региона Центральной России подтвердило обнаруженную ранее в азиатской популяции ассоциацию SNP rs1870377 гена *KDR* с риском развития ИБС. Вероятно, данная взаимосвязь может быть обусловлена несколькими известными причинами: снижением активности продукта экспрессии гена/снижением связываемости рецептора с VEGF, которое влечет ослабление его эффекта на сосудистую стенку и, как следствие – замедление антиапоптотических процессов, нарушение восстановления поврежденного эндотелия, снижение выживаемости эндотелиоцитов и прогрессирование атеросклероза. Но необходимо подчеркнуть, что для обобщения, сравнения и анализа результатов исследований в рамках темы вклада полиморфизма гена *KDR* в риск развития ИБС, требуется расширение теоретической базы по данному вопросу за счет аналогичных работ на популяциях других регионов. Дальнейшие исследования могли бы пролить свет на природу полового диморфизма во взаимосвязи гена *KDR* с развитием коронарного атеросклероза.

Информация о финансировании

Исследование выполнено при финансовой поддержке Курского государственного медицинского университета.

Financial support

The study was carried out with the financial support of Kursk State Medical University

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Латфуллин ИА. Ишемическая болезнь сердца: основные факторы риска, лечение. Казань: Изд-во Казан. ун-та; 2017.
2. Абросимов ВН, Жукова ЛА, Глотов СИ, и др. Ишемическая болезнь сердца: учебное пособие. Рязань: Изд-во Рязанского гос. мед. ун-та; 2015.
3. Москаленко МИ, Пономаренко ИВ, Полоников АВ, и др. Полиморфный локус rs17577 гена *MMP9*, ассоциированный с развитием эссенциальной гипертензии у мужчин. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2020;15(1):39-43. DOI: <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15008>
4. Москаленко МИ, Пономаренко ИВ, Полоников АВ, и др. Полиморфный локус rs652438 гена *MMP12* ассоциирован с развитием артериальной гипертензии у женщин. Артериальная гипертензия. 2019;25(1):60-65. DOI: <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2019-25-1-60-65>
5. Хохлов АЛ, Поздняков НО, Мирошников АЕ, и др. Полиморфизм генов eNOS и AGTR2 как фактор риска развития ишемической болезни сердца. Проблемы стандартизации в здравоохранении. 2015;9-10:46-50.
6. Бойцов СА, Зайратьянц ОВ, Андреев ЕМ, и др. Сравнение показателей смертности от ишемической болезни сердца среди мужчин и женщин старше 50 лет в России и США. Российский кардиологический журнал. 2017;146(6):100-107. DOI: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-100-107>.
7. WHO Mortality Database (WHO MD) [Электронный ресурс] [дата обращения 27.07.2020]. URL: http://www.who.int/healthinfo/statistics/mortality_rawdata/en/
8. Скворцов ВВ, Тумаренко АВ, Скворцова ЕМ, и др. Ишемическая болезнь сердца и стенокардия. Медицинская сестра. 2015;7:3-9.
9. Бочков НП, Пузырев ВП, Смирнихова СА. Клиническая генетика. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
10. Brown BD, Nsengimana J, Barrett JH, et al. An evaluation of inflammatory gene polymorphisms in sibships discordant for premature coronary artery disease: the GRACE-IMMUNE study. BMC Medicine. 2010;8:5. DOI: <https://doi.org/10.1186/1741-7015-8-5>
11. Хохлов АЛ, Поздняков НО, Мирошников АЕ, и др. Особенности клинического значе-

ния полиморфных вариантов генов ENOS1 и AGTR2 у пациентов с ИБС. Архив внутренней медицины. 2016;29(3):53-58. DOI: <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2016-6-3-53-58>

12. Khera AV, Kathiresan S. Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation. *Nature Reviews Genetics*. 2017;18(6):331-344. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.160>

13. Wang Y, Huang Q, Liu J, et al. Vascular endothelial growth factor A polymorphisms are associated with increased risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(18):30539-30551. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15546>

14. Ma WQ, Wang Y, Han XQ, et al. Association of genetic polymorphisms in vascular endothelial growth factor with susceptibility to coronary artery disease: a meta-analysis. *BMC Medical Genetics*. 2018;19(1):108. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0628-3>

15. Zhao X, Meng L, Jiang J, et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis. *Growth Factors*. 2018;36(3-4):153-163. DOI: <https://doi.org/10.1080/08977194.2018.1477141>

16. Zhang W, Sun K, Zhen Y, et al. VEGF receptor-2 variants are associated with susceptibility to stroke and recurrence. *Stroke*. 2009;40(8):2720-2726. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.554394>

17. Wang Y, Zheng Y, Zhang W, et al. Polymorphisms of KDR gene are associated with coronary heart disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;50(8):760-767. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.04.074>

18. Kariyazono H, Ohno T, Khajoev V, et al. Association of vascularendothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor gene polymorphisms with coronary artery lesions of Kawasaki disease. *Pediatric Research*. 2004;56:953-959. DOI: <https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000145280.26284.B9>

19. Liu D, Song J, Ji X, et al. Association of Genetic Polymorphisms on VEGFA and VEGFR2 With Risk of Coronary Heart Disease. *Medicine*. 2016;95(19):e3413. DOI: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000003413>

20. Li L, Pan Y, Dai L, et al. Association of Genetic Polymorphisms on Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptor Genes with Sus-

ceptibility to Coronary Heart Disease. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2016;22:31-40. DOI: <https://doi.org/10.12659/MSM.895163>

21. Полоников АВ, Ушачев ДВ, Шестаков АМ, и др. Полиморфизм Gly460Trp гена аддуктина и предрасположенность к гипертонической болезни: значение генно-средовых взаимодействий для возникновения заболевания в русской популяции. *Кардиология*. 2011;51(10):33-38.

22. Полоников АВ, Солодилова МА, Иванов ВП, и др. Защитный эффект полиморфизма GLY272SER гена GNB3 в развитии гипертонической болезни и его взаимосвязь со средовыми факторами риска развития заболевания. *Терапевтический архив*. 2011;(83)4:55-60.

23. Полоников АВ, Иванов ВП, Солодилова МА. Промоторный полиморфизм – 1293G>С гена CYP2E1 увеличивает риск развития гипертонической болезни у мужчин, злоупотребляющих алкоголем. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013;155(6):695-698. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-013-2239-5>

24. Бушуева ОЮ, Булгакова ИВ, Иванов ВП, и др. Ассоциация полиморфизма E158K гена флавиновой монооксигеназы 3 с риском развития ишемической болезни сердца. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015;159(6):754-757. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-015-3073-8>

25. Чурилин МИ, Кононов СИ, Лунева ЮВ, и др. Полиморфные варианты генов внутриклеточных транспортеров холестерина: связь с уровнем липидов крови, толщиной интима-медиа и развитием ишемической болезни сердца. *Генетика*. 2020;56(2):225-233.

26. Solé X, Guinó E, Valls J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22(15):1928-1929. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>

27. Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2016;17(10):611-625. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.87>

28. Zafar MI, Zheng J, Kong W, et al. The role of vascular endothelial growth factor-B in metabolic homeostasis: current evidence. *Bioscience Reports*. 2017;37(4):BSR20171089. DOI: <https://doi.org/10.1042/BSR20171089>

29. Yamaoka-Tojo M. Endothelial Function for Cardiovascular Disease Prevention and Management. *International Journal of Clinical Cardiology*. 2017;4:103. DOI: <https://doi.org/10.23937/2378-2951/1410103>

30. Цыганкова ОВ. Этиопатогенетические особенности ишемической болезни сердца в зависимости от уровня половых гормонов, пола и возраста [диссертация]. Новосибирск: Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова; 2016.

31. Azzouni F, Mohler J. Role of 5 α -reductase inhibitors in prostate cancer prevention and treatment. *Urology*. 2012;79(6):1197-1205. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.urology.2012.01.024>

References

1. Latfullin IL. Ischaemic heart disease: the main risk factors, treatment. Kazan: Kazan Publishing house; 2017. Russian.

2. Abrosimov VN, Zhukova LA, Glotov SI, et al. Ischemic heart disease: a tutorial. Ryazan: Izd-vo Ryazanskogo gos. med. un-ta; 2015. Russian.

3. Moskalenko MI, Ponomarenko IV, Polonikov AV, et al. Polymorphic locus rs17577 of *MMP9* gene is associated with essential hypertension in men. *Medical News of the North Caucasus*. 2020;15(1):39-43. DOI: <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15008>

4. Moskalenko MI, Ponomarenko IV, Polonikov AV, et al. Polymorphic locus rs652438 of the *MMP12* gene is associated with the development of hypertension in women. "Arterial'naya Gipertenziya" ("Arterial Hypertension"). 2019;25(1):60-65. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2019-25-1-60-65>

5. Khokhlov AL, Pozdnyakov NO, Miroshnikov AE, et al. Polymorphism of the eNOS and AGTR2 genes as a risk factor for coronary heart disease. *Problems of standardization in healthcare*. 2015;9-10:46-50. Russian.

6. Boytsov SA, Zayratiants OV, Andreev EM, et al. Comparison of coronary heart disease mortality in 50-years-old and older men and women age in Russia and USA. *Russian Journal of Cardiology*. 2017;(6):100-107. Russian. DOI: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-100-107>

7. WHO Mortality Database [Internet] [cited 2020 July 27]. Available from:

<http://www.who.int/healthinfo/statistics/mortalityrawdata/en/>

8. Skvortsov VV, Tumarenko AV, Skvortsova EM, et al. Coronary heart disease and angina. *Nurse*. 2015;7:3-9. Russian.

9. Bochkov NP, Puzyrev VP, Smirnova SA. *Clinical genetics*. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. Russian.

10. Brown BD, Nsengimana J, Barrett JH, et al. An evaluation of inflammatory gene polymorphisms in sibships discordant for premature coronary artery disease: the GRACE-IMMUNE study. *BMC Medicine*. 2010;8:5. DOI: <https://doi.org/10.1186/1741-7015-8-5>

11. Khokhlov AL, Pozdnyakov NO, Miroshnikov AE, et al. Features of the clinical significance of polymorphic variants of the ENOS and AGTR2 genes in patients with CHD. *The Russian Archives of Internal Medicine*. 2016;29(3):53-58. Russian. DOI: <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2016-6-3-53-58>

12. Khera AV, Kathiresan S. Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation. *Nature Reviews Genetics*. 2017;18(6):331-344. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.160>

13. Wang Y, Huang Q, Liu J, et al. Vascular endothelial growth factor A polymorphisms are associated with increased risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(18):30539-30551. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15546>

14. Ma WQ, Wang Y, Han XQ, et al. Association of genetic polymorphisms in vascular endothelial growth factor with susceptibility to coronary artery disease: a meta-analysis. *BMC Medical Genetics*. 2018;19(1):108. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0628-3>

15. Zhao X, Meng L, Jiang J, et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis. *Growth Factors*. 2018;36(3-4):153-163. DOI: <https://doi.org/10.1080/08977194.2018.1477141>

16. Zhang W, Sun K, Zhen Y, et al. VEGF receptor-2 variants are associated with susceptibility to stroke and recurrence. *Stroke*. 2009;40(8):2720-2726. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.554394>

17. Wang Y, Zheng Y, Zhang W, et al. Polymorphisms of KDR gene are associated with coronary heart disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;50(8):760-767. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.04.074>

18. Kariyazono H, Ohno T, Khajoev V, et al. Association of vascularendothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor gene polymorphisms with coronary artery lesions of Kawasaki disease. *Pediatric Research*. 2004;56:953-959. DOI: <https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000145280.26284.B9>
19. Liu D, Song J, Ji X, et al. Association of Genetic Polymorphisms on VEGFA and VEGFR2 With Risk of Coronary Heart Disease. *Medicine*. 2016;95(19):e3413. DOI: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000003413>
20. Li L, Pan Y, Dai L, et al. Association of Genetic Polymorphisms on Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptor Genes with Susceptibility to Coronary Heart Disease. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2016;22:31-40. DOI: <https://doi.org/10.12659/MSM.895163>
21. Polonikov AV, Ushachev DV, Shestakov AM, et al. Polymorphism Gly460Trp of alpha-adducin gene and predisposition to essential hypertension. The role of gene-environment interactions in the development of the disease in Russian population. *Cardiology*. 2011;11(10):33. Russian.
22. Polonikov AV, Solodilova MA, Ivanov VP, et al. Protective effect of GLY272SER polymorphism of the GNB3 gene in the development of hypertension and its relationship with environmental risk factors for the development of the disease. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2011;83(4):55. Russian.
23. Polonikov AV, Ivanov VP, Solodilova MA. Promoter polymorphism-1293G>C of the CYP2E1 gene increases the risk of developing hypertension in men who abuse alcohol. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2013;155(6):695-698. Russian. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-013-2239-5>
24. Bushueva OY, Bulgakova IV, Ivanov VP, et al. Association of e158k polymorphism of the flavin monooxygenase 3 gene with the risk of ischemic heart disease. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015;159(6):754. Russian. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-015-3073-8>
25. Churilin MI, Kononov SI, Luneva YV, et al. Polymorphic variants of genes of intracellular cholesterol transporters: connection with blood lipids level, intima-media thickness and development of ischemic heart disease. *Genetics*. 2020;56(2):225-233. Russian.
26. Solé X, Guinó E, Valls J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22(15):1928-1929. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>
27. Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2016;17(10):611-625. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.87>
28. Zafar MI, Zheng J, Kong W, et al. The role of vascular endothelial growth factor-B in metabolic homeostasis: current evidence. *Bioscience Reports*. 2017;37(4):BSR20171089. DOI: <https://doi.org/10.1042/BSR20171089>
29. Yamaoka-Tojo M. Endothelial Function for Cardiovascular Disease Prevention and Management. *International Journal of Clinical Cardiology*. 2017;4:103. DOI: <https://doi.org/10.23937/2378-2951/1410103>
30. Tsygankova O.V. Etiopathogenetic features of ischemic heart disease depending on the level of sex hormones, gender and age [dissertation]. Novosibirsk: Pirogov Russian National Research Medical University; 2016. Russian.
31. Azzouni F, Mohler J. Role of 5α-reductase inhibitors in prostate cancer prevention and treatment. *Urology*. 2012;79(6):1197-1205. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.urology.2012.01.024>

Статья поступила в редакцию 23 июля 2020 г.
Поступила после доработки 31 октября 2020 г.
Принята к печати 15 декабря 2020 г.

Received 23 July 2020
Revised 31 October 2020
Accepted 15 December 2020

Информация об авторе

Мария Владиславовна Медведева, аспирант по научной специальности 03.02.07 – Генетика, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: medvedevamariakgavm@yandex.ru, ORCID 0000-0001-7370-0022.

Information about the author

Maria V. Medvedeva, Post-graduate Student in Scientific Specialty 03.02.07 – Genetics, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: medvedevamariakgavm@yandex.ru, ORCID 0000-0001-7370-0022.



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-4

УДК 575.16

Полиморфизм rs34845949 гена *SASH1* ассоциирован с риском развития преэклампсии

Е.А. Решетников

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация

Автор для переписки: Е.А. Решетников (reshetnikov@bsu.edu.ru)

Резюме

Актуальность: Преэклампсия (ПЭ) – мультисистемное патологическое состояние, возникающее во второй половине беременности (после 20-й недели), характеризующееся артериальной гипертензией в сочетании с протеинурией ($\geq 0,3$ г/л в суточной моче), нередко, отеками и проявлениями полиорганной/полисистемной дисфункции/недостаточности. **Цель исследования:** Оценить связи полиморфизма дифференциально экспрессирующихся генов плаценты с риском формирования преэклампсии. **Материалы и методы:** Для проведения исследования была сформирована выборка из 366 беременных с преэклампсией и 631 женщин контрольной группы. Мультиплексное генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) дифференциально экспрессирующихся генов плаценты было осуществлено с помощью метода масспектрометрии MALDI-TOF. Для исследования было отобрано 7 SNPs четырех генов (*PAPPA2*, *SASH1*, *RDH13*, *PPP1R12C*). Для оценки ассоциаций SNPs с риском формирования преэклампсии использовали лог-линейный регрессионный анализ в рамках трех генетических моделей (аддитивная, рецессивная, доминантная). **Результаты:** Установлено, что аллель С rs34845949 *SASH1* связан с развитием преэклампсии в рамках аддитивной (ОШ=1,27, 95%ДИ 1,01-1,59, $p=0,042$) и доминантной (ОШ=1,35, 95%ДИ 1,01-1,82, $p=0,043$) моделей взаимодействия аллелей. Также выявлено, что rs34845949 *SASH1* обладает важным регуляторным значением: расположен в сайте модифицированных гистонов в областях энхансеров в 6 тканях, в ДНКза-гиперчувствительном сайте в 7 тканях, сайте связывания с регуляторным белком USF1, в домене связывания с двумя факторами транскрипции: Foxl1_1, Pou2f2_known11. **Заключение:** Аллель С rs34845949 *SASH1* является фактором риска развития преэклампсии (OR=1,27-1,35) у беременных Центрально-Черноземного региона России.

Ключевые слова: беременность; преэклампсия; генетический полиморфизм; *SASH1*

Для цитирования: Решетников ЕА. Полиморфизм rs34845949 гена *SASH1* ассоциирован с риском развития преэклампсии. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(1):44-55. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-4

rs34845949 polymorphism of the SASH1 gene is associated with the risk of preeclampsia

Evgeny A. Reshetnikov 

Belgorod State National Research University,
85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

Corresponding author: Evgeny A. Reshetnikov (reshetnikov @bsu.edu.ru)

Abstract

Background: Preeclampsia (PE) is a multisystem pathological condition that occurs in the second half of pregnancy (after the 20th week), characterized by arterial hypertension in combination with proteinuria (≥ 0.3 g/L in daily urine), often, edema and manifestations of multiple organ/polysystemic dysfunction/failure. **The aim of the study:** To assess the relationship of polymorphism of differentially expressed genes of the placenta with the risk of preeclampsia. **Materials and methods:** For the study, a sample of 366 pregnant women with preeclampsia and 631 women in the control group was formed. Multiplex genotyping of single nucleotide polymorphisms (SNPs) of differentially expressed placental genes was performed using MALDI-TOF spectrometry. Seven SNPs of four genes were selected for the study (*PAPPA2*, *SASH1*, *RDH13*, *PPP1R12C*). To assess the associations of SNPs with the risk of preeclampsia, we used log-linear regression analysis in three genetic models (additive, recessive, dominant). **Results:** Allele C rs34845949 *SASH1* is associated with the development of preeclampsia within the additive (OR=1.27, 95%CI 1.01-1.59, p=0.042) and dominant (OR=1.35, 95%CI 1.01-1.82, p=0.043) models of the interaction of alleles.

Conclusion: Allele C rs34845949 *SASH1* is a risk factor for the development of preeclampsia in pregnant women in the Central Black Earth Region of Russia.

Keywords: pregnancy; preeclampsia; genetic polymorphism; *SASH1*

For citation: Reshetnikov EA. rs34845949 polymorphism of the SASH1 gene is associated with the risk of preeclampsia. *Research Results in Biomedicine*. 2021;7(1):44-55. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-4

Введение. Преэклампсия (ПЭ) – мультисистемное патологическое состояние, возникающее во второй половине беременности (после 20-й недели), характеризующееся артериальной гипертензией в сочетании с протеинурией ($\geq 0,3$ г/л в суточной моче), нередко, отеками и проявлениями полиорганной/полисистемной дисфункции/недостаточности [1]. Как свидетельствуют литературные данные, частота встречаемости преэклампсии во всем мире составляет 2-8 % [2]. ПЭ является одной из

основных причин материнской смертности и перинатальных смертей [2, 3]. Тяжелая преэклампсия и эклампсия значительно увеличивают риск развития отслойки плаценты, ДВС-синдрома, отека легких, острой почечной и печеночной недостаточности, кровоизлияний и отеков головного мозга и др. [2]. Дети, родившиеся после преэкламптических беременностей, имеют низкий вес и высокий риск развития ряда неинфекционных хронических заболеваний [2, 4, 5].

Многочисленные исследования указывают на мультифакториальность преэклампсии, что предполагает оценку генетического компонента в её формировании. Поиск генов-кандидатов основан на их возможной роли в патогенезе преэклампсии [6, 7, 8]. Так как в формировании преэклампсии важную роль отводят развитию окислительного стресса и воспалительного процесса, приводящих к эндотелиальной дисфункции, многие исследования направлены на поиск генов-кандидатов, участвующих в этих процессах: гены эндотелиальной дисфункции [9, 10, 11], гены вазоактивных факторов [12], гены иммунных и воспалительных реакций [13], гены окислительного стресса [14, 15], гены липидного обмена [16], гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [17-20], гены наследственных тромбофилий [17, 21-24].

Цель исследования. Оценить связи полиморфизма дифференциально экспрессирующихся генов плаценты с риском формирования преэклампсии.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследования была сформирована выборка из 366 беременных с преэклампсией и 631 женщины контрольной группы. В исследованные выборки вошли женщины русской национальности, родившиеся в Белгородской области, не имевшие родственных связей, и проживающие в Центральном-Черноземном регионе России [25]. Информированное согласие было получено от каждого участника до включения в исследование. Клиническое и лабораторное обследование женщин проводилось в перинатальном центре Белгородской областной клинической больницы. Критериями включения в исследуемую выборку были: (а) русская национальность, (б) срок беременности 37-40 недель. Беременные с диагнозом сахарный диабет, печеночная или почечная недостаточность были исключены из исследования. Изучаемые параметры включали: возраст, вес, индекс массы тела, рост. Средний возраст беременных с ПЭ был выше на 0,75 лет в сравнении с женщинами группы контроля (27,32±5,17 лет и 26,57±4,94 лет, соответственно, $p<0,05$). Также в данной группе

значения ИМТ были выше, чем в контроле (25,65±5,71 кг/м² и 23,40±3,47 кг/м², соответственно, $p<0,05$).

Уровень артериального давления (АД, мм. рт. ст.) измерялся трехкратно в положении пациента сидя на обеих руках с интервалом не менее минуты, среднее из двух последних измерений принималось за конечное значение АД. Данные об уровне АД до беременности были получены из амбулаторной карты каждого участника исследования. Преэклампсия определялась как наличие артериальной гипертензии (систолическое АД ≥ 140 мм. рт. ст. и/или диастолическое АД ≥ 90 мм. рт. ст.), протеинурии ($\geq 0,3$ г/л в суточной моче) и отеков.

Забор крови для выделения геномной ДНК (5 мл) осуществлялся из локтевой вены в пластиковую пробирку (Vacutainer®) с 0,5 М раствором ЭДТА. Геномная ДНК была выделена из лейкоцитов с использованием метода фенол-хлороформной экстракции, концентрация и качество выделенной ДНК оценивались при помощи спектрофотометра Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, Inc.). Мультиплексное генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) дифференциально экспрессирующихся генов плаценты было осуществлено с помощью метода массспектрометрии MALDI-TOF. Для исследования было отобрано 7 SNPs четырех генов: папализин 2 (ассоциированный с беременностью плазменный протеин A2) (rs12083094 *PAPPA2*, rs10753141 *PAPPA2*), SAM-SH3-домен-содержащий белок 1 (rs34845949 *SASH1*), ретинолдегидрогеназа 13 (rs1654439 *RDH13*, rs1671215 *RDH13*), субъединица 12С протеинфосфатазы 1 (rs2532058 *PPP1R12C*, rs66707428 *PPP1R12C*). Данные SNPs были включены в исследование, так как имеют важное регуляторное значение и оказывают существенное влияние на экспрессию генов [26]. С использованием онлайн-ресурсов HaploReg (v4.1) (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) и Genotype-Tissue Expression (GTEx) GTExportal (<http://www.gtexportal.org/>) были изучены регуляторный потенциал исследуемых

SNPs и их влияние на экспрессию генов. Оценку связей изученных SNPs с уровнем транскрипции генов проводили с помощью методики, описанной в работах [27, 28]. Для оценки ассоциаций SNPs с риском формирования преэклампсии использовали лог-линейный регрессионный анализ в рамках трех генетических моделей (аддитивная, рецессивная, доминантная). Анализ проводили с учетом коррекции на кофакторы: возраст, индекс массы тела, возраст наступления менархе, количество искусственных абортов, количество мертворождений, количество выкидышей, артериальная гипертензия в анамнезе, преэклампсия в анамнезе, курение.

Результаты и их обсуждение. Распределение частот исследованных SNPs у беременных с преэклампсией и в контрольной группе представлены в таблице 1. Установлено, что наблюдаемое распределение частот аллелей и генотипов находилось в соответствии с равновесием Харди Вайнберга ($p > 0,05$). Ассоциации SNPs дифференциально экспрессирующихся генов плаценты с формированием преэклампсии отражены в таблице 2. Выявлено, что полиморфный локус rs34845949 *SASH1* ассоциирован с формированием преэклампсии в рамках аддитивной (ОШ=1,27, 95%ДИ 1,01-1,59, $p=0,042$) и доминантной (ОШ=1,35, 95%ДИ 1,01-1,82, $p=0,043$) моделей взаимодействия аллелей. С помощью алгоритма «Confidence intervals» с уровнем коэффициента сцепления $D' > 0,8$ определены гапоблоки по исследованным SNPs. Выявлены гапоблок H1, включающий rs1671215 и rs1654439 гена *RDH13* (19 хромосома), и гапоблок H2, включающий rs2532058 и rs66707428 гена *PPP1R12C* (19 хромосома). Анализ связей гаплотипов в выявленных гапоблоках с формированием ПЭ показал отсутствие ассоциаций с развитием данного осложнения беременности (табл. 3).

На следующем этапе работы с использованием онлайн-ресурсов HaploReg (v4.1) и GTEportal были оценены регуляторные эффекты и влияние на экспрессию генов локуса rs34845949 *SASH1*, связанно-

го с риском формирования преэклампсии. Установлено, что rs34845949 *SASH1* расположен в сайте модифицированных гистонов в областях энхансеров в 6 тканях, в ДНКза-гиперчувствительном сайте в 7 тканях, сайте связывания с регуляторным белком USF1, в TF-связывающем домене для двух TFs: Foxl1_1, Pou2f2_known11. Различия между LOD scores аллелей С и Т для Foxl1_1 – 1,0, для Pou2f2_known11 – -1,6. Следовательно, аллель С rs34845949 *SASH1* обуславливает повышение аффинности к Foxl1_1, а аллель Т rs34845949 *SASH1* – повышение аффинности к Pou2f2_known11. Также с данным полиморфным маркером находится в неравновесии по сцеплению rs35774187 *SASH1* ($r^2=0,99$), локализованный в сайте модифицированных гистонов в областях энхансеров в 7 тканях, в ДНКза-гиперчувствительном сайте в 11 тканях, сайте связывания с регуляторным белком STAT3.

В нашей работе обнаружены ассоциации полиморфизма rs34845949 *SASH1* с формированием ПЭ, выявлено важное регуляторное значение данного SNP. Ген *SASH1* кодирует SAM-SH3-домен-содержащий белок 1, участвующий в сигнальном пути толл-подобных рецепторов (TLR4), которые могут стимулировать продукцию цитокинов и миграцию эндотелиальных клеток в ответ на вторжение патогенов. Данный белок также был описан как потенциальный супрессор опухоли, который может регулировать пролиферацию, апоптоз и инвазию раковых клеток [29]. Результаты исследований показывают, что ген *SASH1* может также ингибировать пролиферацию, миграцию и инвазию клеток трофобласта и способствовать их апоптозу [30, 31]. Следовательно, повышенная экспрессия *SASH1* во время развития плаценты может приводить к нарушению процессов инвазии трофобластных клеток и ремоделирования спиральных артерий, что лежит в основе этиопатогенеза преэклампсии. Эти предположения согласуются с результатами исследований, в которых была выявлена более высокая экспрессия *SASH1* в плаценте у женщин с преэклампсией в сравнении с контрольной группой [32, 33, 34].

Таблица 1

Распределение частот SNPs дифференциально экспрессирующихся генов плаценты у беременных с преэклампсией и в контрольной группе

Table 1

Frequency distribution of SNPs of differentially expressed placental genes in pregnant women with preeclampsia and in the control group

SNP	Ген	Хромосома	Группа	Минорный аллель (a ₁)	Частый аллель (a ₂)	Генотипы (a ₁ a ₁ /a ₁ a ₂ /a ₂ a ₂)	H _o	H _e	P _{HWE}
rs12083094	PAPPA2	1	Беременные с преэклампсией	T	G	33/164/169	0,45	0,43	0,54
			Контроль	T	G	53/276/300	0,44	0,42	0,40
rs10753141	PAPPA2	1	Беременные с преэклампсией	T	C	104/166/96	0,45	0,50	0,08
			Контроль	T	C	150/319/159	0,51	0,50	0,75
rs34845949	SASH1	6	Беременные с преэклампсией	C	T	31/179/156	0,49	0,44	0,07
			Контроль	C	T	49/265/315	0,42	0,41	0,56
rs1671215	RDH13	19	Беременные с преэклампсией	G	T	23/142/201	0,39	0,38	0,89
			Контроль	G	T	53/246/331	0,39	0,40	0,43
rs1654439	RDH13	19	Беременные с преэклампсией	A	C	4/68/293	0,19	0,19	1,00
			Контроль	A	C	14/135/480	0,21	0,23	0,22
rs2532058	PPP1R12C	19	Беременные с преэклампсией	A	C	44/162/160	0,44	0,45	0,82
			Контроль	A	C	84/307/238	0,49	0,47	0,35
rs66707428	PPP1R12C	19	Беременные с преэклампсией	G	A	5/69/291	0,19	0,19	0,59
			Контроль	G	A	11/135/485	0,21	0,22	0,59

Примечание: H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность; P_{HWE} – уровень значимости для равновесия Харди–Вайнберга.

Note: H_e – expected heterozygosity; H_o – observed heterozygosity; P_{HWE} – P-values for deviation from Hardy–Weinberg equilibrium.

Таблица 2

Ассоциации SNPs дифференциально экспрессирующихся генов плаценты с формированием преэклампсии

Table 2

Association of SNPs of differentially expressed genes of the placenta with the development of preeclampsia

Полиморфизм	Ген	Хр	N	Аддитивная модель				Доминантная модель				Рецессивная модель			
				ОШ	95% ДИ		P	ОШ	95% ДИ		P	ОШ	95% ДИ		P
					H95	B95			H95	B95			H95	B95	
rs12083094	<i>PAPPA2</i>	1	995	1,08	0,86	1,36	0,485	1,09	0,81	1,46	0,580	1,17	0,71	1,94	0,544
rs10753141	<i>PAPPA2</i>	1	994	0,99	0,81	1,22	0,936	0,83	0,60	1,16	0,286	1,17	0,84	1,64	0,347
rs34845949	<i>SASH1</i>	6	995	1,27	1,01	1,59	0,042	1,35	1,01	1,82	0,043	1,31	0,78	2,20	0,306
rs1671215	<i>RDH13</i>	19	996	0,88	0,69	1,11	0,274	0,90	0,67	1,20	0,457	0,70	0,39	1,25	0,225
rs1654439	<i>RDH13</i>	19	994	0,75	0,54	1,03	0,079	0,73	0,51	1,04	0,084	0,62	0,19	2,07	0,437
rs2532058	<i>PPP1R12C</i>	19	995	0,89	0,72	1,10	0,285	0,85	0,63	1,15	0,290	0,87	0,56	1,36	0,540
rs66707428	<i>PPP1R12C</i>	19	996	0,88	0,64	1,21	0,439	0,89	0,63	1,27	0,538	0,59	0,17	2,09	0,417

Примечание: Хр – хромосома; ОШ – отношение шансов; 95%ДИ – 95% доверительный интервал; H95 – нижняя граница 95% доверительного интервала; B95 – верхняя граница 95% доверительного интервала; P – уровень значимости; результаты получены с учетом коррекции на ковариаты; ; жирным шрифтом отмечены статистически значимые результаты с учетом адаптивного пермутационного теста (1000 пермутаций).

Note: Хр – chromosome; ОШ – odds ratio; 95% ДИ – 95% confidence interval; H95 – lower limit of the 95% confidence interval; B95 – upper limit of the 95% confidence interval; P – level of significance; bold type indicates statistically significant results taking into account the adaptive permutation test (1000 permutations).

Таблица 3

Распределение частот гаплотипов дифференциально экспрессирующихся генов плаценты среди женщин с преэклампсией и в контрольной группе

Table 3

Distribution of haplotype frequencies of differentially expressed placental genes in women with preeclampsia and in the control group

Гаплоглоб (ген)	SNP	Гаплотип	Частота гаплотипов		ОШ	P
			Беременные с преэклампсией (n=366)	Контроль (n=631)		
H1 (RDH13)	rs1671215- rs1654439	CT	0,104	0,130	0,75	0,079
		CG	0,151	0,150	1,02	0,910
		AG	0,745	0,720	1,16	0,220
H2 (PPP1R12C)	rs2532058- rs66707428	CG	0,106	0,123	0,86	0,378
		AA	0,341	0,376	0,89	0,278
		CA	0,553	0,501	1,18	0,119

Примечание: результаты получены методом логистической регрессии с учетом коррекции на кофакторы; ОШ – отношение шансов; P – уровень значимости с учетом проведенного пермутационного теста (выполнено 1000 пермутаций).

Note: all results were obtained after adjustment for covariates; OШ – odds ratio; P – significance level taking into account the performed permutation test (1000 permutations were performed).

Исследования по поиску ассоциаций rs34845949 *SASH1* с риском развития преэклампсии были проведены только в работе Серебровой и др. (2016) [35], в которой на популяции из трех этнических групп (русские, якуты и буряты) была выявлена повышенная частота встречаемости генотипа CC rs34845949 *SASH1* у якутов в группе беременных с ПЭ по сравнению контрольной группой.

Заключение. Аллель С rs34845949 *SASH1* является фактором риска развития преэклампсии (OR=1,27-1,35) у беременных Центрально-Черноземного региона России. Ассоциации данного SNP с формированием преэклампсии обусловлены его важным регуляторным значением: rs34845949 *SASH1* расположен в сайте модифицированных гистонов в областях энхансеров, в ДНК-гиперчувствительном сайте, сайте связывания с регуляторным белком, в домене связывания с факторами транскрипции.

Информация о финансировании

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих

научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

Financial support

The study was supported by the grant of the Russian Federation President (NS-2609.2020.7).

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Eiland E, Nzerue C, Faulkner M. Preeclampsia 2012. Journal of pregnancy. 2012;2012:586578. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/586578>
2. Abalos E, Cuesta C, Carroli G, et al. Pre-eclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. British Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2014;121(1):14-24. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12629>
3. Vogel JP, Souza JP, Mori R, et al. Maternal complications and perinatal mortality: findings of the World Health Organization Multicoun-

try Survey on Maternal and Newborn Health. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2014;121(1):76-88. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12633>

4. Bilano VL, Ota E, Ganchimeg T, et al. Risk factors of pre-eclampsia/eclampsia and its adverse outcomes in low- and middle-income countries: a WHO secondary analysis. *PLoS ONE*. 2014;9(3):e91198. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091198>

5. Caillon H, Tardif C, Dumontet E, et al. Evaluation of sFlt-1/PlGF Ratio for Predicting and Improving Clinical Management of Pre-eclampsia: Experience in a Specialized Perinatal Care Center. *Annals of Laboratory Medicine*. 2018;38:95-101. DOI: <https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.2.95>

6. Jebbink J, Wolters A, Fernando F, et al. Molecular genetics of preeclampsia and HELLP syndrome – a review. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2012;1822(12):1960-1969. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.08.004>

7. Williams PJ, Pipkin FB. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Practice and Research in Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2011;25(4):405-417. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2011.02.007>

8. Головченко ОВ. Молекулярно-генетические детерминанты преэклампсии. Научные результаты биомедицинских исследований. 2019;5(4):139-149. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-11>

9. Alpoim PN, Gomes KB, de Barros Pinheiro M, et al. Polymorphisms in endothelial nitric oxide synthase gene in early and late severe preeclampsia. *Nitric Oxide*. 2014;15(42):19-23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.07.006>

10. Chen Y, Wang D, Zhou M, et al. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in preeclampsia in a Han Chinese population. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 2014;77(3):150-155. DOI: <https://doi.org/10.1159/000358831>

11. Reshetnikov E, Ponomarenko I, Golovchenko O, et al. The VNTR polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and blood pressure in women at the end of pregnancy. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2019;58(3):390-395. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.11.035>

12. Bogacz A, Bartkowiak-Wieczorek J, Procyk D, et al. Analysis of the gene polymorphism of aldosterone synthase (CYP11B2) and atrial natriuretic peptide (ANP) in women with preeclampsia. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*. 2016;197:11-15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.11.012>

13. Wu W, Yang H, Feng Y, et al. Polymorphisms in complement genes and risk of preeclampsia in Taiyuan, China. *Inflammation Research*. 2016;65(10):837-845. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00011-016-0968-4>

14. Mistry HD, Gill CA, Kurlak LO, et al. Association between maternal micronutrient status, oxidative stress, and common genetic variants in antioxidant enzymes at 15 weeks' gestation in nulliparous women who subsequently develop preeclampsia. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015;78:147-155. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.580>

15. Gao H, Liu C, Lin P, et al. Effects of GSTP1 and GPX1 Polymorphisms on the Risk of Preeclampsia in Chinese Han Women. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2016;39(5):2025-2032. DOI: <https://doi.org/10.1159/000447898>

16. Machado JSR, Palei ACT, Amaral LM, et al. Polymorphisms of the adiponectin gene in gestational hypertension and pre-eclampsia. *Journal of Human Hypertension*. 2014;28(2):128-32. DOI: <https://doi.org/10.1038/jhh.2013.53>

17. Zhang G, Zhao J, Yi J, et al. Association Between Gene Polymorphisms on Chromosome 1 and Susceptibility to Pre-Eclampsia: An Updated Meta-Analysis. *Medical Science Monitor*. 2016;22:2202-2214. DOI: <https://doi.org/10.12659/MSM.896552>

18. Zitouni H, Ben Ali Gannoum M, Raguema N, et al. Contribution of angiotensinogen M235T and T174M gene variants and haplotypes to preeclampsia and its severity in (North African) Tunisians. *JRAAS - Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2018;19(1):1470320317753924. DOI: <https://doi.org/10.1177/1470320317753924>

19. Reshetnikov EA, Akulova LY, Dobrodomova IS, et al. The insertion-deletion polymorphism of the ACE gene is associated with increased blood pressure in women at the end of pregnancy. *JRAAS - Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2015;16(3):623-32. DOI: <https://doi.org/10.1177/1470320313501217>

20. Salimi S, Mokhtari M, Yaghmaei M, et al. Association of Angiotensin-Converting Enzyme Intron 16 Insertion/Deletion and Angiotensin II Type 1 Receptor A1166C Gene Polymorphisms with Preeclampsia in South East of Iran. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011;2011:941515. DOI: <https://doi.org/10.1155/2011/941515>
21. Zhou L, Cheng L, He Y, et al. Association of gene polymorphisms of FV, FII, MTHFR, SERPINE1, CTLA4, IL10, and TNFalpha with pre-eclampsia in Chinese women. *Inflammation Research*. 2016;65(9):717-724. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00011-016-0953-y>
22. Wu X, Yang K, Tang X, et al. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2015;32(5):797-805. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0408-8>
23. Гнатко ЕП, Турос ЕИ, Брезицкая НВ, и др. Молекулярно-генетическое исследование полиморфизма генов фолатного обмена и гемостаза при преэклампсии. *Охрана материнства и детства*. 2014;2(24):52-55.
24. Bozikova A, Gabrikova D, Pitonak J, et al. Ethnic differences in the association of thrombophilic polymorphisms with obstetric complications in Slovak and Roma (Gypsy) populations. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2015;19(2):98-102. DOI: <https://doi.org/10.1089/gtmb.2014.0232>
25. Чурносков МИ, Сорокина ИН, Балановская Е.В. Генофонд населения Белгородской области. Динамика индекса эндогамии в районных популяциях. *Генетика*. 2008;44(8):1117-1125.
26. Ponomarenko I, Reshetnikov E, Altuchova O, et al. Association of genetic polymorphisms with age at menarche in Russian women. *Gene*. 2019;686:228-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.042>
27. Пономаренко ИВ, Полоников АВ, Чурносков МИ. Полиморфные локусы гена *LHCGR*, ассоциированные с развитием миомы матки. *Акушерство и гинекология*. 2018;10:86-91. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.10.86-91>
28. Пономаренко ИВ, Решетников ЕА, Полоников АВ, и др. Полиморфный локус rs314276 гена *LIN28B* ассоциирован с возрастом менархе у женщин Центрального Черноземья России. *Акушерство и гинекология*. 2019;2:98-104. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.2.98-104>
29. Dauphinee SM, Clayton A, Hussainkhel A, et al. SASH1 is a scaffold molecule in endothelial TLR4 signaling. *The Journal of Immunology*. 2013;191(2):892-901. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1200583>
30. Burgess JT, Bolderson E, Adams MN, et al. Activation and cleavage of SASH1 by caspase-3 mediates an apoptotic response. *Cell Death and Disease*. 2016;7(11):e2469. DOI: <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.364>
31. Liu S, Jiang S, Huang L, et al. Expression of SASH1 in Preeclampsia and Its Effects on Human Trophoblast. *BioMed Research International*. 2020;19;2020:5058260. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/5058260>
32. Kleinrouweler CE, van Uiter M, Moerland PD, et al. Differentially expressed genes in the pre-eclamptic placenta: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2013;8(7):e68991. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068991>
33. Vaiman D, Calicchio R, Miralles F. Landscape of transcriptional deregulations in the preeclamptic placenta. *PLoS ONE*. 2013;8(6):e65498. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065498>
34. Kaartokallio T, Cervera A, Kyllönen A, et al. Corrigendum: Gene expression profiling of pre-eclamptic placentae by RNA sequencing. *Scientific Reports*. 2016;6:17245. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep17245>
35. Сереброва НА, Трифонова АА, Габидуллина ТВ, и др. Выявление новых маркеров предрасположенности к преэклампсии путем анализа регуляторных участков генов, дифференциально экспрессирующихся в плацентарной ткани. *Молекулярная биология*. 2016;50(5):870-879.

References

1. Eiland E, Nzerue C, Faulkner M. Preeclampsia 2012. *Journal of pregnancy*. 2012;2012:586578. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/586578>
2. Abalos E, Cuesta C, Carroli G, et al. Pre-eclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2014;121(1):14-24. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12629>

3. Vogel JP, Souza JP, Mori R, et al. Maternal complications and perinatal mortality: findings of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2014;121(1):76-88. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12633>
4. Bilano VL, Ota E, Ganchimeg T, et al. Risk factors of pre-eclampsia/eclampsia and its adverse outcomes in low- and middle-income countries: a WHO secondary analysis. *PLoS ONE*. 2014;9(3):e91198. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091198>
5. Caillon H, Tardif C, Dumontet E, et al. Evaluation of sFlt-1/PlGF Ratio for Predicting and Improving Clinical Management of Pre-eclampsia: Experience in a Specialized Perinatal Care Center. *Annals of Laboratory Medicine*. 2018;38:95-101. DOI: <https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.2.95>
6. Jebbink J, Wolters A, Fernando F, et al. Molecular genetics of preeclampsia and HELLP syndrome – a review. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2012;1822(12):1960-1969. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.08.004>
7. Williams PJ, Pipkin FB. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Practice and Research in Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2011;25(4):405-417. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2011.02.007>
8. Golovchenko OV. Molecular genetic determinants of pre-eclampsia. *Research Results in Biomedicine*. 2019;5(4):139-149. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-11>
9. Alpoim PN, Gomes KB, de Barros Pinheiro M, et al. Polymorphisms in endothelial nitric oxide synthase gene in early and late severe preeclampsia. *Nitric Oxide*. 2014;15(42):19-23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.07.006>
10. Chen Y, Wang D, Zhou M, et al. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in preeclampsia in a Han Chinese population. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 2014;77(3):150-155. DOI: <https://doi.org/10.1159/000358831>
11. Reshetnikov E, Ponomarenko I, Golovchenko O, et al. The VNTR polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and blood pressure in women at the end of pregnancy. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2019;58(3):390-395. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.11.035>
12. Bogacz A, Bartkowiak-Wieczorek J, Procyk D, et al. Analysis of the gene polymorphism of aldosterone synthase (CYP11B2) and atrial natriuretic peptide (ANP) in women with preeclampsia. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*. 2016;197:11-15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.11.012>
13. Wu W, Yang H, Feng Y, et al. Polymorphisms in complement genes and risk of preeclampsia in Taiyuan, China. *Inflammation Research*. 2016;65(10):837-845. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00011-016-0968-4>
14. Mistry HD, Gill CA, Kurlak LO, et al. Association between maternal micronutrient status, oxidative stress, and common genetic variants in antioxidant enzymes at 15 weeks' gestation in nulliparous women who subsequently develop preeclampsia. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015;78:147-155. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.580>
15. Gao H, Liu C, Lin P, et al. Effects of GSTP1 and GPX1 Polymorphisms on the Risk of Preeclampsia in Chinese Han Women. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2016;39(5):2025-2032. DOI: <https://doi.org/10.1159/000447898>
16. Machado JSR, Palei ACT, Amaral LM, et al. Polymorphisms of the adiponectin gene in gestational hypertension and pre-eclampsia. *Journal of Human Hypertension*. 2014;28(2):128-32. DOI: <https://doi.org/10.1038/jhh.2013.53>
17. Zhang G, Zhao J, Yi J, et al. Association Between Gene Polymorphisms on Chromosome 1 and Susceptibility to Pre-Eclampsia: An Updated Meta-Analysis. *Medical Science Monitor*. 2016;22:2202-2214. DOI: <https://doi.org/10.12659/MSM.896552>
18. Zitouni H, Ben Ali Gannoum M, Raguema N, et al. Contribution of angiotensinogen M235T and T174M gene variants and haplotypes to preeclampsia and its severity in (North African) Tunisians. *JRAAS - Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2018;19(1):1470320317753924. DOI: <https://doi.org/10.1177/1470320317753924>
19. Reshetnikov EA, Akulova LY, Dobrodromova IS, et al. The insertion-deletion polymorphism of the ACE gene is associated with increased blood pressure in women at the end of pregnancy. *JRAAS - Journal of the Renin-*

- Angiotensin-Aldosterone System. 2015;16(3):623-32. DOI: <https://doi.org/10.1177/1470320313501217>
20. Salimi S, Mokhtari M, Yaghmaei M, et al. Association of Angiotensin-Converting Enzyme Intron 16 Insertion/Deletion and Angiotensin II Type 1 Receptor A1166C Gene Polymorphisms with Preeclampsia in South East of Iran. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011;2011:941515. DOI: <https://doi.org/10.1155/2011/941515>
21. Zhou L, Cheng L, He Y, et al. Association of gene polymorphisms of FV, FII, MTHFR, SERPINE1, CTLA4, IL10, and TNFalpha with pre-eclampsia in Chinese women. *Inflammation Research*. 2016;65(9):717-724. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00011-016-0953-y>
22. Wu X, Yang K, Tang X, et al. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2015;32(5):797-805. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0408-8>
23. Gnatko EP, Tuross EI, Brezickaya NV, et al. Molecular genetic study of gene polymorphism for folate metabolism and hemostasis in preeclampsia. *Ohrana materinstva i detstva*. 2014;2(24):52-55. Russian.
24. Bozikova A, Gabrikova D, Pitonak J, et al. Ethnic differences in the association of thrombophilic polymorphisms with obstetric complications in Slovak and Roma (Gypsy) populations. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2015;19(2):98-102. DOI: <https://doi.org/10.1089/gtmb.2014.0232>
25. Churnosov MI, Sorokina IN, Balanovskaya E.V. Gene pool of the population of the Belgorod region. Dynamics of the endogamous index in regional populations. *Genetika*. 2008;44(8):1117-1125. Russian.
26. Ponomarenko I, Reshetnikov E, Altuchova O, et al. Association of genetic polymorphisms with age at menarche in Russian women. *Gene*. 2019;686:228-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.042>
27. Ponomarenko IV, Polonikov AV, Churnosov MI. Polymorphic loci of the LHK GR gene associated with the development of uterine leiomyoma. *Obstetrics and Gynecology*. 2018;10:86-91. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.10.86-91>
28. Ponomarenko IV, Reshetnikov EA, Polonikov AV, et al. The polymorphic locus rs314276 of the LIN28B gene is associated with the age of menarche in women of the Central Black Earth Region of Russia. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;2:98-104. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.2.98-104>
29. Dauphinee SM, Clayton A, Hussainkhel A, et al. SASH1 is a scaffold molecule in endothelial TLR4 signaling. *The Journal of Immunology*. 2013;191(2):892-901. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1200583>
30. Burgess JT, Bolderson E, Adams MN, et al. Activation and cleavage of SASH1 by caspase-3 mediates an apoptotic response. *Cell Death and Disease*. 2016;7(11):e2469. DOI: <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.364>
31. Liu S, Jiang S, Huang L, et al. Expression of SASH1 in Preeclampsia and Its Effects on Human Trophoblast. *BioMed Research International*. 2020;19;2020:5058260. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/5058260>
32. Kleinrouweler CE, van Uitert M, Moerland PD, et al. Differentially expressed genes in the pre-eclamptic placenta: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2013;8(7):e68991. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068991>
33. Vaiman D, Calicchio R, Miralles F. Landscape of transcriptional deregulations in the preeclamptic placenta. *PLoS ONE*. 2013;8(6):e65498. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065498>
34. Kaartokallio T, Cervera A, Kyllönen A, et al. Corrigendum: Gene expression profiling of pre-eclamptic placentae by RNA sequencing. *Scientific Reports*. 2016;6:17245. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep17245>
35. Serebrova NA, Trifonova AA, Gabidullina TV, et al. Detection of novel genetic markers of susceptibility to preeclampsia based on the analysis of regulatory sites in differentially expressed genes in the placental tissue. *Molecular Biology*. 2016;50(5):870-879.

Статья поступила в редакцию 15 сентября 2020 г.

Поступила после доработки 18 ноября 2020 г.

Принята к печати 13 декабря 2020 г.

Received 15 September 2020

Revised 18 November 2020

Accepted 13 December 2020

Информация об авторе

Евгений Александрович Решетников, кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических дисциплин, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: reshetnikov@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0002-5429-6666.

Information about the author

Evgeny A. Reshetnikov, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor at the Department of Medical Biological Disciplines, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: reshetnikov@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0002-5429-6666.



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-5

УДК 618.3:616.12-008.331.1:575.174.015.3

Особенности генного контроля уровня артериального давления у пациенток с гипертензивными расстройствами при беременности

И.Н. Фетисова^{1,2} , А.И. Малышкина^{1,2} , И.А. Панова¹ ,
Е.А. Рокотянская¹ , Н.С. Фетисов¹ , С.Ю. Ратникова¹ 

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова», ул. Победы, д. 20, г. Иваново, 153045, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия», Шереметевский просп., д. 8, г. Иваново, 153012, Российская Федерация

Автор для переписки: И.Н. Фетисова (ivgenlab@gmail.com)

Резюме

Актуальность: Хроническая артериальная гипертензия и преэклампсия являются мультифакториальной патологией, в развитии которой участвуют многие группы генов в сочетании с негативным средовым влиянием. **Цель исследования:** Изучить молекулярно-генетические маркеры повышенного риска развития преэклампсии при беременности у пациенток с хронической артериальной гипертензией, позволяющие своевременно сформировать группу риска для профилактики возможных осложнений. Определение неблагоприятных генных полиморфизмов у пациенток с резистентностью к однокомпонентной антигипертензивной терапии обеспечит индивидуальный подход к выбору лечебной тактики. **Материалы и методы:** Проведено исследование полиморфизма генов, контролирующих тонус сосудистой стенки, методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени у 49 пациенток, беременность которых протекала на фоне хронической артериальной гипертензии, и 42 женщин с хронической артериальной гипертензией и присоединившейся преэклампсией. **Результаты:** Показано, что у пациенток с хронической артериальной гипертензией и присоединившейся преэклампсией в генотипе достоверно чаще, чем у женщин с хронической артериальной гипертензией без присоединения преэклампсии присутствуют варианты *AGT* 704C, *CYP11B2* C(-344)T, *GNB3* 825T/T как по отдельности, так и в совокупности. **Заключение:** Наличие в генотипе беременной указанных негативных полиморфизмов сочетается с резистентностью к однокомпонентной антигипертензивной терапии, что требует назначения комбинированной схемы лечения у данной категории пациенток для достижения целевого уровня артериального давления.

Ключевые слова: полиморфизм; ген; аллель; беременность; артериальная гипертензия; преэклампсия; антигипертензивная терапия

Для цитирования: Фетисова ИН, Малышкина АИ, Панова ИА, и др. Особенности генного контроля уровня артериального давления у пациенток с гипертензивными расстройствами при беременности. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(1):56-66. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-5

Features of gene control of blood pressure in patients with hypertensive disorders during pregnancy

Irina N. Fetisova^{1,2} , Anna I. Malyshkina^{1,2} , Irina A. Panova¹ ,
Elena A. Rokotyanskaya¹ , Nikolay S. Fetisov¹ , Svetlana Y. Ratnikova¹ 

¹ Gorodkov Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood,
20 Pobedy St., Ivanovo, 153045, Russia

² Ivanovo State Medical Academy,

8 Sheremetevsky Ave., Ivanovo, 153012, Russia

Corresponding author: Irina N. Fetisova (ivgenlab@gmail.com)

Abstract

Background: Chronic arterial hypertension and preeclampsia are multifactorial pathologies, in the development of which many groups of genes are involved in combination with negative environmental influence. **The aim of the study:** To study molecular genetic markers of an increased risk of developing hypertensive disorders during pregnancy will make it possible to timely form a risk group for early prevention of possible complications. **Materials and methods:** A study of the polymorphism of genes controlling vascular wall tone was performed using real-time polymerase chain reaction in 49 patients, who were pregnant against the background of chronic arterial hypertension, and 42 women with chronic arterial hypertension and preeclampsia. **Results:** *AGT* 704C, *CYP11B2* C(-344)T, *GNB3* 825T/T variants were shown in patients with chronic arterial hypertension and joined preeclampsia in the genotype significantly more often than in women with chronic arterial hypertension. **Conclusion:** The presence of these negative polymorphisms in the genotype of a pregnant woman is combined with resistance to a single-component antihypertensive therapy, which requires the appointment of a combined treatment regimen for this category of patients to achieve the target blood pressure level.

Keywords: polymorphism; gene; allele; pregnancy; arterial hypertensive; preeclampsia; antihypertensive therapy

For citation: Fetisova IN, Malyshkina AI, Panova IA, et al. Features of gene control of blood pressure in patients with hypertensive disorders during pregnancy. Research Results in Biomedicine. 2021;7(1):56-66. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-5

Введение. Контроль артериального давления в организме человека осуществляется совокупным действием генов многих систем (ренин-ангиотензин-альдостероновой, катехоламиновой и др.) [1-7]. Характерное для каждого генотипа уникальное сочетание определенных аллельных вариантов по данным генам определяет наследственную составляющую в сложном механизме регуляции уровня артериального давления. Подобный тип наследования определяется как полигенный, при котором степень выраженности признака, а именно уровень артериального давления, зависит от суммарного эффекта действия разных аллельных вариантов (полиморфизмов) [8]. Под аллельным полиморфизмом подразумевают некоторые особенности в строении молекулы ДНК, как правило, единичные нуклеотидные замены (single nucleotide polymorphism, SNP), которые не приводят к грубым изменениям белковой молекулы, но, тем не менее, могут определять изменение физико-химических свойств и функциональной активности белковой молекулы, что имеет негативный фенотипический эффект [9]. На сегодняшний день установлено, что при полигенном характере наследования предрасположенности к заболеванию вероятность его развития определяется не только качеством определенных полиморфизмов, но и их количеством в генотипе пациента. Степень риска возникновения мультифакториального заболевания определяется аддитивным действием неблагоприятных аллельных вариантов и условиями среды, в которых реализуется данный генотип [8, 9].

Хроническая артериальная гипертензия (ХАГ) и преэклампсия (ПЭ) являются патологией с наследственной предрасположенностью, развитие которой определяется сочетанным действием неблагоприятного генетического фона у женщины и негативным влиянием факторов внешней среды [2, 3, 9]. Можно предположить, что при определенном сочетании полиморфных вариантов генов в генотипе у индивидуума снижаются адаптивные возможно-

сти организма, который становится более уязвимым для действия агрессивных факторов внешней среды. В настоящее время ведется поиск генетических предикторов неэффективности антигипертензивной терапии у пациенток с ХАГ: в ряде работ отмечена высокая частота мутантных аллелей гена рецептора ангиотензина 1-го типа и гена ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) у беременных с ХАГ, не достигших целевых уровней артериального давления (АД) [10]. Изучение особенностей генотипа женщины с ХАГ, а также в зависимости от достижения целевого уровня АД сделает возможным формирование группы риска присоединения ПЭ и обеспечит индивидуальный подход к назначению антигипертензивной терапии, что позволит своевременно скоординировать тактику лечебно-профилактических мероприятий в каждом конкретном случае.

Цель исследования. На основании изучения полиморфизма генов, контролирующих тонус сосудистой стенки, у беременных с ХАГ определить молекулярно-генетические предикторы ПЭ и факторы, определяющие резистентность к однокомпонентной антигипертензивной терапии.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнялось на базе ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» МЗ РФ. Были обследованы 91 беременная женщина в сроке 20-36 недель. Согласно МКБ-Х и клиническими рекомендациям «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» от 2016 г. обследованные пациентки были подразделены на две группы: 1-ю группу составили 49 беременных с ХАГ (шифр по МКБ-Х – O10.0); 2-ю группу – 42 женщины с ХАГ и присоединившейся ПЭ (шифр по МКБ-Х – O11). Обе группы были разделены на 2 подгруппы в зависимости от достижения целевого уровня АД на фоне однокомпонентной или комбинированной антигипертензивной терапии. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени было

проведено тестирование генов, контролирующих тонус сосудистой стенки (*ADD1* G1378T (rs4961), *AGT* T704C (rs699), *AGT* C521T (rs4762), *AGTR1* A1166C (rs5186), *AGTR2* G1675A (rs1403543), *CYP11B2* C(-344)T (rs1799998), *GNB3* C825T (rs5443), *NOS3* T(-786)C (rs2070744), *NOS3* G894T (rs1799983)) с использованием набора «Кардиогенетика. Гипертония» («ДНК-технология», Россия). Все обследованные женщины были русскими по национальной принадлежности и проживали в Центральном регионе России (Ивановская, Костромская, Ярославская области). Статистический анализ проводили с помощью программы StatSoft STATISTICA 6.0. Для сравнения показателей использовали критерий χ^2 . Рассчитывали показатель отношения шансов (OR), приводя 95 % доверительный интервал (95 % CI).

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты исследования генных и генотипических частот в генах, контролирующих тонус сосудистой стенки, у женщин с гипертензивными расстройствами при беременности представлены в таблице.

Установлено, что у пациенток с ХАГ и присоединившейся ПЭ достоверно чаще, чем у женщин с ХАГ в генотипе присутствуют негативные полиморфизмы в генах ангиотензиногена *AGT* 704C, альдостеронсинтазы *CYP11B2*, гуанинсвязывающего белка в гомозиготном состоянии *GNB3* 825T/T как по отдельности, так и в сочетании.

Как известно, одной из важнейших систем, участвующих в регуляции уровня АД в организме, является ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС). Активация компонентов данной системы определяет подъем АД за счет увеличения объема циркулирующей крови и сосудосуживающего эффекта. Основными компонентами данной системы являются: ангиотензиноген, ренин, ангиотензин-превращающий фермент (АПФ), ангиотензин II и рецепторы двух типов для ангиотензина II. Ангиотензиноген под действием ренина и АПФ преобразуется в ангиотензин II, взаимодействие которого с рецепторами 1-ого типа приводит к сужению

сосудов и подъему АД [9, 11-13], взаимодействие ангиотензина II с рецепторами 2-ого типа, напротив, дает сосудорасширяющий эффект [14]. Все компоненты РААС находятся под генным контролем, следовательно, присутствие в генотипе соответствующих полиморфизмов влияет на работу данной системы.

Согласно полученным результатам у пациенток с ХАГ и присоединившейся ПЭ в генотипе достоверно чаще, чем у женщин с ХАГ присутствует полиморфный вариант 704C в гене ангиотензиногена (соответственно в 60,5 и 42,9 %, $p=0,03$, $OR=2,03$ (1,13-3,69)). Данный полиморфизм определяет повышенную экспрессию гена *AGT*, что способствует усиленной продукции ангиотензиногена и развитию гипертензивного эффекта. Наши результаты согласуются с данными литературы, согласно которым частота встречаемости аллеля *AGT* 704C в европейской популяции составляет 41,0% [15]. В литературе есть указания о повышенной частоте встречаемости негативных полиморфизмов в гене ангиотензиногена у лиц с ХАГ и ПЭ [2, 5, 6, 16-19]. Так, исследования, проведенные в Северо-Западном регионе Российской Федерации, позволили отнести данный вариант к факторам риска развития и ХАГ, и ПЭ [1]. Следует отметить, что в основе развития ХАГ и ПЭ лежат единые генные сети и сходные патогенетические механизмы, поэтому присутствие в генотипах пациенток обеих групп единых негативных полиморфизмов вполне объяснимо. Однако присоединение ПЭ на фоне ХАГ отражает некоторый сдвиг адаптивных механизмов в организме женщины, то есть более негативный фенотип, чем у женщин, беременность которых протекает на фоне ХАГ, но не осложняется развитием ПЭ. Можно предполагать, что за формированием такого тяжелого фенотипического проявления как ХАГ с присоединившейся ПЭ стоит накопление в генотипе пациентки большего количества негативных полиморфизмов в большем проценте случаев. То есть, большая отягощенность генотипа способствует более тяжелому клиническому проявлению патологии.

Таблица (начало)

Генные и генотипические частоты в генах, контролирующих тонус сосудистой стенки, у женщин с гипертензивными расстройствами при беременности

Beginning of Table

Gene and genotypic frequencies in genes that control tonus tension of the vessel wall in pregnant women with hypertensive disorders

Аллель/ генотип	Контроль			ХАГ			P ¹	ПЭ			P ²	ХАГ+ПЭ			P ³
	n	N	%	n	N	%		n	N	%		n	N	%	
ADD11378G	78	94	83,0	83	98	84,7	0,845	158	190	83,2	1	73	86	84,9	0,84
ADD11378T	16	94	17,0	15	98	15,3	0,845	32	190	16,8	1	13	86	15,1	0,84
ADD11378G/G	35	47	74,5	34	49	69,4	0,653	68	95	71,6	0,842	30	43	69,8	0,645
ADD11378G/T	8	47	17,0	15	49	30,6	0,153	22	95	23,2	0,514	13	43	30,2	0,212
ADD11378T/T	4	47	8,5	0	49	0,0	0,054	5	95	5,3	0,479	0	43	0,0	0,118
AGT704T	53	108	49,1	56	98	57,1	0,266	93	190	48,9	1	34	86	39,5	0,194
AGT704C	55	108	50,9	42	98	42,9	0,266	97	190	51,1	1	52	86	60,5	0,194
AGT704T/T	13	54	24,1	15	49	30,6	0,51	21	95	22,1	0,84	6	43	14,0	0,304
AGT704C/T	27	54	50,0	26	49	53,1	0,844	51	95	53,7	0,734	22	43	51,2	1
AGT704 C/C	14	54	25,9	8	49	16,3	0,336	23	95	24,2	0,845	15	43	34,9	0,378
AGT521C	96	110	87,3	88	98	89,8	0,666	169	190	88,9	0,71	74	86	86,0	0,834
AGT521T	14	110	12,7	10	98	10,2	0,666	21	190	11,1	0,71	12	86	14,0	0,834
AGT521C/C	43	55	78,2	39	49	79,6	1	75	95	78,9	1	31	43	72,1	0,637
AGT521C/T	10	55	18,2	10	49	20,4	0,808	19	95	20,0	0,833	12	43	27,9	0,33
AGT521 T/T	2	55	3,6	0	49	0,0	0,497	1	95	1,1	0,555	0	43	0,0	0,502
AGTR1166A	60	78	76,9	28	34	82,4	0,621	46	58	79,3	0,836	17	20	85,0	0,551
AGTR1166C	18	78	23,1	6	34	17,6	0,621	12	58	20,7	0,836	3	20	15,0	0,551
AGTR1166A/A	22	39	56,4	11	17	64,7	0,768	17	29	58,6	1	7	10	70,0	0,496
AGTR1166A/C	16	39	41,0	6	17	35,3	0,772	12	29	41,4	1	3	10	30,0	0,72
AGTR1166C/C	1	39	2,6	0	17	0,0	1	0	29	0,0	1	0	10	0,0	1
AGTR21675G	39	74	52,7	20	32	62,5	0,399	27	50	54,0	1	18	26	69,2	0,171
AGTR21675A	35	74	47,3	12	32	37,5	0,399	23	50	46,0	1	8	26	30,8	0,171
AGTR21675G/G	16	37	43,2	6	16	37,5	0,768	9	25	36,0	0,608	7	13	53,8	0,537
AGTR21675 G/A	7	37	18,9	n	N	%	0,043	9	25	36,0	0,151	4	13	30,8	0,445
AGTR21675A/A	14	37	37,8	83	98	84,7	0,103	7	25	28,0	0,585	2	13	15,4	0,179
CYP11B2(-344) C	45	92	48,9	15	98	15,3	0,306	84	188	44,7	0,525	32	84	38,1	0,172
CYP11B2(-344) T	47	92	51,1	34	49	69,4	0,306	104	188	55,3	0,525	52	84	61,9	0,172
CYP11B2(-344) C/C	10	46	21,7	16	48	33,3	0,253	19	94	20,2	0,828	5	42	11,9	0,265
CYP11B2(-344) C/T	25	46	54,3	23	48	47,9	0,544	46	94	48,9	0,592	22	42	52,4	1
CYP11B2(-344) T/T	11	46	23,9	9	48	18,8	0,618	29	94	30,9	0,432	15	42	35,7	0,25
GNB3825C	76	102	74,5	75	98	76,5	0,746	130	190	68,4	0,286	58	84	69,0	0,417
GNB3825T	26	102	25,5	23	98	23,5	0,746	60	190	31,6	0,286	26	84	31,0	0,417
GNB3 825C/C	30	51	58,8	27	49	55,1	0,84	45	95	47,4	0,225	22	42	52,4	0,675
GNB3825C/T	16	51	31,4	21	49	42,9	0,301	40	95	42,1	0,217	14	42	33,3	1
GNB3825T/T	5	51	9,8	1	49	2,0	0,205	10	95	10,5	1	6	42	14,3	0,536
NOS3(-786)T	81	110	73,6	59	98	60,2	0,054	113	190	59,5	0,017	50	86	58,1	0,032
NOS3(-786)C	29	110	26,4	39	98	39,8	0,054	77	190	40,5	0,017	36	86	41,9	0,032
NOS3(-786)T/T	31	55	56,4	18	49	36,7	0,052	30	95	31,6	0,003	11	43	25,6	0,004
NOS3(-786)T/C	19	55	34,5	23	49	46,9	0,233	53	95	55,8	0,017	28	43	65,1	0,004
NOS3(-786)C/C	5	55	9,1	8	49	16,3	0,375	12	95	12,6	0,601	4	43	9,3	1

Таблица (окончание)

Генные и генотипические частоты в генах, контролирующих тонус сосудистой стенки, у женщин с гипертензивными расстройствами при беременности

End of Table

Gene and genotypic frequencies in genes that control tonus tension of the vessel wall in pregnant women with hypertensive disorders

Аллель/ генотип	Контроль			ХАГ			P ¹	ПЭ			P ²	ХАГ+ПЭ			P ³
	n	N	%	n	N	%		n	N	%		n	N	%	
NOS3894G	77	100	77,0	71	98	72,4	0,514	130	190	68,4	0,135	55	86	64,0	0,054
NOS3894T	23	100	23,0	27	98	27,6	0,514	60	190	31,6	0,135	31	86	36,0	0,054
NOS3894G/G	32	50	64,0	26	49	53,1	0,311	45	95	47,4	0,08	17	43	39,5	0,023
NOS3894G/T	13	50	26,0	19	49	38,8	0,202	40	95	42,1	0,07	21	43	48,8	0,031
NOS3894T/T	5	50	10,0	4	49	8,2	1	10	95	10,5	1	5	43	11,6	1

Примечание: ХАГ – хроническая артериальная гипертензия; ПЭ – преэклампсия; ХАГ+ПЭ – хроническая артериальная гипертензия и присоединившаяся преэклампсия; N – общее число наблюдений в группе (аллели/генотипы); n – число носителей аллеля/генотипа в группе; P¹ – коэффициент достоверности при сравнении группы с ХАГ и контроля; P² – коэффициент достоверности при сравнении группы с ПЭ и контроля; P³ – коэффициент достоверности при сравнении группы с ХАГ и присоединившейся ПЭ и контроля

Note: CAH – chronic arterial hypertension; PE – preeclampsia; CAH + PE – chronic arterial hypertension and preeclampsia; N – total amount of observations in groups(alleles/genotypes); n – number of carriers of allele/genotype in group; P¹ – coefficient of confidence between CAH and control; P² – coefficient of confidence between PE and control; P³ – coefficient of confidence between CAH+PE and control

В генотипе пациенток с ХАГ и присоединившейся ПЭ также достоверно чаще, чем у женщин с ХАГ присутствует негативный аллель в гене альдостеронсинтазы – *CYP11B2* (-344)Т (соответственно в 61,9 и 42,7 %, p=0,02, OR=2,17 (1,19-3,97)). Альдостеронсинтаза участвует в синтезе альдостерона, принадлежит к суперсемейству цитохрома P450. Альдостерон способствует задержке натрия во внеклеточном пространстве, а вместе с ним и воды. Полиморфизм гена *CYP11B2* (-344)Т определяет усиление продукции фермента альдостеронсинтазы, а, следовательно, и альдостерона, что приводит к повышенной реабсорбции натрия в почечных канальцах и дает гипертензивный эффект [20]. Кроме того, гиперпродукция альдостерона способствует развитию эндотелиальной дисфункции вследствие усиления экспрессии ингибитора активатора плазминогена-1 [21]. Полученные нами результаты согласуются с данными литературы, согласно которым у лиц европеоидной расы аллель *CYP11B2* (-344)Т встречается с частотой 45,0% [20]. Сведения о причастности аллеля *CYP11B2* (-344)Т к развитию гипертен-

зивных осложнений беременности немногочисленны и рассматривают данный полиморфизм как фактор повышенного риска развития ПЭ только в сочетании с другими молекулярно-генетическими и медико-социальными предикторами осложненного течения беременности [22].

Выявлено, что у пациенток с ХАГ и присоединившейся ПЭ достоверно чаще, чем у женщин с ХАГ, в генотипе присутствует аллель *GNB3* 825Т в гомозиготном состоянии (соответственно в 14,3 и 2,0%, p=0,03, OR=7,8 (1,09-188,8)). Гуанин-связывающие белки (G-белки) экспрессируются во всех клетках организма и играют главную роль в передаче сигналов от множества рецепторов с поверхности клетки. Минорный аллель 825Т гена субъединицы бета-3 G-белка (*GNB3*) связан с образованием варианта белка, обладающего повышенной биологической активностью, приводящей к усиленной сигнальной трансдукции [23, 24].

Полиморфизм С825Т гена *GNB3* ассоциируется с эндотелиальной дисфункцией [9], однако его связь с ПЭ остается предметом дискуссий [22, 24, 25]. В неко-

торых ранних работах показано, что вариант *GNB3* 825T является фактором риска развития ПЭ независимо от состава исследуемой популяции [24]. Вместе с тем имеются сведения об ассоциации данного полиморфизма с повышенным риском развития ПЭ только в совокупности с действием других негативных аллельных вариантов [25]. В настоящем исследовании была установлена ассоциация между повышенным риском развития ПЭ у пациентки с ХАГ именно с гомозиготным генотипом по указанному негативному аллелю. В группе женщин с ХАГ без ПЭ данный генотип был отмечен лишь в единичном случае, в то время как среди женщин с ХАГ и присоединившейся ПЭ шесть пациенток (14,3%) являлись гомозиготами по аллелю *GNB3* 825T.

Как было указано выше, в формировании наследственной предрасположенности к развитию мультифакториальной патологии, к разряду которой относится ХАГ и ПЭ, играет роль не только присутствие в генотипе определенных полиморфизмов, но и сочетанное накопление на генотип негативных аллельных вариантов. Нами были исследованы частоты встречаемости одновременного присутствия в генотипе неблагоприятных полиморфизмов у обследованных женщин. Установлено, что только в группе женщин с ХАГ, беременность которых осложнялась развитием ПЭ, в 14,6% случаев в генотипе определялась комбинация *AGT* 704C, *CYP11B2* (-344)T и *GNB3* 825T/T при отсутствии таковой среди пациенток с ХАГ (соответственно в 14,6 и 0,0%, $p=0,03$, $OR=8,1$ (1,13-194,2)). Обращает на себя внимание распределение частот негативных полиморфизмов по указанным локусам у женщин с ХАГ без ПЭ. Для отдельно взятых полиморфных вариантов *AGT* 704C и *CYP11B2* (-344)T генные частоты у пациенток с ХАГ хотя и достоверно ниже, чем у женщин с ХАГ и присоединившейся ПЭ, но демонстрируют высокие значения (соответственно 42,9 и 42,7%), что говорит о широком распространении в генофонде популяции в целом. Гомозиготный генотип по негативному аллелю *GNB3* 825T/T среди женщин с

ХАГ отмечен лишь в единичном случае, в то время как комбинация неблагоприятных полиморфизмов не определена ни в одном случае у пациенток с ХАГ.

Нами была проанализирована зависимость достижения целевого уровня АД при однокомпонентной или комбинированной антигипертензивной терапии от особенностей генотипа пациенток по выявленным негативным локусам.

У беременных женщин с ХАГ и присоединившейся ПЭ наиболее часто применялась комбинированная схема антигипертензивной терапии, что было связано с более высокими цифрами среднего АД при поступлении в стационар и затрудняло достижение целевого уровня АД при назначении одного лекарственного средства. Пациентки с ХАГ, напротив, достоверно чаще получали однокомпонентную терапию, однако при отсутствии достижения целевого уровня АД им требовалось назначение комбинированной терапии. Необходимость назначения нескольких антигипертензивных препаратов у женщин с ХАГ сочеталась с присутствием в генотипе женщин аллеля *AGT* 704C в 75,0% случаев против 35,7% при достижении целевого уровня АД на фоне монотерапии ($p=0,02$, $OR=5,2$ (1,17–28,49)). У пациенток с ХАГ и присоединившейся ПЭ необходимость применения комбинированной терапии ассоциировалась с генотипом *GNB3* 825T/T в 30,8% случаев, что было достоверно чаще, чем при достижении целевого уровня АД при приеме одного антигипертензивного средства (3,6%, $p=0,04$, $OR=1,4$ (1,12–1,87)). Сочетанное присутствие в генотипе *AGT* 704C, *CYP11B2* (-344)T и *GNB3* 825T/T было отмечено у 14,6% пациенток с ХАГ и присоединившейся ПЭ, не достигших уровня целевого АД на фоне монотерапии, что потребовало включения в комбинированную схему лечения гипертензивного синдрома препаратов второй линии.

Заключение. Таким образом, генные варианты *AGT* 704C, *CYP11B2* (-344)T и *GNB3* 825T/T, как по отдельности, так и при их сочетании, являются молекулярно-генетическими предикторами повышенно-

го риска присоединения ПЭ у беременных женщин с ХАГ; их определение позволит выделить группу высокого риска развития ПЭ у пациенток с ХАГ и своевременно начать профилактические мероприятия. Наличие в генотипе беременных с ХАГ, в том числе с присоединившейся ПЭ, неблагоприятных полиморфизмов *AGT* 704C и *GNB3* 825T/T сочетается с резистентностью к однокомпонентной антигипертензивной терапии, их выявление может обеспечить персонализированный подход к выбору схемы антигипертензивной терапии у данной категории пациенток.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Радьков ОВ. Молекулярно-генетические аспекты патогенеза, клиники, профилактики и лечения артериальной гипертонии у беременных [диссертация]. Москва: ГБУЗ МО МОНИАГ; 2012.
2. Фетисова ИИ, Панова ИА, Малышкина АИ, и др. Полиморфизм генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы у женщин с гипертензивными расстройствами при беременности. Таврический медико-биологический вестник. 2017;20(2):160-165.
3. Фетисов НС, Панова ИА, Зинченко РА, и др. Наследственные факторы риска гипертензивных расстройств при беременности. В: Гемостаз и репродукция. Материалы Всероссийской конференции с международным участием; 27-29 марта 2017 г. Санкт-Петербург; 2017:42-43.
4. Reshetnikov E, Ponomarenko I, Golovchenko O, et al. The VNTR Polymorphism of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene and Blood Pressure in Women at the End of Pregnancy. Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology. 2019;58(3):390-395. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.11.035>
5. Zotova TY, Lapaev NN, Azova MM, et al. Distribution of Polymorphisms of the Renin-Angiotensin System Genes (*ACE*, *AGT*, and *AGTR1*), *ITGB3*, and *FTO* in Pregnant Patients with Hypertensive Disorders. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2019;167(1):74-78. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04464-6>
6. Li C, Peng W, Zhang H, et al. Association of Angiotensin Receptor 2 Gene Polymorphisms With Pregnancy Induced Hypertension Risk. Hypertension in Pregnancy. 2018;37(2):87-92. DOI: <https://doi.org/10.1080/10641955.2018.1460666>
7. Xie X, Shi X, Xun X, et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Single Nucleotide Polymorphisms and the Risk of Hypertension: A Meta-Analysis Involving 63,258 Subjects. Clinical and Experimental Hypertension. 2017;39(2):175-182. DOI: <https://doi.org/10.1080/10641963.2016.1235177>
8. Бочков НИ. Медицинская генетика. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2014.
9. Баранов ВС. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. Санкт-Петербург: Изд-во Н-Л; 2009.
10. Чулков ВС, Вереина НК, Сеницын СП, и др. Оценка взаимосвязи достижения целевого артериального давления с осложнениями и исходами беременности при артериальной гипертензии. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2014;13(6):23-27. DOI: <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2014-6-23-27>
11. Колесникова ЛИ, Долгих ВВ, Астахова ТА, и др. Полиморфизм гена рецептора I-го типа к ангиотензину II у детей с симптоматической артериальной гипертензией. Acta Biomedica Scientifica. 2014;(2):32-35.
12. Решетников ЕА, Акулова ЛЮ, Батлуцкая ИВ. Молекулярно-генетические механизмы функционирования сердечно-сосудистой системы и роль ренин-ангиотензиновой системы в обеспечении сердечно-сосудистых реакций в организме. Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2013;22(11):179-184.
13. Jiang X, Sheng H, Li J, et al. Association between renin-angiotensin system gene polymorphism and essential hypertension: a community-based study. Journal of Human Hypertension.

- 2009;23:176-181. DOI: <https://doi.org/10.1038/jhh.2008.123>
14. Gabriel F, Moreira A, Henriques-Coelho T. Cardiovascular effects of the angiotensin type 2 receptor. *Revista Portuguesa de Cardiologia*. 2014;33(7):439-449. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.repc.2014.02.011>
15. Bloem LJ, Manatunga AK, Tewksbury DA, et al. The serum angiotensinogen concentration and variants of the angiotensinogen gene in white and black children. *Journal of Clinical Investigation*. 1995;95:948-953. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI117803>
16. Лоскутова ТА, Воронин КВ, Турчин ВН. Прогноз осложнений гестации у беременных с преэклампсией. *Медицинский журнал*. 2014;1:81-84.
17. Павлова ТВ. Клиническое значение генетически опосредованного риска развития гестоза у первобеременных женщин [диссертация]. Казань: Казанская государственная медицинская академия; 2012.
18. Lin R, Lei Y, Yuan Z, et al. Angiotensinogen gene M235T and T174M polymorphisms and susceptibility of pre-eclampsia: a meta-analysis. *Annals of Human Genetics*. 2012;76(5):377-386. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2012.00722.x>
19. Zafarmand MH, Nijdam ME, Franx A, et al. The angiotensinogen gene M235T polymorphism and development of preeclampsia/eclampsia: a meta-analysis and meta-regression of observational studies. *Journal of Hypertension*. 2008;26(9):1726-1734. DOI: <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e3283009ca5>
20. Casiglia E, Tikhonoff V, Mazza A, et al. C-344T polymorphism of the aldosterone synthase gene and blood pressure in the elderly: a population-based study. *Journal of Hypertension*. 2005;23(11):1991-1996. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000183119.92455.a7>
21. Paillard F, Chansel D, Brand E, et al. Genotype-phenotype relationships for the renin-angiotensin-aldosterone system in a normal population. *Hypertension*. 1999;34(3):423-429. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.HYP.34.3.423>
22. Радьков ОВ, Заварин ВВ, Калинин МН. Анализ ассоциации полиморфизма вазоактивных генов с преэклампсией. *Бюллетень ВШЦ СО РАМН*. 2011;81(5):109-112.
23. Jansen MW, Bertina RM, Vos HL, et al. C825T polymorphism in the human G protein beta 3 subunit gene and preeclampsia: a case control study. *Hypertension in Pregnancy*. 2004;23(2):211-218. DOI: <https://doi.org/10.1081/PRG-120028482>
24. Tang X, Guruju M, Rajendran GP, et al. Role of C825T polymorphism of GNbeta3 gene in preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy*. 2006;25(2):93-101. DOI: <https://doi.org/10.1080/10641950600745418>
25. Заварин ВВ, Калинин МН, Радьков ОВ. Роль межгенных взаимодействий вазоактивных генов в формировании предрасположенности к преэклампсии. *Фундаментальные исследования*. 2011;11-1:36-38.

References

1. Radkov OV. Molecular and genetic aspects of pathogenesis, clinic, prevention and treatment of arterial hypertension in pregnant women [dissertation]. Moscow: Moscow regional research Institute of obstetrics and gynecology; 2012. Russian.
2. Fetisova IN, Panova IA, Malyshkina AI, et al. Gene polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in women with hypertensive disorders in pregnancy. *Tavrisheskiy Mediko-Biologicheskiy Vestnik*. 2017;20(2):160-165. Russian.
3. Fetisov NS, Panova IA, Zinchenko RA, et al. Hereditary risk factors for hypertension disorders during pregnancy. In: Hemostasis and reproduction. Proceedings of the all-Russian conference with international participation; 2017 March 27-29. Saint Petersburg; 2017:42-43. Russian.
4. Reshetnikov E, Ponomarenko I, Golovchenko O, et al. The VNTR Polymorphism of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene and Blood Pressure in Women at the End of Pregnancy. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2019;58(3):390-395. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.11.035>
5. Zotova TY, Lapaev NN, Azova MM, et al. Distribution of Polymorphisms of the Renin-Angiotensin System Genes (ACE, AGT, and AGTR1), ITGB3, and FTO in Pregnant Patients with Hypertensive Disorders. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;167(1):74-78. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04464-6>
6. Li C, Peng W, Zhang H, et al. Association of Angiotensin Receptor 2 Gene Polymorphisms With Pregnancy Induced Hypertension Risk. *Hypertension in Pregnancy*. 2018;37(2):87-92. DOI: <https://doi.org/10.1080/10641955.2018.1460666>

7. Xie X, Shi X, Xun X, et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Single Nucleotide Polymorphisms and the Risk of Hypertension: A Meta-Analysis Involving 63,258 Subjects. *Clinical and Experimental Hypertension*. 2017;39(2):175-182. DOI: <https://doi.org/10.1080/10641963.2016.1235177>
 8. Bochkov NP. *Medical genetics*. Moscow: GEOTAR-Media; 2014. Russian.
 9. Baranov VS. *The genetic passport is the basis of individual and predictive medicine*. Saint-Petersburg (Russia): Izdatel'stvo N-L; 2009. Russian.
 10. Chulkov VS, Vereina NK, Sinitsyn SP, et al. Evaluation of an interrelation of target blood pressure achievement and complications and outcomes of pregnancy in arterial hypertension. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2014;13(6):23-27. Russian. DOI: <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2014-6-23-27>
 11. Kolesnikova LI, Dolgikh VV, Astakhova TA, et al. Polymorphism of angiotensin II alfa-gene of the 1st type in children with secondary hypertension. *Acta Biomedica Scientifica*. 2014;(2):32-35. Russian.
 12. Reshetnikov EA, Akulova LJ, Batluckaja IV. Molecular genetic mechanisms of the functioning of the cardiovascular system and role of the renin-angiotensin system in providing cardiovascular reactions in the body. *Scientific bulletins of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacia*. 2013;22(11):179-184. Russian.
 13. Jiang X, Sheng H, Li J, et al. Association between renin-angiotensin system gene polymorphism and essential hypertension: a community-based study. *Journal of Human Hypertension*. 2009;23:176-181. DOI: <https://doi.org/10.1038/jhh.2008.123>
 14. Gabriel F, Moreira A, Henriques-Coelho T. Cardiovascular effects of the angiotensin type 2 receptor. *Revista Portuguesa de Cardiologia*. 2014;33(7):439-449. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.repc.2014.02.011>
 15. Bloem LJ, Manatunga AK, Tewksbury DA, et al. The serum angiotensinogen concentration and variants of the angiotensinogen gene in white and black children. *Journal of Clinical Investigation*. 1995;95:948-953. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI117803>
 16. Loskutova TA, Voronin KV, Turchin VN. Prediction of gestational complications in pregnant women with preeclampsia. *Medicinskij zhurnal*. 2014;1:81-84. Russian.
 17. Pavlova TV. *Clinical value of the genetically mediated risk of gestosis in pre-pregnant women [dissertation]*. Kazan: Kazan State Medical Academy; 2012. Russian.
 18. Lin R, Lei Y, Yuan Z, et al. Angiotensinogen gene M235T and T174M polymorphisms and susceptibility of pre-eclampsia: a meta-analysis. *Annals of Human Genetics*. 2012;76(5):377-386. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2012.00722.x>
 19. Zafarmand MH, Nijdam ME, Franx A, et al. The angiotensinogen gene M235T polymorphism and development of preeclampsia/eclampsia: a meta-analysis and meta-regression of observational studies. *Journal of Hypertension*. 2008;26(9):1726-1734. DOI: <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e3283009ca5>
 20. Casiglia E, Tikhonoff V, Mazza A, et al. C-344T polymorphism of the aldosterone synthase gene and blood pressure in the elderly: a population-based study. *Journal of Hypertension*. 2005;23(11):1991-1996. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000183119.92455.a7>
 21. Paillard F, Chansel D, Brand E, et al. Genotype-phenotype relationships for the renin-angiotensin-aldosterone system in a normal population. *Hypertension*. 1999;34(3):423-429. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.HYP.34.3.423>
 22. Rad'kov OV, Zavarin VV, Kalinkin MN. Analysis of Association of vasoactive gene polymorphism with preeclampsia. *Byulleten VSNC SO RAMN*. 2011;81(5):109-112. Russian.
 23. Jansen MW, Bertina RM, Vos HL, et al. C825T polymorphism in the human G protein beta 3 subunit gene and preeclampsia: a case control study. *Hypertension in Pregnancy*. 2004;23(2):211-218. DOI: <https://doi.org/10.1081/PRG-120028482>
 24. Tang X, Guruju M, Rajendran GP, et al. Role of C825T polymorphism of GNbeta3 gene in preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy*. 2006;25(2):93-101. DOI: <https://doi.org/10.1080/10641950600745418>
 25. Zavarin VV, Kalinkin MN, Rad'kov OV. The role of intergenic interactions of vasoactive genes in the formation of predisposition to preeclampsia. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2011;11(1):36-38. Russian.
- Статья поступила в редакцию 27 мая 2020 г.
Поступила после доработки 10 ноября 2020 г.
Принята к печати 21 декабря 2020 г.

Received 27 May 2020

Revised 10 November 2020

Accepted 21 December 2020

Информация об авторах

Ирина Николаевна Фетисова, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии и генетики, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова», профессор кафедры акушерства и гинекологии, медицинской генетики, ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия», г. Иваново, Российская Федерация, E-mail: ivgenlab@gmail.com, ORCID: 0000-0002-5769-1645.

Анна Ивановна Малышкина, доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова», заведующая кафедрой акушерства и гинекологии, медицинской генетики, ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия», г. Иваново, Российская Федерация, E-mail: anna_im@mail.ru, ORCID: 0000-0002-1145-0563.

Ирина Александровна Панова, доктор медицинских наук, доцент, заведующая отделом акушерства и гинекологии, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова», г. Иваново, Российская Федерация, E-mail: ia_panova@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0828-6547.

Елена Аркадьевна Рокотянская, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова», г. Иваново, Российская Федерация, E-mail: ivgenlab@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4660-7249.

Николай Сергеевич Фетисов, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории клинической биохимии и генетики, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова», г. Иваново, Российская Федерация, E-mail: ivgenlab@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6455-477X.

Светлана Юрьевна Ратникова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической биохимии и генетики, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова», г. Иваново, Российская Федерация, E-mail: ivgenlab@gmail.com, ORCID: 0000-0002-2398-7835.

Information about the authors

Irina N. Fetisova, Doct. Sci. (Medicine), Associate Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Clinical Biochemistry and Genetics, Gorodkov Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood, Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Genetics, Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russia, E-mail: ivgenlab@gmail.com, ORCID: 0000-0002-5769-1645.

Anna I. Malyshkina, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Director of the Gorodkov Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Genetics, Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russia, E-mail: anna_im@mail.ru, ORCID: 0000-0002-1145-0563.

Irina A. Panova, Doct. Sci. (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Gorodkov Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood, Ivanovo, Russia, E-mail: ia_panova@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0828-6547.

Elena A. Rokotyanskaya, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Resuscitation, Gorodkov Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood, Ivanovo, Russia, E-mail: ivgenlab@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4660-7249.

Nikolay S. Fetisov, Cand. Sci. (Medicine), Junior Researcher at the Laboratory of Clinical Biochemistry and Genetics, Gorodkov Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood, Ivanovo, Russia, E-mail: ivgenlab@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6455-477X.

Svetlana Y. Ratnikova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Laboratory of Clinical Biochemistry and Genetics, Gorodkov Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood, Ivanovo, Russia, E-mail: ivgenlab@gmail.com, ORCID: 0000-0002-2398-7835.

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ
PHARMACOLOGY



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-6

УДК 616.314.17-008.1-085-092.9

Pharmacological effect of indolicidin-like peptides on vasoactive substances content in experimental periodontitis

Igor V. Kutepov , Yuri D. Lyashev 

Belgorod State National Research University,
85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

Corresponding author: Yuri D. Lyashev (ylyashev@yandex.ru)

Abstract

Background: The anti-inflammatory effect of indolicidin-like peptides, which have a wide range of antimicrobial effects, has been already reported in several studies. The inflammation of the periodontium is accompanied by the endothelium injury and disorders of vasoactive substances formation. The investigation of the influence of potential periodontal protectors on the microcirculation and vasoactive substances production remains relevant. **The aim of the study:** To investigate the pharmacological effect of indolicidin-like peptides on the vasoconstrictor and vasodilator content in the animals with experimental periodontitis. **Materials and methods:** Experimental periodontitis was performed in accordance with the method proposed by A.I. Volozhin and S.I. Vinogradova. The pharmacological effect of indolicidin-like peptides N7 and N8 on the content of endothelin-1 in the homogenate of gum tissue and the concentration of nitric oxide decay substances in the plasma was studied. Rats with periodontitis were intraperitoneally injected with N7 and N8 peptides. The dose of peptides was 500 µg/ kg in 0.2 ml of normal saline once a day for 7 days. **Results:** The values of endothelin-1 and nitric oxide decay products in the rats with periodontitis enhanced from the 7th until the 21st day of the experiment. Indolicidin-like peptides administration decreased the mean values of endothelin-1 and nitric oxide decay products in the rats with periodontitis at the 2nd and the 3rd weeks of the experiment. **Conclusion:** The data obtained indicate that indolicidin-like peptides N7 and N8 have protective effect on the vasoconstrictor-vasodilator balance in periodontitis and there was no significant difference in their influence.

Keywords: periodontitis; indolicidin-like peptides; endothelin; nitric oxide

For citation: Kutepov IV, Lyashev YD. Pharmacological effect of indolicidin-like peptides on vasoactive substances content in experimental periodontitis. Research Results in Biomedicine. 2021;7(1):67-71. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-6

Introduction. One of the directions of modern dentistry is the search for new effective drugs for treating inflammatory periodontal diseases. The leading role of periodontopathogenic bacteria in the provoking of the any forms of periodontitis and the lack of efficacy of currently using antibiotics make this problem especially important [1, 2, 3].

That's why synthetic analogues of the natural peptide indolicidin, which have a wide range of antimicrobial effects, are of great interest to researchers [4, 5, 6]. Recently, we have shown the protective action of indolicidin-like peptides on morphological and biochemical changes in the periodontium in periodontal disease [7]. It's known that the inflammatory processes, including periodontitis, are accompanied with the disorders of vasoactive substances secretion [8].

The aim of the study is the evaluation of the pharmacological effect of indolicidin-like peptides on the content of endothelin-1 and nitric oxide decay products in the animals with experimental periodontitis.

Materials and methods. Eighty Vistar male rats were obtained from the branch "Stolbovaya" of the Federal State Budgetary Institution of Science "Scientific Center for Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency". The naïve group consists of 8 animals. Experimental periodontitis was performed in accordance with the method proposed by A.I. Volozhin and S.I. Vinogradova [9]. The animals received the chloral hydrate intraperitoneally at a dose of 0.3 g / kg b.w. and 2% novocaine solution locally. The silk thread was put in the form of eight on the lower incisors after the dissection of interdental papilla. Then the silk ligature was immersed in the periodontal groove and it was fixed with additional nodes for two weeks. The animals were sacrificed at the first, second and third weeks after by an overdose of anesthesia.

The concentration of endothelin-1 in the gum tissue homogenate was measured by immune-enzyme assay using a set produced by Biomedica Medizinprodukte GmbH Co KG (Austria) and it was expressed in pmol/ml. Preliminary, the gum tissue (100

mg) was homogenized in the saline solution (pH=7.2) in the low temperature (+2-+3°C) and then homogenate was centrifuged in 3000 rpm during 15 minutes.

Nitric oxide decay products content in the plasma was measured by a 546-nm spectrophotometer [10].

The rats with experimental periodontitis were divided into the following groups: control group (periodontitis and saline solution injections) – 24 rats, the first experimental group (periodontitis and indolicidin N7 injections) – 24 rats, the second experimental group (periodontitis and indolicidin N8 injections) – 24 rats.

The action of indolicidin-like peptides N7 (H – Ile – Leu – Pro – Trp – Lys – Lys – Pro – Trp – Lys – Pro – Trp – Arg – Arg – NH₂) and N8 (H – Ile – Lys – Pro – Trp – Lys – Trp – Pro – Trp – Lys – Pro – Trp – Arg – Arg – NH₂) (LLC "NPF" Verta", St. Petersburg, Russia)" on the periodontitis development was investigated. The rats in the control group were intraperitoneally injected with 0.2 ml of normal saline 7 days. The rats in experimental groups were injected under the same schedule with 0.2 ml of the solution of N7 or N8 peptide in normal saline. The dose of indolicidin-like peptides was 500 µg/kg of body weight. The solution was prepared ex tempore. These doses were chosen on the basis of the literature data and preliminary experiments [7].

The study was carried out in accordance with the regulations for ensuring the human treatment of animals declared in the Helsinki Declaration of the World Medical Association on the Humane Attitude to Laboratory Animals (2000), European Community Directives (86/609 EC) and the Rules of Proper Laboratory Practice in the Russian Federation (Order No.199n of the Ministry of Public Health of the Russian Federation dated 01.04.2016). The approval of the Regional Ethics Committee (REC) (protocol No. 3 of 10.27.2015) was received.

Experimental results were statistically processed by methods of variation statistics. The significance of discrepancies was defined according to Student's t-criterion after the

checking of normal distribution of the parameters. MS Excel and Statistica 10 software were used for statistical processing.

Results and discussion. Mean values of the endothelin-1 concentration in the gum homogenate and nitric oxide decay products in the plasma in the naïve, control and treated with indolicidin-like peptides N7 and N8

groups are shown in Table. The studied indices of the control group rats increased in comparison with those in the naïve animals during the entire observation. The arising in the content of nitric oxide decay products indicates to the reinforcement of nitric oxide turnover and a decrease in its concentration [8].

Table

Pharmacological effect of indolicidin-like peptides on the endothelin-1 and the nitric oxide decay products content in the rats with periodontitis. (M±m), n=8

Group	Indices	Day of experiment	Concentration of nitric oxide decay products in the plasma, mcmol/l	Concentration of endothelin-1 in the gum tissue, pg/mg of protein
Naïve group			14.1±0.4	1.34±0.06
Control group		7 day	19.7±0.7 ^{xxx}	2.13±0.05 ^{xxx}
		14 day	17.6±0.6 ^{xx}	2.56±0.04 ^{xxx}
		21 day	16.3±0.4 ^{xx}	1.76±0.04 ^{xxx}
Periodontitis + indolicidin N7		7 day	18.9±0.6	2.07±0.06
		14 day	15.4±0.7*	1.90±0.05***
		21 day	14.0±0.4**	1.39±0.03***
Periodontitis + indolicidin N8		7 day	20.1±0.6	2.12±0.06
		14 day	15.6±0.6*	1.92±0.05***
		21 day	14.7±0.5*	1.41±0.05***

Note: ^{xx} – p<0.01, ^{xxx} – p<0.001 in comparison with those in the naïve group; * – p<0.05, ** – p<0.01, *** – p<0.001 in comparison with those in the control group.

The long-term treatment with indolicidin-like peptides N7 and N8 revealed a significant decrease in the endothelin-1 and nitric oxide decay products in rats with periodontitis at the 2nd week of the experiment in comparison with those in the control group: nitric oxide stable metabolites concentration decreased by 12.5% and 11.4% (p<0.05) and endothelin-1 content – by 25.8% and 25.0% (p<0.001) after the injection of indolicidin analogues N7 and N8 respectively.

This dynamics continues at the 3rd week: endothelin-1 and nitric oxide decay products turned out to be significantly less than in the control rats (p<0.05-0.01).

The results of our study confirm the data about disturbances in the endothelin and nitric oxide content in periodontitis [11, 12]. The pathogenesis of endothelium injury in the inflammation is complicated. The direct damaging effect of periodontal microbes on the vascular endothelium is mainly developed due to their adhesion and invasion into endothelial cells [13]. Endothelial damage leads to intra-

vascular changes: platelet aggregation and the activation of coagulation [13]. It has been also established that ET-1 was involved in the regulation of proinflammatory interleukins, especially interleukin-1b expression in gingival tissues [11].

The microcirculation system provides mainly metabolic homeostasis in the organs and tissues. Recently it was declared that periodontitis is characterized by a significant decrease in capillary perfusion in the periodontium [8]. A critical decrease in microcirculation and vasomotor activity of blood vessels in patients with periodontitis is followed by disturbances in the microcirculation adaptation to local metabolic needs [8, 13].

The long-term administration of indolicidin-like peptides N7 and N8 was followed by a protective pharmacological effect on the content of vasoconstrictor and vasodilator. These data confirm that indolicidin-like peptides are able to correct microcirculation in the affected periodontium. In our opinion, the effect could be related to the action of the

peptides on the vasoactive substances synthesis by the macrophages and platelets, including interleukins, arachidonic acid cascade metabolites, growth factors, etc. The stimulation of macrophage adhesion property indicating to their functional activation under the influence of synthetic indolicidins has been already established [14].

Comparative investigation of the pharmacological effect of indolicidin-like peptides on endothelin-1 and nitric oxide decay products content in periodontitis didn't reveal the significant difference. Further research is required for better understanding molecular mechanisms of vasoprotecting effect of synthetic indolicidins.

Conclusion

1. The increase in endothelin-1 content in gum tissue and nitric oxide decay concentration in plasma has been established in periodontitis.

2. The long-term administration of indolicidin-like peptides N7 and N8 had protective effect on the vasoactive substances content: endothelin-1 and nitric oxide.

3. There was no significant difference between the pharmacological effects of indolicidin analogues N7 and N8 on the vasoactive substances content in periodontitis.

Financial support

Supported by The Federal State Autonomic Educational Institution of Higher Education "Belgorod State National Research University".

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Cepov LM, Nikolaev AI, Petrova EV, et al. Pathogenetic substantiation of clinical use medicines in complex therapy of inflammatory periodontal diseases (a review of the literature). *Parodontologiya*. 2018;23(2):4-9. Russian. DOI: <https://doi.org/10.25636/PMP.1.2018.2.1>

2. Chepurova NI, Romanenko IG. Corrective effect of immunological drugs on oral microbioziosis in patients with chronic apical periodontitis against the background of oral dysbiosis. *Parodontologiya*. 2019;24(2):173-177. Russian.

DOI: <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2019-24-2-173-177>

3. Orekhova LYu, Loboda ES, Kosova EV, et al. Topical antibiotic therapy in periodontology. *Parodontologiya*. 2020;25(3):217-223. Russian. DOI: <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2020-25-3-217-223>

4. Dong N, Li XR, Xu XY, et al. Characterization of bactericidal efficiency, cell selectivity, and the mechanism of short interspecific hybrid peptides. *Amino Acids*. 2018;50(3-4):453-468. DOI: <https://doi.org/10.1007/900726-017-2531-1>

5. Mirski T, Niemcewicz M, Bartoszcze M, et al. Utilisation of peptides against microbial infections – a review. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine*. 2017;25(2):205-210. DOI: <https://doi.org/10.26444/aaem/74471>

6. Dwivedi R, Aggarwal P, Bhavesh NS, et al. Design of therapeutically improved analogue of the antimicrobial peptide, indolicidin, using a glycosylation strategy. *Amino Acids*. 2019;51(10-12):1443-1460. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00726-019-02779-2>

7. Kutepov IV, Lyashev YD. Pharmacological correction of periodontitis using synthetic analogues of indolicidin. *Research Results in Pharmacology*. 2019;5(3):21-35. DOI: <https://doi.org/10.3897/rrpharmacology.5.38107>

8. Leontyev VK., Faustov LA, Galenko-Yaroshevskiy PA, et al. Chronic generalized periodontitis: clinical and experimental pharmacotherapy by metabolic correctors. Krasnodar: Prosveshenie-Yug Publishing; 2012. Russian.

9. Volozhin AI, Vinogradova SI. The modelling and treatment of the inflammation in the periodontium. *Pathological physiology and experimental therapy*. 1990;6:49-51. Russian.

10. Golikov PP, Nikolaeva NYu. The method of measurement of nitrite/nitrate (NOx) in serum. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2004;50(1):79-85. Russian.

11. Isola G, Polizzi A, Alibrandi A, et al. Analysis of Endothelin-1 Concentrations in Individuals with Periodontitis. *Scientific Reports*. 2020;10(1):1652. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58585-4>

12. Polak D, Sanui T, Nishimura F, et al. Diabetes as a risk factor for periodontal disease-plausible mechanisms. *Periodontology* 2000. 2020;83(1):46-58. DOI: <https://doi.org/10.1111/prd.12298>

13. Silva NLC, Motta NAV, Soares MA, et al. Periodontal status, vascular reactivity, and platelet aggregation changes in rats submitted to hypercholesterolemic diet and periodontitis. *Jour-*

nal of Periodontal Research. 2020;55(3):453-463.
DOI: <https://doi.org/10.1111/jre.12730>

14. Kutepov IV, Lyashev YuD, Artushkova EB, et al. The influence of indolicidin analogues on the content of the connective tissue matrix of periodontium in the acute periodontitis. *Parodontologiya*. 2019;24(1):34-38. Russian. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-12-36-40>

Received 12 November 2020

Revised 10 January 2021

Accepted 15 January 2021

Information about the authors

Igor V. Kutepov, Post-graduate Student in Scientific Specialty 14.03.06 – Pharmacology, Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: kutepov-iv@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-2816-2787.

Yuri D. Lyashev, Doct. Sci. (Medicine), Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: ylyashev@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-0536-923X.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА MEDICINE



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-7

УДК 614.2

Development of gerontology and geriatrics in Mongolia

Sengee Enkhmandal 

Ulaanbaatar Songdo Hospital,
5 Choidog St., Ulaanbaatar, 14210, Mongolia

Corresponding author: *Sengee Enkhmandal (mandaa0330@yahoo.com)*

Abstract

Background: The population of Mongolia in 2020 is estimated at 3,305,625 thousand people, thus it has increased by 25.3% since 2000, by about 5.6% per year. The number of older people in Mongolia in 2015 was 244162, and that number will grow up to 535761 in 2030. The history of development and establishment of the National Gerontology Center (NGC) of Mongolia has taken a long road since 1966. Nowadays, there is one NGC in the capital, Ulaanbaatar, which provides scientific and practical guidance for conducting preventive examinations and treatment of the elderly. On June 2020, a new Gerontology Center opened in Darkhan city of Mongolia. **The aim of the study:** To introduce the statistical data of the elderly people and history of development of NGC in Mongolia. **Materials and methods:** Statistical data was mostly introduced from the renewed population projection for 2015-2045 designed by the National Statistical Office of Mongolia. The history of the NGC of Mongolia was collected from the newspapers and journals of the library, the archive of the Gerontology Center and electronic database from the web of the Ministry of Health. **Results:** Performance results of the NGC: within the period from 2005 to 2015, 61,262 people received outpatient examinations, 25,453 received preventive examinations, 3,500 received follow-up and home care, and 515,534 people received geriatric diagnostics and treatment. By 2019, the Center received the national independent status for providing comprehensive care for the elderly in accordance with the current developments in the field of gerontology, providing qualified medical services and methodological guidance for healthcare institutions and specialized training of medical personnel. **Conclusion:** The modern NGC is now striving to develop an integral healthcare system for the elderly that effectively integrates healthcare for the elderly with long-term follow-up, home care and palliative care.

Keywords: elderly; history; establishment; development; healthcare

For citation: Enkhmandal S. Development of gerontology and geriatrics in Mongolia. *Research Results in Biomedicine*. 2021;7(1):72-79. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-7

Introduction. According to the national statistics, the population of Mongolia in 2020 is estimated at 3,305,625 thousand people, thus it has increased by 25.3% since 2000, by about 5.6% per year. According to the national statistical estimates, the population will reach 4 million people by 2031 and 5 million by 2045 [1, 2]. In Mongolia, men and women over 60 and 55 years are called elderly people. In 2015, people aged 65 and older made 3% of the total population, and by 2045 the number will triple up to 9%. It is predicted that the share of the population aged 60 and older will exceed the share of the population aged 0 to 14 years old by 2056 [1]. The percentage of elderly people above 80 in the population will also increase from 0.5% in 2007 to 1.0% by 2025 and 3.4% by 2050 [3]. According to scientists, the number of older people in Mongolia in 2015 were 244162, and that number will double by 2.2 to become up to 535761 in 2030. This figure indicates that by 2030 the elderly will make up 14.9 percent of the total population of Mongolia [4-7].

The aim of the study. To introduce the statistical data of the older people and history of development of the National Gerontology Center in Mongolia.

Materials and methods. Statistical data were mostly introduced from the renewed population projection for 2015-2045 designed by the National Statistical Office of Mongolia. The history of the NGC of Mongolia was collected from the newspapers and journals of the library, the archive of the Gerontology Center and electronic database from the web of the Ministry of Health.

Results. Almost three quarters of Mongolia's population live in or around large cities, most of which are concentrated in one area. Approximately 45% of the country's population live in the capital, Ulaanbaatar, which had the population of 1.5 million as of 2019 [6-8]. 68.3% of the total population of elderly people live in urban areas, and 31.6% live in rural areas. Ulaanbaatar is home to

1,440,400 people, or 46.2% of the total population [7-9].

The population of Mongolia is now young, but by 2045 the age structure will approach aging. Life expectancy of the population of Mongolia in 2016 was 69.57 years, 65.58 years for men and 75.10 years for women. The average life expectancy of women is 9.52 years longer than that of men. In general, women constitute the majority of the older population (58% female vs. 42% male), and even more of the population of oldest olds (61% vs. 31%). A higher proportion of older women than older men are "single," that is, unmarried (3.2% vs. 2.8%) or widowed (62.7% vs. 24.4%). Moreover, older women face a higher incidence of disability (53% vs. 47%), fewer opportunities for productive employment (4.8% vs. 13.1%), and a higher prevalence of difficulties with ADL (57% vs. 43%) and IADL (55% vs. 45%). As older women tend to be less secure in terms of finances, care, and support, they are more vulnerable than older men [10].

Life expectancy is critical for determining mortality rates in population projections. Therefore, with development of modern medicine, it is also assumed that the availability and quality of medical services will increase, infant mortality will decrease, and life expectancy will gradually increase by about 0.5-1.5 years every 5 years by 2045 [8].

In 2005, average years in retirement for male were 13.3 years, average years in retirement for female were 15.3 years, but in 2030 and onwards average years in retirement for male are expected to be 15.4 years, and average years in retirement for female – 17.1 years [11]. Thus, according to estimates, in 30 years, 16% of the population of our country will reach retirement age, i.e. the number of the population in retirement age will triple by 2045, indicating the need for policy measures such as regulating the rate of retirement payments and increasing social security services for retired people [8]. During the "demo-

graphic window", the government of Mongolia is actively taking measures to accelerate the country's economic development, increase jobs, increase incomes, life quality and life expectancy of the population.

History of Gerontology Development

The Mongolian gerontology dates back to 1966, the Director of the Academy of Sciences B. Shirendev and the Minister of Health G. Tuvaan, at a meeting with Professor Parkhong (Romania) from the Institute of Gerontology, signed the first foreign agreement on the training of doctors in gerontology. The first geriatric doctor was Ts. Gonchigsuren. In 1973, the second geriatric doctor N. Zhanchiv from Ulaanbaatar was trained at the Kiev Institute of Gerontology for 6 months.

Formation of first Geriatric outpatient cabinet: After N. Zhanchiv graduated from the institute, he proposed to create a center for the elderly in his country with Ts. Gonchigsuren and the first outpatient cabinet for the elderly was established in 1977 [8-10]. By the Order of the Executive Director and Head of the Health Protection Department of Ulaanbaatar People's Deputies Congress, "Monitoring for the Elderly" No. 60 dated January 15, 1977, "Hospital Rooms for the Elderly" were arranged in Mongolia in the 3rd General Hospital of Ulaanbaatar, where Ts. Gonchigsuren worked as a doctor. From 1983 to 1987, the outpatient Center for the Elderly was expanded, in which, in addition to the general physician D. Chultem, a neurologist, a primary care physician, a rehabilitation therapist, an otolaryngologist and a radiologist started working [12, 13].

Establishment of geriatric cabinets in districts: By the Order of the Executive Director and Head of the Health Protection Department of Ulaanbaatar People's Deputies Congress dated December 20, 1988, No. 115 "On Measures Regarding the Work of Hospitals for the Elderly", the procedure for the operation of the first geriatric office in polyclinics in two districts – Sukhbatar and Oktyabrsky – was approved. The staff of the geriatric office consisted of 2 doctors and 2 nurses. Later the geriatric cabinet expanded and

became a Geriatric Clinic located in Dambadarjaa [9].

Geriatric Clinic united with Traumatology Clinic: By the decision of the Government of Mongolia, the Geriatric Clinic united with the Traumatology Clinic in 1992. After this decision, the health of the elderly was largely neglected. *Rehabilitation Center:* By the Order of the Minister of Health dated January 26, 1995 A/09, the Ulaanbaatar Rehabilitation Hospital was transformed into a Rehabilitation Center, and not only for the elderly, but also for other categories of the population [9]. From that moment on, the number of elderly patients in the Rehabilitation Center began to decline sharply.

The Gerontology and Rehabilitation Center: By the Order of the Minister of Health dated October 3, 1995, A/132 and A/209, the Rehabilitation Center was united with the Traumatology Clinic [10]. Within the framework of the National Program "Health and Social Protection of the Elderly", approved by Government Decree No.130 of 1998, the Gerontology and Rehabilitation Center was opened. 2 doctors and 1 nurse worked in the Gerontology and Rehabilitation Center. The Gerontology and Rehabilitation Center was responsible not only for counseling the elderly throughout the country, but also for training medical personnel in caring for the elderly [13].

Establishment of geriatric cabinets in provinces for the first time: By the Order of the Minister of Health dated January 31, 1999, in all provinces, for the first time, offices for retired people were created, in which the elderly were trained in primary and secondary prevention of morbidity, medical and social issues.

In 2003, R. Oyunkhand became director of the Gerontology and Rehabilitation Center and started to organize research studies towards health and pathologic conditions of the elderly and geriatric health education trainings. In 2003, preparation of professional doctors in gerontology-geriatrics began at a new stage as Ya. Tsend and R. Oyunkhand began training in geriatrics in Malta, organized by the International Institute of Aging. Since

2003, under the leadership of the Gerontology and Rehabilitation Center in the provinces, geriatricians have been working to carry out preventive examinations of the elderly. Since 2003, a team of geriatric physicians began working with family doctors, as well as government and nongovernmental organizations working with the elderly, to provide preventive check-ups, health education and training of elderly people on healthy lifestyles and physical activity. The preparation-educating program of geriatric doctors and nurses in Mongolia started in 2005 by the organization aid of the Postgraduate Institute of Mongolian Health Sciences University with the support of the World Health Organization. Two physicians have been trained as “Geriatric Physicians” and three have been trained as “Geriatric Nurses”, doctors and nurses first trained in first aid treatment [13].

In 2005-2006, the head of the Gerontology and Rehabilitation Center, R. Oyunhand, was trained as the first clinical gerontologist at the Joint Medical Postgraduate Institute in Singapore and became the first trained gerontologist in Mongolia. In 2007, head of the Center R. Oyunkhand initiated and established the “Association of Gerontology and Geriatrics”, which included specialized members in gerontology [13]. By the Order of the Minister of Health of December 14, 2007 No.311 "On Measures for the Care of the Elderly", guidance rules for the operation of a geriatric office structure and personnel schedule in district and province hospitals were approved [14].

Establishment of the Gerontology Center: Until 2005, the Gerontology and Rehabilitation Center and geriatric doctors arranged medical care for the elderly on their premises, but the lack of methodological support for arranging care of the elderlies lead to the establishment of the Gerontology Center under the Ministry of Health of Mongolia. The head of the Gerontology and Rehabilitation Center R. Oyunkhand initiated a project to create a gerontology center and submitted it to the Ministry of Health, which supported the decision to establish a gerontology center. By the Decree of the Government of Mongolia

No.209 dated September 29, 2005, the functions of the National Gerontology Center under the Ministry of Health of Mongolia include conducting researches, training healthcare institutions of various levels with professional methodological guidelines for studying the causes and factors of aging of the Mongolian population and providing medical care [14, 15].

On the basis of the Order of the Minister of Health of November 11, 2005 No.279, “The Strategy and Structure of the Activities of the Gerontology Center” was approved, 18 stationary places were organized. At the same time, the original emblem of the Gerontology Center and the internal work order regulations were approved. The Gerontology Center started to work in four main areas: strategic division, educational division, research division, the department of information marketing and financial services of rehabilitation care. One of the functions of the Center was activities in the field of training medical personnel [16].

In 2007, at the initiative of R. Oyunkhand, director of the Tenthleg Center a multi-specialty team providing home care for the elderly, introduced a new form of care for the elderly and began to provide the elderly with the necessary medical and social services. The multi-specialty team is dedicated to providing comprehensive home care for the critically ill and disabled, addressing social issues and improving the satisfaction and quality of life of elder people across the country.

Since the foundation of the Gerontology Center as an independent organization, 2 specialists worked in the training department for promotion of healthy aging and 1 specialist worked in the research field. In 2006, the Department of Training and Research, Foreign Relations and Cooperation including 6 specialists was added to the structure of the Center. The department conducts trainings and education on gerontology and geriatrics, studies the factors influencing the aging of the Mongolian people and the health of the elderly; supports and evaluates researches; promotes healthy aging; arranges and directs multiple activities across the country, includ-

ing the collection of health data and information on elder people; cooperates with foreign and domestic organizations performing similar activities. Every year the department expands cooperation and the scope of its activities [10].

The educating program "The Fundamentals of Gerontology and Geriatrics" was developed and approved by the head of the Center R. Oyunkhand and the head of the educational department M. Solongo in 2007. 1251 doctors took part in the training, organized in 2007-2011 in 9 districts of the capital and 21 rural provinces. This is a major breakthrough in providing basic knowledge about the aging process and the conditions accompanying aging to physicians of primary healthcare centers [17]. In 2009, with the support of the United Nations Population Fund (UNFPA), offices were renovated and training of coaches on "Breathing Exercises" and "Water and Breathing" meditation started for the elderly. Since 2010, preventive examinations have been carried out among the elderly in remote areas of the capital and among the elderly in rural areas. The Hall for Healthy Aging was opened with financial support from the United Nations Population Fund and began using instruments for comprehensive physical examination, electronic weight and bone density measurement [12, 13].

In 2012, "The nursing guidance for the elderly" was approved by the Ministry of Health on 13 January, 2012. The rationale is that health care providers should not only focus on the illness of the elderly, but also conduct a comprehensive physical, mental and social assessment, develop and implement a care plan tailored to the needs of the elderly, evaluate the results for the prevention, long-term preservation of the independence of the elderly and the promotion of healthy aging [18].

The National Program named "Healthy Ageing, Health of Elders" was approved by the Mongolian Government in December 14, 2013. The purpose of the program was to improve the quality of life of the elderly by supporting a healthy and active aging population, improving the health, care, protection and so-

cial participation of the elderly. These include 1. Creating a favorable legal, social and economic environment to support a healthy aging population; 2. Promoting the health of the elderly and preventing disease; 3. Improving the development, protection and participation of the elderly in society; 4. Expanding comprehensive health care services to meet the needs of the elderly [19].

The Gerontology Center expanded to the National Gerontology Center: The functional direction and structure of the Center's activities were approved in 2012 by Government Decree No.231 "The National Gerontology Center" and by the Order of the Minister of Health No.226 dated June 25, 2013 [15]. The National Gerontology Center is currently the leading national health organization for gerontology and geriatrics. The General Directors of the National Gerontology Center were: R. Oyunhand (2006-2013), N. Nyamsuren (2015-2016), B. Bayar (until December 2016), R. Khishigzhargal (from December 2016 to the present).

Since its establishment, the National Center for Gerontology has carried out its mission studying the factors affecting the aging and health of the elderly in Mongolia, providing disease prevention, diagnostics, rehabilitation, treatment and nursing services, providing professional management and methodology to health organizations, training and advocacy.

The National Gerontology Center has four divisions: the health services division, the academic research division, the strategic planning division, and the internal audit service for quality control and assessment. Since 2005, the Center has been located in the building of the former anti-tuberculosis dispensary. Despite the fact that there are 52 positions in the Center, there are currently 9 doctors and 3 nurses in the Center.

Gerontology-geriatrics current condition

The National Gerontology Center – Mission: To study the aging process and the risk factors, to develop the workers by creating a system that respects clients by providing social, health and medical care to the elderly.

The NGC is an organization under the Ministry of Health of Mongolia. According to the rules of the NGC, the organization is responsible for studying the causes of aging and health factors in Mongolia, providing professional and methodological guidance to health care providers in providing public rehabilitation services for the elderly, and conducting training and research [20].

Scope of activities – The NGC under the Ministry of Health studies the factors affecting the aging and health of the elderly in 9 districts, 21 provinces and the country, provides services for disease prevention, diagnostics, rehabilitation and treatment that is a national reference center that provides training and advocacy to the elderly free of charge, regardless of home address.

The National Gerontology Center has four divisions: the health services division, the academic research division, the strategic planning division, and the internal audit service for quality control and assessment. From 2005 the Center has been located in the building of the former anti-tuberculosis dispensary. Despite the fact that there are 52 positions in the Center, there are currently 9 doctors and 3 nurses in the Center.

Performance results: In 2005-2015, 61,262 people received outpatient examinations, 25,453 patients received preventive examinations, 3,500 patients received home care and 515,534 patients received diagnostics. In 2016, a total of 21,079 examinations were performed, of which 19,077 were outpatient examinations, 1,523 were preventive examinations, and 479 were active home visits. Observing these numbers, only 8.18 percent of the elderly is provided with healthcare annually, therefore it is an important issue that needs to be addressed in order to improve the quality and availability of care (diagnostics, type of treatment, number of rooms, number of qualified doctors and specialists) [20].

Within the framework of training for geriatric doctors and nurses: Since 2007, we have been organizing specialized professional training programs for geriatric doctors and nurses. There are 24 geriatricians and 28 nurses for the elderly in Mongolia. This rep-

resents 49 percent of the total number of geriatric physicians and 28.4 percent of nurses, indicating the need to focus on policy-preparing the training of geriatricians and nurses [20].

In the framework of geriatric training: Every year, the Central Research and Training Office organizes thematic and repeated trainings for doctors, medical professionals and the elderly who provide health care services to the elderly in the capital city and rural areas. As of 2016, 1513 doctors and medical professionals participated in 16 trainings of 11 types and 2733 elderly people participated in 13 trainings of 37 types and successfully organized trainings in each field [19].

In the framework of research in geriatrics: The Academic Council of the Central Research and Training Office consists of 9 professors, 3 associate professors, 3 doctors of medicine and 1 master of social sciences who works and directs research in aging and its pathology [12].

Discussion

Health care system for the elderly:

1. Within the framework of the national program “Healthy Aging and Health of the Elderly” at the level of primary care, a training program on “Strengthening care for the elderly in Soum (subprovince) health centers” was created and approved at the primary care level. In accordance with the “Friendly Family Health Center for the Elderly” selection procedure, we are selecting and rewarding family and Soum health centers that have created a friendly environment for the elderly and set an example for other organizations [20].

2. Within the framework of improving the quality and access to specialized professional services for doctors and medical professionals working at the second level or at the level of general hospitals in province and district health centers, training and advocacy are organized in 8-10 provinces every year providing professional and methodological guidance. We are cooperating to make recommendations on the issue and pass them on to the administrative unit management at the appropriate level. Doctors in the geriatric of-

fices in the district are involved in continuous training throughout the year.

3. Thematic and repeated trainings on the diagnostics and treatment of common diseases in the elderly and communicating special methods with the elderly are organized annually in cooperation with the central hospitals and specialized centers for doctors and medical professionals working at the tertiary level or specialized centers, general clinical hospitals and centers. Professional and methodological guidance in the care for the elderly is also provided. In collaboration with central hospitals and specialized centers, we conduct research on risk factors and common diseases that affect aging and make significant contribution to the development of the sector.

The government of Mongolia decided to construct a new building of the National Gerontology Center for specialized care for the elderly in 2020. Unfortunately, because of the COVID-19 pandemic, the government budget for 2020-2021 years was changed. On June 2020, a new Gerontology Center was opened in Darkhan city, where 13,000 elder people live.

The Center has acquired the national independent status of providing comprehensive care for the elderly in accordance with the current trends in the field of gerontology, providing qualified medical services and methodological guidance for healthcare institutions. Also, the National Gerontology Center acquired the status of the National Center for Specialized Training of Medical Personnel. The modern National Gerontology Center is committed to developing an integrated system of care for the elderly that effectively integrates healthcare for the elderly with long-term follow-up, home care, and palliative care.

Conclusion. Due to the rapid increase in the number of elderly people as a result of the aging process, its necessary to improve the quality of specialized services in aging and pathology of the elderly, to establish a nationwide rehabilitation hospital and research laboratory that will enable to bring the sector development to the level of developed countries. The modern NGC is now striving

to develop an integral healthcare system for the elderly that effectively integrates healthcare for the elderly with long-term follow-up, home care and palliative care. There is an urgent need to increase the number of doctors and specialists in the field of the elderly and to continuously improve their skills. Solutions are also needed for providing care for the elderly living in rural areas, particularly those with nomadic and seminomadic lifestyles.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

References

1. Renewed 2015-2045 population projection. National Statistical Office of Mongolia. Ulaanbaatar; 2017:1-53.
2. Population statistics news and understanding used. National Statistical Office of Mongolia. Ulaanbaatar; 2017.
3. Oyut-Erdene N. Ageing and development: Views of the Mongolian elderly [Internet]. [cited 2020 Oct 15]:1-28. Available from: https://www.unescap.org/sites/default/files/Oyut-Erdene_Namdaladagva_1.pdf
4. Choinyam B, Duurenjargal S, Munkhbaatar D, et al. Psychology and social some indications in older people. *Journal of Gerontology and Geriatrics*. 2017;2(2):11-14.
5. Dulmaa T, Erdenechimeg B. What is frailty? *Journal of Gerontology and Geriatrics*. 2017;2(2):62-63.
6. Narangerel M, Enkhee T. Factors effecting quality of life in elderly. In: *Journal of Gerontology Ageing and Public health. Proceedings of the VII Symposium*. 2014:16.
7. Bayart B, Dulmaa T, Erdenechimeg B, et al. Necessity of health workers in Gerontology. *Journal of Gerontology and Geriatrics*. 2019;1(3):23-26.
8. World Health Organization. *Health Indicators 2016*. 2016:14-20.
9. Fairbrother R. International Organization for Migration. *Mongolia internal migration study*. 2018:40-70.
10. Woochong Um. *Country Diagnostic study on long-term care in Mongolia [Internet]*.

2020 [cited 2020 Oct 15];11:1-102. Available from:

<https://www.adb.org/sites/default/files/publication/650836/mongolia-country-diagnostic-study-long-term-care.pdf>

11. Bolormaa T. Mongolia: Population Ageing trends, challenges and policy issues [Internet]. 2015 [cited 2020 Oct 15]:1-21. Available from: https://www.unescap.org/sites/default/files/Session1_Ms.Bolormaa_Mongolia.pdf

12. 10 year anniversary of the National Geriatric Center. For the elderly in the aging era. Ulan Bator; 2015:5-60.

13. Enkhbaatar L, Sarangerel D. Development of Gerontology and geriatrics in Mongolia. *Journal of Gerontology and Geriatrics*. 2017;2(2):75-82.

14. Batsereedene B. Order of the Minister of Health of December N 311 "Organization of Gerontology Cabinets for Elderly People" [Internet]. 2007 [cited 2020 Oct 15];12:1-3. Available from: <http://mohs.gov.mn/uploads/files/5feab730beb51939953c8ea599832881.pdf>

15. Resolution of the Government of Mongolia N 209 "On the Establishment of the National Center for Gerontology", 2005 Sep 29. Archive of National Gerontology Center.

16. Order of the Minister of Health No. 279 "Strategy and Structure of the Gerontology

Center", Nov 11, 2005. Archive of National Gerontology Center.

17. Order of the Minister of Health N 226 "Direction and Structure of the National Gerontology Center" [Internet]. 2013 June 25. 2013 [cited 2020 Oct 15]. Available from: <http://mohs.gov.mn/uploads/files/ee8fe71d0e7bc942194a4851923a355b.pdf>

18. Lambaa S. Order N 01 "Nursing Guidance for the Elderly" [Internet]. 2012 [cited 2020 Oct 15]:1-40. Available from: <http://mohs.gov.mn/uploads/files/9292604ed8ad7cc5e3ee813e0f605497.pdf>

19. Altankhuyag N, Udval N. "Healthy ageing, health of elders" National Program [Internet]. 2013 [cited 2020 Oct 15]:1-10. Available from: <http://mohs.gov.mn/uploads/files/e5abf79708ddc9476f5cc6b151ef4aa9.pdf>

20. Oyunkhand R. National Gerontology Center Strategy plan 2017-2020. 2017:1-20.

Received 20 October 2020

Revised 26 December 2020

Accepted 15 January 2021

Information about the author

Sengee Enkhmandal, Neurologist, Ulaanbaatar Songdo Hospital, Ulaanbaatar, Mongolia, E-mail: mandaa0330@yahoo.com, ORCID: 0000-0002-4908-3674.



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-8

УДК 616.127-005.8-053.9:283.14

Рассогласование суточных биоритмов артериального давления и частоты сердечных сокращений у пожилых больных инфарктом миокарда

Ю.А. Лутай 

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», просп. Академика Вернадского, д.4, г. Симферополь, 295007, Российская Федерация
Автор для переписки: Ю.А. Лутай (vitalaxen@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Инфаркт миокарда среди пожилого населения нашей страны является ведущей причиной инвалидизации и смертности. В развитии инфаркта миокарда в настоящее время важная роль отводится десинхронизации циркадианных ритмов гемодинамики. **Цель исследования:** Анализ рассогласования суточных биоритмов артериального давления и частоты сердечных сокращений у пожилых больных инфарктом миокарда. **Материалы и методы:** Проведено обследование 118 больных инфарктом миокарда в возрасте 60-74 года. Диагностика заболевания осуществлялась на основе симптомов острой ишемии миокарда, ишемических изменений ЭКГ, патологического зубца Q, потери жизнеспособности миокарда на методах визуализации. Суточное мониторирование артериального давления проводилось аппаратом «SpaceLabsMedical» в течение 50-75 часов, по данным которого рассчитывались хронобиологические показатели: акрофаза, ортофаза, период и амплитуда биоритмов. **Результаты:** Установлены достоверные различия в продолжительности периода, времени наступления акрофазы и ортофазы у больных инфарктом миокарда для циркадианных ритмов систолического и диастолического артериального давления, свидетельствующие о наличии десинхроноза. Рассогласование биоритмов выявлено также между пульсовым артериальным давлением, частотой сердечных сокращений с систолическим и диастолическим артериальным давлением. Рассогласование в большей степени свойственно акрофазе и периоду рассматриваемых гемодинамических составляющих. **Заключение:** Выявленные закономерности рассогласования хронобиологических параметров гемодинамики у пожилых больных инфарктом миокарда необходимо учитывать при назначении лекарственных препаратов.

Ключевые слова: инфаркт миокарда; десинхронизация; биоритмы гемодинамики; пожилые

Для цитирования: Лутай ЮА. Рассогласование суточных биоритмов артериального давления и частоты сердечных сокращений у пожилых больных инфарктом миокарда. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(1):80-85. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-8

Mismatch of daily biorhythms of blood pressure and heart rate in elderly patients with myocardial infarction

Yulia A. Lutai 

V.I. Vernadsky Crimean Federal University,
4 Vernadsky Ave., Simferopol, 295007, Russia
Corresponding author: Yulia A. Lutai (vitalaxen@mail.ru)

Abstract

Background: Myocardial infarction in the elderly population of our country is a leading cause of disability and mortality. In the development of myocardial infarction, an important role is given to desynchronization of circadian hemodynamic rhythms. **The aim of the study:** To analyze the mismatch of daily biorhythms of blood pressure and heart rate in elderly patients with myocardial infarction. **Materials and methods:** A survey of 118 patients with myocardial infarction aged 60-74 years. The diagnostics of the disease was carried out on the basis of symptoms of acute myocardial ischemia, ischemic ECG changes, pathological Q wave, loss of myocardial viability, using imaging methods. Daily monitoring of blood pressure was carried out by the «SpaceLabsMedical» apparatus for 50-75 hours, according to which chronobiological indicators were calculated: acrophase, orthophase, period and amplitude of biorhythms. **Results:** Significant differences were found in the duration of the period, the time of onset of acrophase and orthophase in patients with myocardial infarction for circadian rhythms of systolic and diastolic blood pressure, indicating the presence of desynchronization. Mismatch of biorhythms was also revealed between pulse blood pressure, heart rate with systolic and diastolic blood pressure. Mismatch is more characteristic of acrophase and the period of the hemodynamic components under consideration. **Conclusion:** The revealed patterns of mismatch of the chronobiological hemodynamic parameters in elderly patients with myocardial infarction should be considered when prescribing drugs.

Keywords: myocardial infarction; desynchronization; hemodynamic biorhythms; elderly

For citation: Lutai YA. Mismatch of daily biorhythms of blood pressure and heart rate in elderly patients with myocardial infarction. Research Results in Biomedicine. 2021;7(1):80-85. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-8

Введение. На протяжении последних лет во многих странах Европы происходит неуклонное снижение заболеваемости инфарктом миокарда (ИМ). Так, в Нидерланд

дах уровень названной патологии достоверно снизился с 620 до 380 случаев на 100000 населения [1]. Аналогичные тенденции наблюдаются в Дании, Англии,

Италии [2]. В России заболеваемость ИМ остаётся высокой и ежегодно регистрируется более 120000 подтверждённых случаев ИМ и 500000 новых случаев острого коронарного синдрома [3].

Одним из патологических механизмов развития ИМ считается рассогласование циркадианных ритмов гемодинамики [4, 5]. При этом особый научный и практический интерес представляет десинхронизация суточных ритмов артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС) [6]. Вместе с тем изучение данных процессов с хронобиологических позиций у пациентов с ИМ проводится крайне редко.

Цель исследования. Анализ рассогласования суточных биоритмов АД и ЧСС у пожилых больных ИМ.

Материалы и методы исследования. В клинических условиях проведено обследование 118 больных ИМ в возрасте 60-74 года. Диагноз ИМ устанавливался на основе данных острой ишемии миокарда и с обнаружением подъема и/или падения значений сердечных тропонинов, где как минимум одно значение будет выше 99-й перцентели верхней границы нормы и имеется как минимум одно из следующего:

- симптомы ишемического миокарда,

- нововыявленные ишемические изменения на ЭКГ,
- развитие патологического зубца Q,
- наличие на методах визуализации данных за нововыявленную потерю жизнеспособности миокарда, либо нововыявленное нарушение региональной подвижности стенок по типу, характерному для ишемической этиологии,
- выявление коронарного тромба на ангиографии.

Больным ИМ проводилось суточное мониторирование АД (СМАД) в течение 50-75 часов аппаратом «SpaceLabsMedical» с расчётом общепринятых при хронобиологическом анализе показателей отдельно для систолического, диастолического, пульсового АД и ЧСС: период ритма, акрофаза, ортофаза и амплитуда [6].

При статистической обработке применялся критерий Т-Уайта и χ^2 .

Результаты и их обсуждение. Изучение хронобиологических показателей систолического и диастолического АД у больных ИМ по данным СМАД выявило наличие статистически значимых различий по всем параметрам (табл.1). Наибольшая разница установлена для величины амплитуды систолического и диастолического АД.

Таблица 1

Параметры суточных биоритмов систолического и диастолического АД у пациентов с ИМ в пожилом возрасте (M±m)

Table 1

Parameters of daily biorhythms of systolic and diastolic blood pressure in elderly patients with MI (M±m)

Название показателей ритма	Систолическое АД	Диастолическое АД	P
Период, час	21,3±0,4	24,8±0,9	<0,001
Акрофаза, час	20,1±0,5	16,4±0,7	<0,001
Амплитуда, мм.рт.ст.	18,6±1,1	9,3±0,6	<0,001
Ортофаза, час	9,7±0,5	6,8±0,7	<0,01

Различной оказалась продолжительность периодов для данных характеристик гемодинамики – они имели достоверную разницу с большей продолжительностью для периода диастолического АД. Акрофазы и ортофазы как систолического, так и диастолического АД не совпадали во времени. Время их наступления в циркадиан-

ном ритме систолического и диастолического АД являлось различным. Кроме того, акрофаза систолического АД приходилась на вечернее время, а диастолического АД – на дневные часы. Указанные нарушения в суточных ритмах систолического и диастолического АД однозначно свидетельствуют о рассогласовании параметров этих

гемодинамических составляющих в течение суток и явлении десинхроза у больных ИМ пожилого возраста.

Хронобиологический анализ пульсового АД и ЧСС по основным параметрам биоритмов выявил, что у пожилых больных ИМ период пульсового АД имеет про-

должительность, превышающую 24 часа (табл. 2). Акрофазы пульсового АД и ЧСС не совпадают, имеется рассогласование во времени на 3,7 часа ($P < 0,001$). Ортофазы суточных ритмов пульсового АД и ЧСС также рассогласованы, но в меньшей степени, чем их акрофазы.

Таблица 2

Параметры суточных биоритмов пульсового АД и ЧСС у пациентов с ИМ в пожилом возрасте ($M \pm m$)

Table 2

Parameters of daily biorhythms of pulse blood pressure and heart rate in elderly patients with MI ($M \pm m$)

Название показателя ритма	Пульсовое АД	ЧСС	P
Период, час (сек. для ЧСС)	25,6±0,7	0,82±0,07	-
Акрофаза, час	22,4±0,4	18,7±0,6	<0,001
Амплитуда, мм.рт.ст. (уд/мин для ЧСС)	31,8±2,4	8,5±0,9	-
Ортофаза, час	6,5±0,3	4,2±0,2	<0,001

В сравнении с циркадианными ритмами систолического АД, диастолического АД (табл. 1) показатели биоритмов пульсового АД и ЧСС (табл. 2) характеризуется наличием явного десинхроза. Достаточно обратить внимание на статически значимые различия продолжительности периода данных биоритмов гемодинамики. Рассогласование циркадианных ритмов систолического, диастолического, пульсового АД и ЧСС проявляется в различии времени наступления акрофаз. Следовательно, десинхронизация циркадианных ритмов гемодинамики у больных ИМ пожилого возраста является значимым фактором риска развития данной патологии.

Известно, что возникновение ИМ и некоторых других кардиоваскулярных заболеваний происходит в определенное время суток [7]. В течение суток изменяются такие параметры как ЧСС и АД, которые у большинства людей снижены ночью и достигают максимума в утренние часы. Однако у некоторых людей эти показатели повышаются в ночные часы, вызывая развитие ИМ и инсульта [8]. В нашем исследовании установлено, что максимальное достижение акрофазы систолического, диастолического и пульсового АД приходится на вечернее и ночное время.

Фазовое рассогласование суточных ритмов АД и ЧСС по данным хронобиологического анализа имеется у больных АГ, работающих вахтовым методом в условиях Крайнего Севера [9]. Это проявляется уменьшением амплитуд, процентных вкладов и достоверности циркадианных ритмов АД на фоне усиления высокочастотного и низкодифференцируемого диапазона спектра хронотипа человека.

В некоторых современных исследованиях показана тесная взаимосвязь между регуляцией циркадианных ритмов АД с другими координирующими структурами организма [10]. Установлены циркадианные ритмы углеводов, белков и жиров, в регуляции которых способна участвовать система миокарда [4]. Это свидетельствует о том, что циркадианные ритмы метаболических процессов в миокарде, АД, сократительной функции миокарда находятся под влиянием осцилляторов (регулирующих структур) сердечно-сосудистой системы.

Заключение. У больных ИМ пожилого возраста наблюдается десинхронизация циркадианных ритмов систолического, диастолического, пульсового АД и ЧСС по всем хронобиологическим параметрам. Особенно существенные рассогласования характерны для периода и акрофазы цир-

кадианных ритмов гемодинамики больных ИМ, которые следует считать важными патогенетическими факторами данного заболевания.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Koopman C, Bots ML, Van Oeffelen AAM, et al. Population trends and inequalities in incidence and short-term outcome of acute myocardial infarction between 1998 and 2007. *International Journal of Cardiology*. 2013;168(2):993-998. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.10.036>

2. Koch MB, Davidsen M, Andersen LV, et al. Increasing prevalence despite decreasing incidence of ischaemic heart disease and myocardial infarction. A national register based perspective in Denmark, 1980–2009. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2015;22(2):189-195. DOI: <https://doi.org/10.1177/2047487313509495>

3. *Здравоохранение в России. 2015: статистический сборник*. М.: Росстат; 2017.

4. Панченко АВ, Губарева ЕА, Анисимов ВН. Роль циркадианных ритмов и «клеточных часов» в развитии заболеваний, ассоциированных с возрастом. *Успехи геронтологии*. 2016;29(3):417-423.

5. Gubin DG, Gubin GD, Gapon LI, et al. Daily melatonin administration attenuates age-dependent disturbances of cardiovascular rhythms. *Current Aging Science*. 2016;9(1):5-13.

6. Шуркевич НП, Ветошкин АС, Гапон ЛИ, и др. Прогностическая значимость нарушений хронотипа суточного ритма артериального давления у нормотензивных лиц в условиях вахты на Крайнем Севере. *Артериальная гипертензия*. 2017;23(1):36-46. DOI: <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2017-23-1-36-46>.

7. Лукьянов ММ, Бойцов СА, Якушин СС, и др. Сочетанные сердечно-сосудистые заболевания и антигипертензивное лечение у больных артериальной гипертензией в амбулаторно-поликлинической практике (по данным Регистра РЕКВАЗА). *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2016;12(1):4-15. DOI: <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2016-12-1-4-15>

8. Stranges PM, Drew AM, Rafferty P, et al. Treatment of Hypertension With Chronotherapy: Is It Time of Drug Administration? *Annals of Pharmacotherapy*. 2015;49(3):323-334. DOI: <https://doi.org/10.1177/1060028014563535>

9. Шуркевич НП, Ветошкин АС, Губин ДГ, и др. Преимущества персонализированного подхода к хронотерапии артериальной гипертензии у вахтовиков Ямала. *Артериальная гипертензия*. 2016;22(1):6-14. DOI: <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2016-22-1-6-14>

10. Bendersky M. Chronotherapy in arterial hypertension. *Hypertension and Vascular Risk*. 2015;32(3):119-124. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hipert.2015.04.001>

References

1. Koopman C, Bots ML, Van Oeffelen AAM, et al. Population trends and inequalities in incidence and short-term outcome of acute myocardial infarction between 1998 and 2007. *International Journal of Cardiology*. 2013;168(2):993-998. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.10.036>

2. Koch MB, Davidsen M, Andersen LV, et al. Increasing prevalence despite decreasing incidence of ischaemic heart disease and myocardial infarction. A national register based perspective in Denmark, 1980–2009. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2015;22(2):189-195. DOI: <https://doi.org/10.1177/2047487313509495>

3. *Healthcare in Russia. 2015: statistical collection*. Moscow: Rosstat; 2017. Russian.

4. Panchenko AV, Gubareva EA, Anisimov VN. The role of circadian rhythms and cellular clock in aging-related diseases. *Advances in Gerontology*. 2016;29(3):417-423. Russian.

5. Gubin DG, Gubin GD, Gapon LI, et al. Daily melatonin administration attenuates age-dependent disturbances of cardiovascular rhythms. *Current Aging Science*. 2016;9(1):5-13.

6. Shurkevich NP, Vetoshkin AS, Gapon LI, et al. Prognostic value of blood pressure circadian rhythm disturbances in normotensive shift

workers of the Arctic Polar region. "Arterial'naya Gipertenziya" (Arterial Hypertension). 2017;23(1):36-46. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2017-23-1-36-46>

7. Loukianov MM, Boytsov SA, Yakushin SS, et al. Concomitant cardiovascular diseases and antihypertensive treatment in outpatient practice (by the RECVASA Registry data). Rational Pharmacotherapy in Cardiology. 2016;12(1):4-15. Russian. DOI: <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2016-12-1-4-15>

8. Stranges PM, Drew AM, Rafferty P, et al. Treatment of Hypertension With Chronotherapy: Is It Time of Drug Administration? Annals of Pharmacotherapy. 2015;49(3):323-334. DOI: <https://doi.org/10.1177/1060028014563535>

9. Shurkevich NP, Vetoshkin AS, Gubin DG, et al. Advantages of an individual approach to chronotherapy in Yamal hypertensive shift workers. "Arterial'naya Gipertenziya" (Arterial Hypertension). 2016;22(1):6-14. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2016-22-1-6-14>

10. Bendersky M. Chronotherapy in arterial hypertension. Hypertension and Vascular Risk. 2015;32(3):119-124. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hipert.2015.04.001>

Статья поступила в редакцию 3 марта 2020 г.
Поступила после доработки 25 сентября 2020 г.

Принята к печати 9 ноября 2020 г.

Received 3 March 2020

Revised 25 September 2020

Accepted 9 November 2020

Информация об авторе

Юлия Александровна Лутай, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры терапии, гастроэнтерологии, кардиологии и общей врачебной практики (семейной медицины) Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», г. Симферополь, Российская Федерация, E-mail: 25u@rambler.ru, ORCID: 0000-0003-1318-1069.

Information about the author

Yulia A. Lutai, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Therapy, Gastroenterology, Cardiology and General Practice (Family Medicine), S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia, E-mail: 25u@rambler.ru, ORCID: 0000-0003-1318-1069.



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-9

УДК 618.396:618.346:612.014.464:612.015.1

Индукцированные преждевременные роды: оценка оксидативного статуса, матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в амниотической жидкости

О.В. Ремнёва¹ , Ю.В. Кореновский¹ , Н.М. Ховалыг² , О.В. Колядо¹ 

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет», пр. Ленина, д. 40, г. Барнаул, 656038, Российская Федерация

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Тыва «Перинатальный центр Республики Тыва», ул. Оюна Курседи, д.159а, г. Кызыл, 667003, Российская Федерация
Автор для переписки: О.В. Ремнёва (rolmed@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: Гипоксически-ишемические поражения центральной нервной системы - наиболее часто регистрируемая патология у детей до 1 года. Переход на новые критерии живорождения привел к совершенствованию перинатальных технологий и связанной с этим высокой неврологической заболеваемостью выживших глубоко недоношенных новорожденных. **Цель исследования:** Оценить уровень оксидативного стресса, активность системы матриксных металлопротеиназ (ММП-1 и ММП-9) и их тканевого ингибитора (ТИМП-1) в амниотической жидкости недоношенных плодов с низкой массой тела при абдоминальном родоразрешении. **Материалы и методы:** В исследование были включены 142 женщины, 102 из которых были родоразрешены абдоминальным путем на сроке 28-33,6 недель беременности в связи с критическими акушерскими и/или перинатальными состояниями (основная группа). Группу сравнения составили 30 пациенток со срочными абдоминальными родами по плановым акушерским показаниям. У 32 плодов основной группы и 30 плодов группы сравнения в амниотической жидкости определяли концентрацию тиобарбитурат-реактивных продуктов (ТБРП) фотометрическим методом на спектрофотометре КФК-3 при длине волны 532 нм по изменению оптической плотности, обусловленной окраской комплексом малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой в соотношении 1:2. Определение концентраций ММП и их тканевых ингибиторов проводили иммуноферментным методом с помощью вертикального фотометра Multiscan на длине волны 450 нм. **Результаты:** Основными показаниями к абдоминальным преждевременным родам являются тяжелая преэклампсия (38,2%), плацентарная недостаточность (24,5%), преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (ПОНРП-17,6%). Тяжелая церебральная ишемия чаще ($p < 0,05$) диагностируется у недоношенных

детей после родоразрешения по поводу прогрессирующей гипоксии плода (48,9%) и ПОНРП (26,7%), а легкая/средняя степень – после тяжелой преэклампсии (54,4%). В амниотической жидкости плодов основной группы, забранной сразу после разреза на матке, концентрация ТБРП, ММП-9, соотношение ММП/ТИМП-1 были достоверно выше, а ТИМП-1 - ниже, чем в группе сравнения. **Заключение:** Выраженность антенатальной гипоксии плодов, досрочно извлеченных абдоминальным путем по акушерским показаниям, подтверждается наличием оксидативного стресса, высокой активностью фермента, разрушающего коллаген IV типа, и угнетением функции тканевых ингибиторов ММП в амниотической жидкости.

Ключевые слова: преждевременные роды; амниотическая жидкость; матриксные металлопротеиназы; оксидативный стресс

Для цитирования: Ремнёва ОВ, Кореновский ЮВ, Ховалыг НМ, и др. Индуцированные преждевременные роды: оценка оксидативного статуса, матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в амниотической жидкости. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(1):86-95. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-9

Induced preterm birth: evaluation of oxidative status, matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in amniotic fluid

Olga V. Remneva¹ , Yuri V. Korenovsky¹ , Nellya M. Hovalyg² ,
Olga V. Kolyado¹ 

¹ Altai State Medical University,
40 Lenin St., Barnaul, 656038, Russia

² Perinatal Centre of Tyva Republic,
159a Oyun-Kursedi St., Kyzyl, 667003, Russia

Corresponding author: Olga V. Remneva (rolmed@yandex.ru)

Abstract

Background: Hypoxic brain injury is the most common pathology in newborns. New criteria of viability and progress of perinatal technologies results in high neurological morbidity of surviving very early preterm infants. **The aim of the study:** To assess the level of oxidative stress, the activity of the system of matrix metalloproteinases (MMP-1 and MMP-9) and their tissue inhibitor (TIMP-1) in the amniotic fluid of low birth weight premature newborns after abdominal delivery. **Materials and methods:** The study included 142 women, 102 of whom were delivered by caesarian section within 28-33.6 weeks of gestation because of severe obstetric and/or perinatal complications (main group). The comparison group comprised 30 patients with term abdominal delivery, for obstetric indications. In 32 women of the main group and 30 of the comparison group the concentration of thiobarbitate-reactive products (TBRP) in amniotic fluid was determined by the photometric method on the KFC-3 spectrophotometer at 532 nm wavelength by changing the optical density, due to the coloring complex of the malone dialdehyde (MDA) with thiobarbitic acid

in a ratio of 1:2. The concentrations of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors were determined by immunofluorescence with the vertical photometer Multi-scan at 450 nm wavelength. **Results:** The main indications for induced abdominal delivery are severe pre-eclampsia (38.2%), progress of placental insufficiency (24.5%), placental abruption (17.6%). In premature newborns, severe cerebral ischemia ($p < 0.05$) is more commonly diagnosed after delivery induced for progressive fetal hypoxia (48.9%), and placental abruption (26.7%), while mild/medium cerebral ischemia is diagnosed after delivery for severe pre-eclampsia (54.4%). In the amniotic fluid of premature infants taken immediately after delivery, the concentration of TBRP, MMP-9, and the MMP/TIMP-1 level was significantly higher and the TIMP-1 level was lower than that in newborns after term abdominal birth. **Conclusion:** The obtained results demonstrate that premature infants, delivered by caesarian section for maternal indications, underwent antenatal hypoxia induced by life-threatening situations in the functional system «mother-placenta-fetus», which is confirmed by the presence of oxidative stress, the high activity of the enzymes destroying collagen type IV and low level of tissue inhibitors of matrix metalloproteinases.

Keywords: preterm delivery; amniotic fluid; matrix metalloproteinases; oxidative stress

For citation: Remneva OV, Korenovsky YV, Hovalyg NM, et al. Induced preterm birth: evaluation of oxidative status, matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in amniotic fluid. Research Results in Biomedicine. 2021;7(1):86-95. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-9

Введение. Досрочное родоразрешение по медицинским показаниям со стороны матери и/или плода в современном акушерстве является основным путем снижения материнской и перинатальной смертности. Его частота неуклонно растет в структуре всех преждевременных родов и составляет в среднем 30% [1, 2, 3]. Индуцированные преждевременные роды по медицинским показаниям чаще всего являются абдоминальными. Они проводятся в ситуациях, требующих завершения беременности при жизнеугрожающих состояниях матери и/или плода [4-7]. При щадящем оперативном родоразрешении по показаниям со стороны плода гибель детей снижается, но имеются серьезные нарушения постнатальной адаптации [8, 9]. В условиях дефицита кислорода и ввиду анатомо-физиологических особенностей у недоношенных новорожденных часто встречаются различные перинатальные повреждения, преимущественно цереброваскулярные нарушения. Ишемизация нервной ткани приводит к активации процессов пе-

рексисного окисления липидов и повышению образования свободных радикалов [10, 11].

В последние годы патогенез повреждения мозга при перинатальной гипоксии связывают с дисфункцией внеклеточного матрикса, поскольку он менее защищен от оксидативного повреждения, чем клетки [12, 13]. Под воздействием патологических форм кислорода увеличивается активность матриксных металлопротеиназ (ММП) – протеолитических ферментов, основная роль которых заключается в деградации соединительно-тканного матрикса тканей, что приводит к образованию структурных тканевых дефектов и развитию воспаления [14, 15, 16]. Концентрация ММП и их тканевых ингибиторов увеличивается прямо пропорционально тяжести возникших нарушений [17, 18, 19].

Поиск ранних маркеров повреждения головного мозга и путей защиты от патогенных агентов признаны приоритетным направлением медицинской науки по снижению смертности и инвалидизации детей,

родившихся с низкой и очень низкой массой тела.

Цель исследования. Оценка оксидативного статуса, концентрации матричных металлопротеиназ-1,9 и их тканевых ингибиторов в амниотической жидкости плодов с низкой массой тела при досрочном абдоминальном родоразрешении.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 142 женщины, которые были разделены на две группы. Основную группу составили 102 женщины, родоразрешенные путем операции кесарева сечения на сроке 28-33,6 недель беременности в интересах матери и/или плода. *Критерии исключения:* антенатальная гибель плода, врожденные пороки развития плода, многоплодная беременность. Группу сравнения составили 30 пациенток, не имевших тяжелых акушерских и перинатальных осложнений, которые были родоразрешены абдоминальным путем в доношенном сроке гестации по акушерским показаниям (рубец на матке, отягощенный акушерско-гинекологический анамнез).

Для оценки оксидативного статуса, концентрации ММП-1, ММП-9 и их тканевых ингибиторов (ТИМП-1) у 64 женщин производился забор образцов амниотической жидкости после разреза на матке при абдоминальном родоразрешении путем амниотомии. Амниотическую жидкость в объеме 5 мл забирали в стерильную пробирку иглой для проведения спинальной пункции и добавляли гепаринат лития (14 ЕД/мл). Образцы центрифугировали при 3000 об/мин (1200 g) в течение 15 минут и в супернатанте определяли концентрацию тиобарбитурат-реактивных продуктов (ТБРП) фотометрическим методом на спектрофотометре КФК-3 при длине волны 532 нм. Концентрация ТБРП оценивалась по изменению оптической плотности, обусловленной окраской комплексом малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой в соотношении 1:2 с по-

мощью набора реактивов фирмы Zep-toMetrix Corporation (США) кат. № 0801192. Концентрацию матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов определяли набором реактивов фирмы Ray Biotech (США), кат. №ELH-MMP9-001 иммуноферментным методом (чувствительность 10 пг/мл) с помощью вертикального фотометра Multiscan фирмы Labsystem (Финляндия) на длине волны 450 нм [20].

Сбор образцов амниотической жидкости проводили на базе КГБУЗ "Перинатальный центр (клинический) Алтайского края" (Барнаул) в соответствии с рекомендациями и требованиями этического комитета. Все пациентки подписали добровольное информированное согласие на забор биологического материала.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием электронных таблиц Microsoft Excel и пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics. Сравнение количественных величин в двух независимых группах проводилось с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Полученные данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля). Качественные характеристики оценивались при помощи критерия χ^2 . Для построения математической модели прогнозирования степени тяжести церебральной ишемии у новорожденных с выведением линейных уравнений использовался пошаговый дискриминантный анализ. Критический уровень значимости (p) принимался при значении менее 0,05.

Результаты и их обсуждение. Индуцированные преждевременные роды путем операции кесарева сечения проведены у пациенток основной группы по показаниям со стороны матери – в 70 (68,6%) случаях, со стороны плода – в 32 (31,4%) случаях. Спектр показаний к оперативному родоразрешению представлен на рисунке 1.

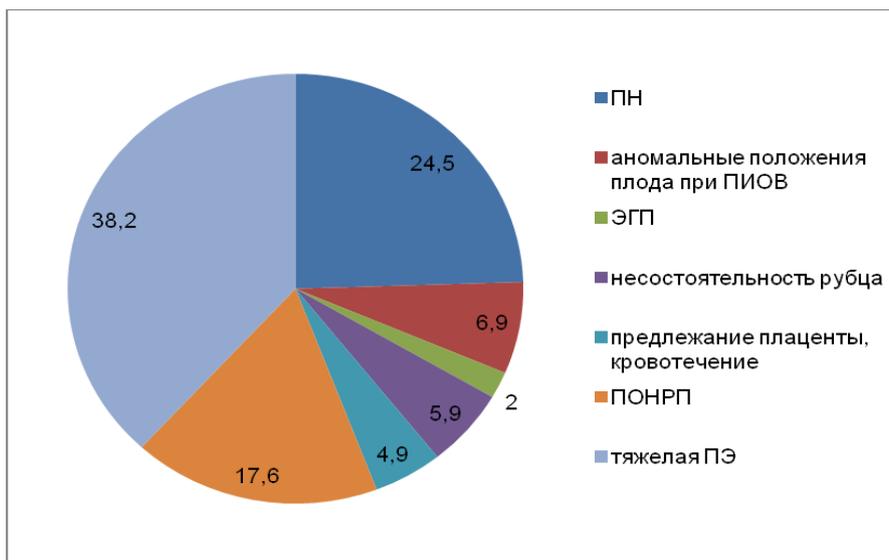


Рис. 1. Спектр показаний к индуцированным преждевременным родам путем операции кесарева сечения (%)

Fig. 1. Spectrum of indications for induced premature birth by cesarean section (%)

Как видно из рисунка 1, основным показанием к досрочному родоразрешению явилась тяжелая преэклампсия (38,2%), в каждом четвертом случае – прогрессирующая плацентарная недостаточность, на третьем месте (17,6%) – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (ПОНРП).

У всех 102 недоношенных новорож-

денных была выявлена церебральная ишемия гипоксически-ишемического генеза, причем у 44,1% – тяжелой степени, которая сочеталась с респираторным дистресс – синдромом. Показания к оперативному родоразрешению у пациенток основной группы в зависимости от степени тяжести церебральной ишемии (ЦИ) новорожденных представлены на рисунке 2.

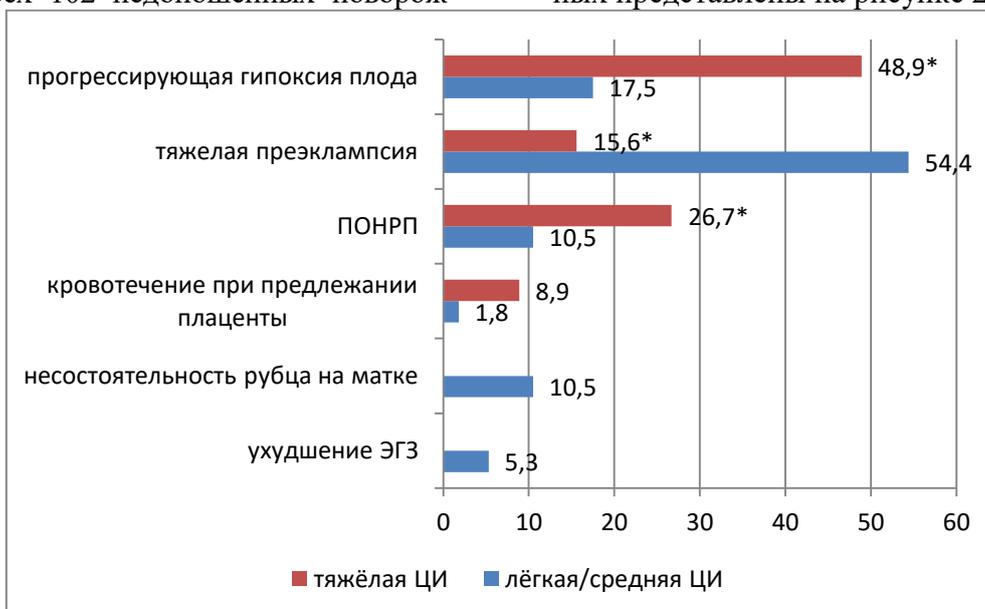


Рис. 2. Показания к операции кесарева сечения со стороны матери с учетом степени тяжести церебральной ишемии новорожденного (%)

Fig. 2. Indications for cesarean section on the mother's side, taking into account the severity of cerebral ischemia of the newborn (%)

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к легкой/средней ЦИ

Note: * $p < 0.05$ relative to light / medium CI

Как видно из рисунка 2, тяжелая ЦИ чаще диагностировалась у недоношенных новорожденных после оперативного родоразрешения по поводу состояний, обусловленных острой и хронической плацентарной дисфункцией - преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты ($p=0,03$) и прогрессирующей внутриутробной гипоксии плода ($p<0,001$). Напротив, легкая и средняя степень тяжести ЦИ чаще отмечались у детей, матери которых были родоразрешены досрочно в связи с тяжелой преэклампсией ($p<0,001$). При родоразрешении по поводу ухудшения течения экстрагенитальных заболеваний (ЭГЗ) и несостоятельности рубца на матке случаев тяжелой ЦИ у недоношенных новорожденных не зарегистрировано.

Концентрация ТБРП в амниотической жидкости, забранной до начала родовой деятельности сразу после разреза нижнего маточного сегмента у пациенток с индуцированными преждевременными родами, была значимо выше по сравнению с таковой в группе сравнения: $14,1\pm 2,7$ и $3,9\pm 0,9$ нмоль/мл ($p<0,001$), что отражает активацию процессов перекисного окисления липидов у плодов, матери которых были родоразрешены досрочно в связи с тяжелыми акушерскими осложнениями со стороны беременной и/или плода.

Концентрация ММП-1,9 и их тканевых ингибиторов (ТИМП-1) в амниотической жидкости недоношенных плодов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Концентрация матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в амниотической жидкости при индуцированных преждевременных родах

Table 1

Concentration of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in amniotic fluid in induced preterm birth

Маркер	Основная группа n=32 Me [25-75%]	Группа сравнения n=30 Me [25-75%]	P
ММП-1, нг/мл	14,35 [3,82-46,6]	11,01 [7,85-16,79]	0,48
ММП-9, нг/мл	191,84 [82,24-279,03]	129,59 [52,25-230,43]	0,05
ТИМП-1, нг/мл	3,43 [1,33-6,58]	8,91 [6,78-16,45]	<0,001
ММП-1/ТИМП-1	4,13	1,23	<0,001
ММП-9/ТИМП-1	55,91	17,9	<0,001

Известно, что ММП-9 является ключевым ферментом, разрушающим коллаген IV типа – основной компонент гематоэнцефалического барьера головного мозга плода и новорожденного [15, 17, 18]. Как видно из таблицы 1, активность ММП-9 в амниотической жидкости недоношенных плодов, забранной сразу после разреза на матке у пациенток без родовой деятельности, была выше, чем у доношенных плодов группы сравнения, что сопровождалось достоверным угнетением функции ТИМП-1 и более высоким соотношением ММП-1,9 /ТИМП-1 ($p<0,05$).

Для автоматизированного установления диагноза тяжелой ЦИ, по данным проведенных комплексных исследований у недоношенных новорожденных, нами применен пошаговый дискриминантный анализ. В результате была получена матрица классификаций для обучающей выборки новорожденных с различной степенью тяжести церебральной ишемии, родившихся оперативным путем. Общая точность классификации составила 81,6%, что можно считать отличным результатом (>80%): 69,2% – доля правильных классификаций для детей с тяжелой ЦИ и 88,0% – с легкой и средней ЦИ.

Таблица 2

Функции классификации тяжелой церебральной ишемии новорожденных при индуцированных преждевременных родах

Table 2

Classification functions of severe cerebral ischemia of newborns in induced preterm birth

Предикторы	Класс 0	Класс 1	T	P
Свободный член	-10,29	-17,25	5,76	0,000
ММП-9	0,064	0,082	-3,64	0,001

Примечание: класс 0 – легкая и средняя ЦИ; класс 1 – тяжелая ЦИ
Note: class 0 – light and medium CI; class 1 – heavy CI

Были составлены два линейных уравнения дискриминантных функций для прогнозирования степени тяжести ЦИ недоношенных новорожденных, подставив в каждое из которых значения ММП-9, можно отнести новорожденного к одной из двух групп, соответствующей наибольшему значению функции с вероятностью 81,6%.

Классификационные уравнения дискриминантных функций:

$$D_0 \text{ (легкая и средняя ЦИ)} = -10,29 + 0,064 \times \text{ММП9}$$

$$D_1 \text{ (тяжелая ЦИ)} = -17,25 + 0,082 \times \text{ММП9}$$

Заключение. Таким образом, у плодов от матерей, преждевременно родоразрешенных абдоминальным путем в связи с жизнеугрожающими состояниями, имеет место оксидативный стресс. Тяжесть перенесенной антенатальной гипоксии подтверждается высокой активностью тиобарбитурат-реактивного продукта – малонового диальдегида и фермента, разрушающего коллаген IV типа – матриксной металлопротеиназы-9 по сравнению с плодами при срочных плановых абдоминальных родах. Снижение концентрации тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ, являющихся основным компонентом гематоэнцефалического барьера мозга плода, можно расценить как угнетение их функции в условиях выраженной гипоксии/ишемии при плацентарной недостаточности, сопровождающей все тяжелые акушерские осложнения.

Прогностический расчет степени тяжести церебральной ишемии в амниотической жидкости плодов при досрочном аб-

доминальном родоразрешении позволяет заблаговременно разработать тактику ведения недоношенных новорожденных, включая реабилитационные мероприятия.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Радзинский ВЕ, Краснопольский ВИ, Логутова ЛС. Кесарево сечение. Проблемы абдоминального акушерства. Руководство для врачей. Санкт-Петербург: СИМК; 2018.
2. Betran AP, Ye J, Moller AB, et al. The increasing trend in caesarean section rates: global, regional and national estimates: 1990-2014. PLoS One. 2016;11(2):e0148343. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148343>
3. Visser GHA, Ayres-de-Campos D, Barnea ER, et al. FIGO position paper: how to stop the caesarean section epidemic. The Lancet. 2018;392(10155):1286-1287. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32113-5.3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32113-5.3)
4. Сарбасова АЕ, Синчихин СП, Мамиев ОБ, и др. Кесарево сечение в современном акушерстве: эпидемиология, значение для предупреждения акушерской и перинатальной патологии, осложнения. Астраханский медицинский журнал. 2016;2(11):57-63.

5. Белоусова ВС, Стрижаков АН, Сви-
тич ОА, и др. Преждевременные роды: причи-
ны, патогенез, тактика. Акушерство и гинеко-
логия. 2020;2:82-87. DOI:
<https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.2.82-87>

6. WHO. Statement on Caesarean Section
Rates. Geneva: World Health Organization [Inter-
net]. 2015 [cited 2020 May 18]. URL:
http://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal_perinatal_health/cs-statement/en/

7. Зиядинов АА, Сулима АН, Рыбалка
АН. Причины кесарева сечения при прежде-
временных родах. Таврический медико-
биологический вестник. 2015;18(1(69)):44-47.

8. Хузиханов ФВ, Шаяхметова РР, Ва-
лиев РИ. Влияние различных факторов на
формирование заболеваний у детей, рожден-
ных путем операции кесарева сечения [Элек-
тронный ресурс]. Современные проблемы
науки и образования. 2016 [дата обращения
18.05.2020];4. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=25086>

9. Холодова ИН, Зайденварг ГЕ, Горай-
нова АН. Дети после кесарева сечения: как
улучшить их адаптацию и уменьшить риск
развития патологических состояний. Меди-
цинский Совет. 2019;11:16-22. DOI:
<https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-11-16-22>

10. Доброхотова ЮЭ, Керчелаева СБ,
Кузнецова ОВ, и др. Преждевременные роды:
анализ перинатальных исходов. РМЖ. Мать и
дитя. 2015;20:12-20.

11. Умарова ЛН. Перинатальные факто-
ры риска рождения недоношенных детей с
очень низкой и экстремально низкой массой
тела. Медицинские новости. 2016;12:81-82.

12. Hirono J, Sanaki H, Kitada K, et al. Ex-
pression of tissue inhibitor of metalloproteinases
and matrix metalloproteinases in the ischemic
brain of photothrombosis model mice. Neu-
roReport. 2018;29(3):174-180(7). DOI:
<https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000946>

13. De Luca C, Papa M. Matrix Metallopro-
teinases, Neural Extracellular Matrix, and Central
Nervous System Pathology. Progress in Molecular
Biology and Translational Science. 2017;148:167-
202. DOI:
<https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.04.002>

14. Swarnakar S, Jana S. Matrix Metallopro-
teinases. In: Choi S, editor. Encyclopedia of Sig-
naling Molecules, 2nd edition. Switzerland:
Springer, Cham; 2018:3005-3013. DOI:
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-67199-4>

15. Шадрина АС, Терешкина ИВ, Плиева
ЯЗ, и др. Матриксные металлопротеиназы:
структура, функции и генетический полимор-
физм. Патогенез. 2017;15(2):14-23.

16. Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical
and Biological Attributes of Matrix Metallopro-
teinases. Progress in Molecular Biology and
Translational Science. 2017;147:25-29. DOI:
<https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>

17. Малинина ЕИ, Чернышева ТВ, Рыч-
кова ОА, и др. Концентрация матриксных ме-
таллопротеиназ – 2,9 у новорожденных с пе-
ринатальной гипоксией [Электронный ре-
сурс]. Современные проблемы науки и обра-
зования. 2019 [дата обращения: 18.05.2020];2.
DOI: <https://doi.org/10.17513/spno.28636> URL:
<http://science-education.ru/ru/article/view?id=28636>

18. Чугунова ТН, Кореновский ЮВ, Ло-
банов ЮФ. Матриксные металлопротеиназы у
новорожденных детей с гипоксическим пора-
жением центральной нервной системы. Врач-
аспирант. 2016;1:188-194.

19. Das S, Bandopadhyay S, Das S. Insights
into the Role of Matrix Metalloproteinases and
Tissue Inhibitor of Metalloproteinases in Health
and Disease. Current Chemical Biology. 2014;8(31):184-214. DOI:
<https://doi.org/10.2174/221279680803150420095017>

20. Кореновский ЮВ, Ремнева ОВ. Рефе-
рентные значения концентраций матриксных
металлопротеиназ ММП-1, ММП-9 и тканево-
го ингибитора матриксных металлопротеиназ
ТИМП-1 в амниотической жидкости в родах
при физиологически протекающей беременно-
сти. Биомедицинская химия. 2016;62(1):96-98.
DOI:
<https://doi.org/10.18097/PBMC20166201096>

References

1. Radzinsky VE, Krasnopolsky VI,
Logutova LS. Cesarean section. Problems of ab-
dominal obstetrics. A guide for physicians. Saint
Petersburg: SIMK; 2018. Russian.

2. Betran AP, Ye J, Moller AB, et al. The
increasing trend in caesarean section rates: global,
regional and national estimates: 1990-2014. PLoS
One. 2016;11(2):e0148343. DOI:
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148343>

3. Visser GHA, Ayres-de-Campos D,
Barnea ER, et al. FIGO position paper: how to
stop the caesarean section epidemic. The Lancet.
2018;392(10155):1286-1287. DOI:
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32113-5.3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32113-5.3)

4. Sarbasova AE, Sinchikhin SP, Mamiev OB, et al. Cesarean section in modern obstetrics: epidemiology, importance for prevention of obstetric and perinatal pathology, complications. *Astrahanskij medicinskij zhurnal*. 2016;2(11):57-63. Russian.
5. Belousova VS, Strizhakov AN, Svitich OA, et al. Preterm birth: causes, pathogenesis, tactics. *Obstetrics and Gynecology*. 2020;2:82-87. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.2.82-87>
6. WHO. Statement on Caesarean Section Rates. Geneva: World Health Organization [Internet]. 2015 [cited 2020 May 18]. Available from: http://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal_perinatal_health/cs-statement/en/
7. Ziyadinov AA, Sulima AN, Rybalka AN. The reasons for caesarean section in preterm labour. *Tavricheskiy Mediko-Biologicheskij Vestnik*. 2015;18(1(69)):44-47. Russian.
8. Khuzikhanov FV, Shayakhmetova RR, Valiev RI. Influence of various factors on the formation of diseases in children born by cesarean section [Internet]. *Modern problems of science and education*. 2016 [cited 2020 May 18];4. Russian. Available from: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=25086>
9. Kholodova IN, Zaidenvarg GE, Goryainova AN. Children after Caesarean section: how to improve their adaptation and reduce the risk of pathological conditions. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2019;11:16-22. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-11-16-22>
10. Dobrokhotova YE, Kerchelaeva SB, Kuznetsova OV, et al. Preterm birth: analysis of perinatal outcomes. *Russian Journal of Woman and Child Health*. 2015;20:12-20. Russian.
11. Umarova LN. Perinatal risk factors of birth of premature infants with very low and extremely low birth weight. *Meditsinskie novosti*. 2016;12:81-82. Russian.
12. Hirono J, Sanaki H, Kitada K, et al. Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases and matrix metalloproteinases in the ischemic brain of photothrombosis model mice. *NeuroReport*. 2018;29(3):174-180(7). DOI: <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000946>
13. De Luca C, Papa M. Matrix Metalloproteinases, Neural Extracellular Matrix, and Central Nervous System Pathology. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2017;148:167-202. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.04.002>
14. Swarnakar S, Jana S. Matrix Metalloproteinases. In: Choi S, editor. *Encyclopedia of Signaling Molecules*, 2nd edition. Switzerland: Springer, Cham; 2018:3005-3013. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-67199-4>
15. Shadrina AS, Tereshkina IV, Plieva YZ, et al. Matrix metalloproteinases: structure, functions and genetic polymorphism. *Patogenez (Pathogenesis)*. 2017;2:14-23. Russian.
16. Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2017;147:25-29. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>
17. Malinina EI, Chernysheva TV, Rychkova OA, et al. The concentration of matrix metalloproteinases is 2.9 in newborns with perinatal hypoxia [Internet]. *Modern problems of science and education*. 2019 [cited 2020 May 18];2. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17513/spno.28636> Available from: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28636>.
18. Chugunova TN, Korenovsky YV, Lobanov YF. Matrix metalloproteinases in neonates with hypoxic lesions of the central nervous system. *Postgraduate doctor*. 2016;1:188-194. Russian.
19. Das S, Bandopadhyay S, Das S. Insights into the Role of Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases in Health and Disease. *Current Chemical Biology*. 2014;8(31):184-214. DOI: <https://doi.org/10.2174/221279680803150420095017>
20. Korenovsky YuV, Remneva OV. Reference values of concentrations of matrix metalloproteinases-1, -2, -9 and the tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMP-1) in the amniotic fluid during physiological pregnancy and delivery. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. 2016;10:240-242. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990750816030070>

Статья поступила в редакцию 15 июня 2020 г.
Поступила после доработки 5 ноября 2020 г.
Принята к печати 17 декабря 2020 г.

Received 15 June 2020
Revised 5 November 2020
Accepted 17 December 2020

Информация об авторах

Ольга Васильевна Ремнёва, доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии с курсом дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул, Российская Федерация, E-mail: rolmed@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-5984-1109.

Юрий Владимирович Кореновский, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой общей и биологической химии, клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул, Российская Федерация, E-mail: timidin@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4434-5217.

Нелля Михайловна Ховалыг, врач акушер-гинеколог, ГБУЗ РТ «Перинатальный центр Республики Тыва», г. Кызыл, Российская Федерация, E-mail: nemix@bk.ru, ORCID: 0000-0002-2231-7194.

Ольга Викторовна Колядо, аспирант второго года обучения по направлению подготовки 14.01.01 акушерство и гинекология, ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул, Российская

Федерация, E-mail: kolyado.ov@gmail.com, ORCID: 0000-0002-5812-4925.

Information about the authors

Olga V. Remneva, Doct. Sci. (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology with a course of additional professional education, Altai State Medical University, Barnaul, Russia, E-mail: rolmed@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-5984-1109.

Yuri V. Korenovsky, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of General and Biological Chemistry, Clinical Laboratory Diagnostics, Altai State Medical University, Barnaul, Russia, E-mail: timidin@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4434-5217.

Nellya M. Hovalyg, Obstetrian-gynaecologist at the Perinatal Centre of Tyva Republic, Kyzyl, Russia, E-mail: nemix@bk.ru, ORCID: 0000-0002-2231-7194.

Olga V. Kolyado, Post-graduate Student in Scientific Specialty 14.01.01 – Obstetrics and Gynecology, Altai State Medical University, Barnaul, Russia, E-mail: kolyado.ov@gmail.com, ORCID: 0000-0002-5812-4925.



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-10

УДК 617.735-007.23:451,27+58.319

Тревожно-депрессивные и когнитивные нарушения у пожилых пациентов с возрастной макулярной дегенерацией и катарактой

М.М. Яблоков 

Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова»,
Бескудниковский бульвар, д. 59а, г. Москва, 127486, Российская Федерация
Автор для переписки: М.М. Яблоков (vitalaxen@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Продолжающееся изменение демографической структуры общества различных государств сопровождается неуклонным повышением не только доли пожилого и старческого населения, но и увеличением распространённости возраста ассоциированных заболеваний, существенно снижающих функциональную активность и качество жизни пациентов. Сказанное в полной мере относится и к таким инволютивным заболеваниям глаза как возрастная макулярная дегенерация и катаракта, часто встречающихся у одного пациента. Развитие данных заболеваний в сочетанной форме или в изолированной сопровождается не только зрительным дефицитом, но и способствует ухудшению психоэмоционального состояния таких пациентов. Однако психологический домен у пациентов с сочетанной возрастной макулярной дегенерацией и катарактой рассматривается в единичных публикациях. **Цель исследования:** Изучение особенностей тревожно-депрессивных и когнитивных нарушений у пациентов пожилого возраста с сочетанной катарактой и макулярной дегенерацией. **Материалы и методы:** Особенности психологического домена пациентов пожилого возраста, страдающих сочетанной катарактой и возрастной макулярной дегенерацией, изучены у 123 больных с возрастной макулярной дегенерацией 3-4-й стадии и катарактой на базе Тамбовского филиала МНТК «Микрохирургия глаза имени академика С.Н. Фёдорова». Контролем служили 72 пациента пожилого возраста с возрастной макулярной дегенерацией и отсутствием катаракты. При обследовании пациентов обеих групп определялись ситуативная тревожность по тесту Спилбергера-Ханина, депрессия по шкале Center for Epidemiologic Studies-Depression, когнитивные нарушения по шкале Mini-Mental-State-Examination. **Результаты:** Структура ситуативной тревожности у пациентов с сочетанной возрастной макулярной дегенерацией и катарактой представлены преимущественно средним ($46,8 \pm 4,5\%$) и повышенным ($32,4 \pm 4,2\%$) уровнем, а в контрольной группе низким ($76,2 \pm 4,9\%$) уровнем си-

туативной тревожности. В основной группе ситуативная тревожность соответствовала среднему уровню, а в контроле - низкому уровню тревожности. Когнитивные нарушения отсутствовали у $5,6 \pm 2,1\%$ пациентов основной и у $63,6 \pm 5,6\%$ пациентов контрольной группы ($p < 0,001$). Депрессивные нарушения чаще регистрировались при сочетанной возрастной макулярной дегенерации и катаракте ($57,6 \pm 4,4\%$), чем при наличии только ВМД- $14,9 \pm 4,1\%$ ($p < 0,001$).

Заключение: Сочетанная возрастная макулярная дегенерация и катаракта ухудшает психоэмоциональный статус пациентов пожилого возраста более существенно, чем изолированная возрастная макулярная дегенерация, что необходимо учитывать при коррекции зрительного дефицита.

Для цитирования: Яблоков ММ. Тревожно-депрессивные и когнитивные нарушения у пожилых пациентов с возрастной макулярной дегенерацией и катарактой. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(1):96-105. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-10

Anxiety-depressive and cognitive impairments in elderly patients with age-related macular degeneration and cataracts

Maxim M. Yablokov 

S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution,
59a Beskudnikovsky Blvd., Moscow, 127486, Russia
Corresponding author: Maxim M. Yablokov (vitalaxen@mail.ru)

Abstract

Background: The continuing change in the demographic structure of society in different states is accompanied by a restless increase not only in the proportion of the elderly and senile population, but also in an increase in the prevalence of age-associated diseases, which significantly reduce the functional activity and quality of life of patients. The foregoing also applies to such involutive eye diseases as age-related macular degeneration and cataracts, which are often found in one patient. The development of these diseases in a combined form or in an isolated one is accompanied not only by visual deficits, but also contributes to the deterioration of the psycho-emotional state of such patients. However, the psychological domain in patients with combined age-related macular degeneration and cataracts is considered in a few publications. **The aim of the study:** To study the features of anxiety-depressive and cognitive impairments in elderly patients with combined cataract and macular degeneration. **Materials and methods:** Features of the psychological domain of elderly patients suffering from combined cataracts and age-related macular degeneration were studied in 123 patients with age-related macular degeneration of stages 3-4 and cataracts on the basis of the Tambov branch of the MNTK "Academician SN. Fedorov Eye Microsurgery". The control consisted of 72 elderly patients with age-related macular degeneration and the absence of cataracts. When examining patients of both

groups, situational anxiety according to the Spielberger-Hanin test, depression according to the Center for Epidemiologic Studies-Depression scale, and cognitive impairment according to the Mini-Mental-State-Examination scale were determined.

Results: The structure of situational anxiety in patients with concomitant age-related macular degeneration and cataract is represented mainly by the average ($46,8 \pm 4,5\%$) and increased ($32,4 \pm 4,2\%$) levels, and in the control group by a low ($76,2 \pm 4,9\%$) level of situational anxiety. In the main group, situational anxiety corresponded to the average level, and in the control group - to a low level of anxiety. Cognitive impairments were absent in $5.6 \pm 2.1\%$ of patients in the main group and in $63.6 \pm 5.6\%$ of patients in the control group ($p < 0.001$). Depressive disorders were more often registered with combined age-related macular degeneration and cataract ($57.6 \pm 4.4\%$) than with only AMD – $14,9 \pm 4,1\%$ ($p < 0.001$). **Conclusion:** Combined age-related macular degeneration and cataract improve the psychoemotional status of elderly patients more significantly than isolated age-related macular degeneration, which must be taken into account when correcting visual deficits.

Keywords: cataract; age-related macular degeneration; cognitive impairment; anxiety; depression; old age

For citation: Yablokov MM. Anxiety-depressive and cognitive impairments in elderly patients with age-related macular degeneration and cataracts. Research Results in Biomedicine. 2021;7(1):96-105. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-10

Введение. Эпидемиологические исследования и оценки экспертов Всемирной организации здравоохранения свидетельствуют о продолжающемся росте заболеваемости среди людей пожилого и старческого возраста возрастной молекулярной дегенерации (ВМД) и катаракты, которые во многих странах в настоящее время занимают лидирующие позиции в структуре зрительного дефицита и наступления слепоты [1, 2, 3]. ВМД и катаракта являются инволютивной патологией с выраженной зависимостью распространённости от возраста [4, 5]. Показано, что распространённость ВМД существенно повышается от 40% в группе лиц старше 40 лет до 58 - 100% - в когорте старше 60 лет [6] и часто сочетается с катарактой, что усугубляет течение этих заболеваний, затрудняет диагностику и способствует более быстрому прогрессированию.

Катаракта, считающаяся ведущей причиной обратимой слепоты, неуклонно повышается в старших возрастных группах населения [7] и такая тенденция будет продолжаться на фоне устойчивого тренда старения населения. Одновременно наблюдается увеличение среди континген-

та больных катарактой во многих странах мира лиц в пожилом возрасте до 50% и старческом возрасте до 70% [7].

Однако с возрастом ассоциируется не только частота катаракты и ВМД, но и распространённость отклонений в психологическом домене и этих пациентов, которые следует учитывать специалистам для коррекции специализированной медицинской помощи. Вместе с тем, как свидетельствует практика и проводимые научные исследования, так и гериатрические синдромы как когнитивный дефицит, тревожность и депрессивные нарушения редко диагностируются у больных с офтальмологической патологией врачами первичного звена здравоохранения - участковыми терапевтами, офтальмологами, семейными врачами - и остаются поэтому неучтенными. Развитие же катаракты и ВМД сопровождается хроническим стрессом для пациентов из-за страха ухудшения остроты зрения и отрицательных результатов лечения, что приводит к нарушению сна, формированию невроза, депрессивных расстройств, снижению активности [1]. Когнитивные и тревожно-депрессивные нарушения, как свидетельствуют единич-

ные исследования часто встречаются у больных с катарактой и ВМД [7]. Несмотря на это, изменения когнитивного статуса, тревожности и депрессии практически не рассматривались у пациентов 60-74 лет, страдающих сочетанной катарактой и ВМД, хотя при коморбидности этих заболеваний происходит усугубление психологического домена [7].

Цель исследования. Изучение особенностей тревожно-депрессивных и когнитивных нарушений у пациентов пожилого возраста с сочетанной катарактой и ВМД.

Материалы и методы исследования. Особенности психологического домена пациентов 60-74 лет с сочетанной катарактой и ВМД изучены среди 123 больных с ВМД 3-4-й стадии и катарактой (основная группа), проходивших стационарное лечение в 2016-2019 гг. в Тамбовском филиале МНТК «Микрохирургия глаза имени академика С.Н. Федорова». Верификация диагноза катаракты осуществлялась посредством визиометрии, офтальмобиомикроскопии, спектральной оптической когерентной томографии, автокераторефрактометрии. При диагностике ВМД использовались электроретинография, оптическая когерентная томография, флюоресцентная ангиография, электронная периметрия.

Контрольная группа была представлена 72 пациентами пожилого возраста с ВМД и отсутствием катаракты, которые обследовались аналогично пациентам основной группы.

В указанные группы не включались пациенты в возрасте до 60 лет и старше 74 лет, с наличием психических заболеваний, выраженной деменцией и синдромом старческой астении, артериальной гипертензии 3-4-й стадии, гиперхолестеринемии и дислипидемии, злокачественных новообразований, метаболического синдрома, ожирения, атеросклероза церебральных сосудов, сахарного диабета 1-го и 2-го типа.

При изучении психологического домена у пациентов сравниваемых групп изучались ситуативная тревожность по те-

сту Спилбергера-Ханина [8], депрессивный статус по шкале CES-D (Center for Epidemiologic Studies-Depression) [9], когнитивные функции по шкале Mini-Mental-State-Examination (MMSE) [10]. Использование этих методов оценки психологического статуса обусловлено неоднократно доказанной валидностью в многочисленных исследованиях. Нарушение зрения не являлось препятствием для применения указанных шкал и тестов.

Работа выполнена в соответствии с этическими стандартами Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека» и «Хельсинской декларации».

При оценке достоверности различий использовался критерий U-Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. Ситуативная тревожность среди обследованных контингентов пожилых пациентов основной и контрольной групп выявлена у всех представителей (табл. 1). Однако структура ситуативной тревожности у пациентов 60-74 лет с сочетанной катарактой и ВМД статистически значимо различалось по критериям теста Спилбергера-Ханина по сравнению с пациентами того же возраста, но страдающими только одним офтальмологическим заболеванием – ВМД. У пациентов с сочетанной офтальмологической патологией наибольшую часть составляли лица, имеющие средний уровень ситуативной тревожности, что статистически значимо выше, чем в контрольной группе. Значительный удельный вес среди представителей основной группы составляют пациенты пожилого возраста с повышенным уровнем ситуативной тревожности с достоверным различием по отношению к контрольной группе. Обращает также внимание значительный удельный вес пациентов с сочетанной ВМД и катарактой выраженным уровнем ситуативной тревожности при отсутствии таковых среди больных с ВМД.

В контрольной группе доминируют пациенты пожилого возраста с низким уровнем ситуативной тревожности со статистически значимой разницей к основной группе.

Таблица 1

Особенности ситуативной тревожности у пациентов 60-74 лет с сочетанной ВМД и катарактой ($p \pm m$, %)

Table 1

Features of situational anxiety in 60-74-year-old patients with concomitant AMD and cataract ($p \pm m$, %)

Уровень ситуативной тревожности	Пациенты основной группы	Пациенты контрольной группы	p
Низкий	6,9±2,1	76,2±4,9	<0,001
Средний	46,8±4,5	18,2±4,3	<0,001
Повышенный	32,4±4,2	5,6±2,9	<0,001
Выраженный	11,7±4,2	0,0	-
Высокий	2,2±1,4	0,0	-
Всего	100,0	100,0	-

Сравнивая средний уровень ситуативной тревожности по вышеназванной шкале среди пациентов пожилого возраста с коморбидной ВМД и катарактой и монофтальмопатологией (ВМД) необходимо отметить, что средний арифметический балл статистически значимо выше у первых (рис. 1). Величина среднего балла ситуативной тревожности в основной группе

указывает на наличие среднего уровня ситуативной тревожности. В контрольной группе ситуативная тревожность характеризуется как низкий уровень. Это указывает на то, что сочетанная офтальмологическая патология в виде ВМД и катаракты более существенно повышает уровень ситуативной тревожности.

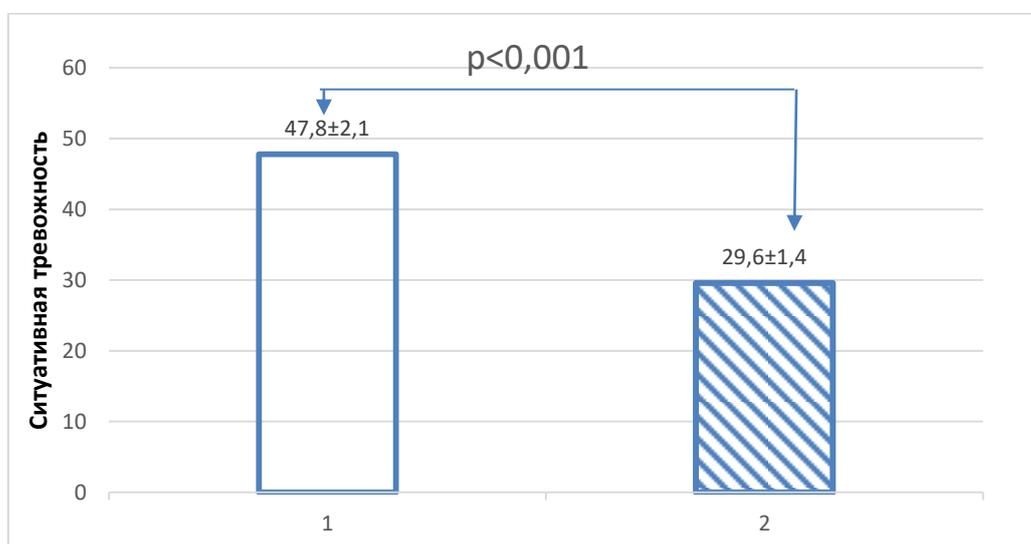


Рис.1. Ситуативная тревожность у пациентов пожилого возраста в основной (1) и контрольной (2) группах ($M \pm m$, баллы).

Fig. 1. Situational anxiety in elderly patients in the main (1) and control (2) groups ($M \pm m$, points).

Оценка когнитивного статуса пожилых больных с сочетанной ВМД и катарактой и только с монопатологией (ВМД) свидетельствует о существенных различиях (табл. 2). Так, отсутствие когнитивного дефицита среди пациентов 60-74 лет ос-

новной группы установлено в 5,6% случаев, что существенно ниже показателей контрольной группы. Когнитивный профиль пациентов сравниваемых групп статистически значимо отличается и по другим составляющим. Среди пациентов по-

жилого возраста, страдающих одновременно ВМД и катарактой, статистически значимо преобладают лица с когнитивными нарушениями лёгкой степени. Однако

по количеству пациентов с умеренными когнитивными расстройствами достоверных различий между группами не выявлено.

Таблица 2

Когнитивные нарушения у пожилых пациентов с сочетанной ВМД и катарактой и в контрольной группе ($p \pm mp$, %)

Table 2

Cognitive impairments in elderly patients with concomitant AMD and cataract and in the control group ($p \pm mp$,%)

Степень когнитивных нарушений	Пациенты основной группы	Пациенты контрольной группы	p
Нарушения умеренной степени	2,1±1,4	0,0	-
Нарушения легкой степени	69,4±4,7	23,6±4,7	<0,001
Преддементные когнитивные нарушения	22,9±3,8	12,8±4,1	>0,05
Отсутствие когнитивных нарушений	5,6±2,1	63,6±5,6	<0,001
Всего	100,0	100,0	-

Результаты оценки когнитивных нарушений по шкале MMSE свидетельствуют о том, что у пожилых пациентов, имеющих сочетанную ВМД и катаракту, когнитивный дефицит выше, чем у больных аналогичного возраста, имеющих

только ВМД (рис. 2). Сказанное подтверждается тем, что когнитивные нарушения среди пациентов основной группы соответствует легкой степени, тогда как в контрольной группе они классифицируются как предметные когнитивные нарушения.

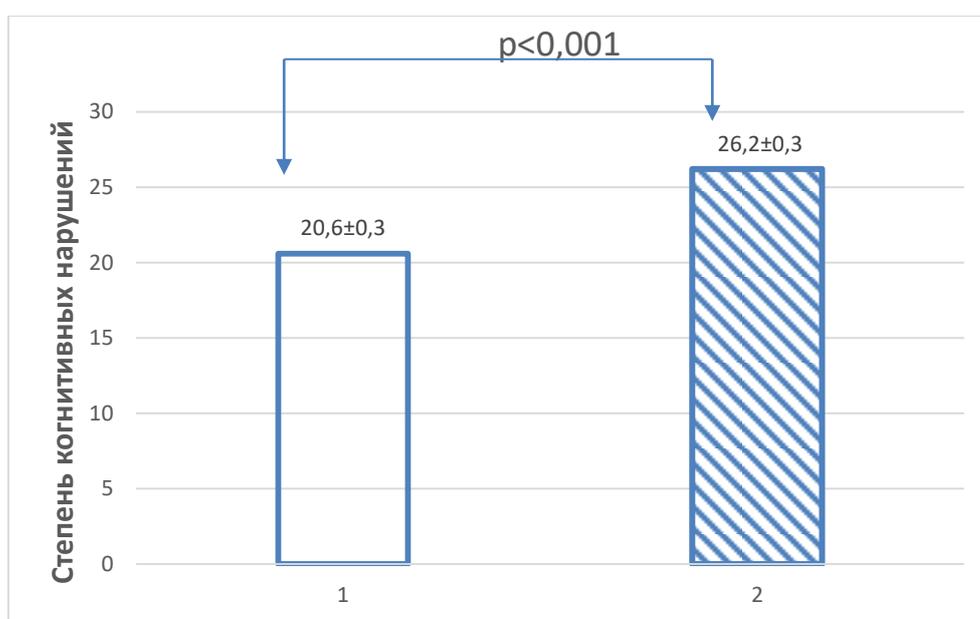


Рис.2. Когнитивные нарушения у пациентов 60-74 лет с сочетанной ВМД и катарактой (1) и с ВМД (2) ($M \pm m$, баллы).

Fig. 2. Cognitive impairment in 60-74-year-old patients with combined AMD and cataract (1) and with AMD (2) ($M \pm m$, points).

Депрессивные нарушения среди пожилых пациентов с коморбидной ВМД и катарактой встречались у более половины обследованных в 57,6% случаев (табл. 3). Это статистически значимо выше по сравнению с больными 60-74 лет, имеющих только ВМД, где они зарегистрированы лишь в 14,9% случаев. Среди пациентов 60-74 лет с сочетанной ВМД и катарактой в структуре депрессивных нарушений пре-

обладали расстройства депрессивного спектра, выявленные в более трети случаев, и удельный вес которых в 3,6 раза превышает аналогичный показатель пациентов того же возраста с монофтальмопатологией – ВМД. Достоверным оказалось различие между сравнимыми группами и по числу лиц с депрессивным состоянием, которые чаще выявлялись в основной группе.

Таблица 3

Депрессивный статус пациентов 60-74 лет с сочетанной ВМД и катарактой и с ВМД (p±mp, %)

Table 3

Depressive status of 60-74-year-old patients with combined AMD and cataract and AMD (p ± mp,%)

Депрессивные нарушения	Пациенты основной группы	Пациенты контрольной группы	p/обычный тип
Депрессивное состояние	19,0±3,4	4,6±2,2	<0,001
Расстройства депрессивного спектра	38,6±4,3	10,3±3,5	<0,001
Отсутствие депрессивного расстройства	42,4±4,4	85,1±4,1	<0,001
Всего	100,0	100,0	-

Статистически значимые различия в основной и контрольной группах больных с офтальмологическими заболеваниями установлены и в величине среднего балла депрессивных нарушений (рис. 3). Средний балл депрессивных нарушений был статистически значимо выше у пациентов

пожилого возраста с сочетанной ВМД и катарактой и соответствовал расстройствам депрессивного спектра. Уровень депрессии среди пациентов 60-74 лет, имеющих только ВМД, значимо ниже и соответствовал в целом по группе отсутствию депрессивных нарушений.

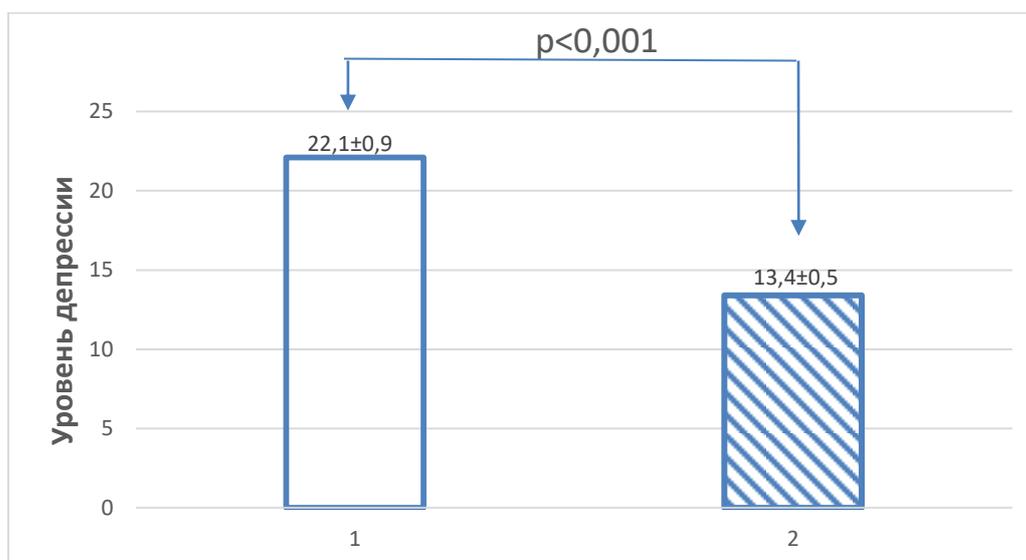


Рис.3. Депрессивные нарушения у пациентов 60-74 лет с сочетанной ВМД и катарактой (1) и с ВМД (2) (M±m, баллы).

Fig. 3. Depressive disorders in 60-74-year-old patients combined with AMD and cataract (1) and with AMD (2) (M±m, points).

Сравнительное изучение тревожности и депрессии среди пациентов пожилого и старческого возраста с различными офтальмологическими заболеваниями - катаракта, первичная глаукома, отслойка сетчатки, конъюнктивит, синдром сухого глаза - показало, что, согласно шкале госпитальной тревоги и депрессии (Hospital anxiety and depression scale), тревожно-депрессивные нарушения встречаются в 45,5% процентов случаев, независимо от названной выше патологии, а средний балл по шкале для всех исследованных офтальмологических патологий составил $9,2 \pm 6,2$ балла [6]. Статистически значимо чаще тревожно-депрессивные нарушения отмечались у пациентов с синдромом сухого глаза - в 43,5% случаев и при отслойке сетчатки - в 43,2% случаев. Частота тревожно-депрессивных нарушений в порядке убывания при других анализированных офтальмологических заболеваниях распределилась так: при конъюнктивите - 41,8%, при первичной глаукоме - 38,8%, при катаракте - 36,9% [6]. У пациентов 60-74 лет с катарактой, изученных нами совместно с ВМД, депрессивные нарушения выявлялись чаще - в 57,6% случаев, чем в ранее рассмотренном исследовании, анализировавшем изолированную катаракту [6]. Полученные нами результаты указывают на то, что сочетанная офтальмологическая патология - в данном случае ВМД и катаракта - в большей степени, чем изолированная - ВМД в нашем исследовании, а в работе Ayaki M. et al [6] - изолированная катаракта, первичная глаукома и другие менее существенно влияют на распространенность депрессии и тревоги. Среди обследованных нами пожилых пациентов с сочетанной ВМД и катарактой выявлен в основном средний и повышенный уровень ситуативной тревожности, что также подтверждает сделанный выше вывод. Наиболее высокий средний балл тревожно-депрессивных нарушений среди изученных монопатологий установлен для синдрома сухого глаза ($10,2 \pm 6,0$ балла) и для больных первичной глаукомой ($9,8 \pm 6,6$ балла) [6]. У пациентов с ВМД распро-

страненность депрессии варьирует в диапазоне от 33% до 44% [11].

Когнитивные способности, по мнению Mazzoli L.C. et al [12], наиболее снижены у пациентов в возрасте 50-90 лет с первичной открытоугольной глаукомой, чем ВМД. Особенно существенные различия между пациентами с первичной открытоугольной глаукомой и ВМД выявлены по снижению памяти и распознаванию лиц. Кроме того, установлены различия в степени когнитивных нарушений в зависимости от формы ВМД - экссудативная и неэкссудативная [13]. Средний балл по шкале MMSE у пациентов 55 лет и старше при неэкссудативной ВМД составил $26,2 \pm 3,6$ балла, а при экссудативной - $27,2 \pm 2,8$ балла. Несмотря на некоторые различия в степени когнитивных нарушений у пациентов с экссудативной и неэкссудативной формами ВМД, исследование подтверждает связь когнитивных нарушений с ВМД. В частности, у пациентов с ВМД имеются худшие результаты по памяти и вербальным тестам по сравнению с лицами без ВМД аналогичного возраста [13].

Заключение. Наличие у пациентов пожилого возраста сочетанной ВМД и катаракты существенно ухудшает психоэмоциональный статус, чем изолированная ВМД. У пациентов с сочетанной офтальмологической патологией развивается средний уровень ситуативной тревожности, тогда как при наличии только ВМД - низкий уровень ситуативной тревожности. Когнитивные нарушения чаще регистрируются у пациентов с сочетанной ВМД и катарактой и соответствует легкой степени, а при ВМД - предметным когнитивным нарушениям. Депрессивные нарушения диагностируются практически в 4 раза чаще среди больных с сочетанной ВМД и катарактой и представлены преимущественно расстройствами депрессивного спектра. Высокая распространенность когнитивных и тревожно-депрессивных нарушений среди пожилых пациентов с сочетанной ВМД и катарактой указывает на необходимость их коррекции соответствующими специалистами.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Воробьева ИВ. Мониторинг отдельных патогенетически значимых биохимических маркеров в слезной жидкости, офтальмологических показателей при сочетанной патологии диабетической ретинопатии и возрастной макулярной дегенерации на фоне ангиопротекторной и антиоксидантной терапии. Офтальмология. 2018;15(2):189-199. DOI: <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2018-2-189-199>
2. Полунина ЕГ, Макаров ИА, Маркова ЕЮ, и др. Современные возможности профилактики возникновения и прогрессирования катаракты. Офтальмология. 2017;14(2):120-124. DOI: <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2017-2-120-124>
3. Daien V, Le Pape A, Heve D, et al. Incidence, Risk Factors, and Impact of Age on Retinal Detachment after Cataract Surgery in France: A National Population Study. Ophthalmology. 2015;11(122):2179-2185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2015.07.014>
4. Lin X, Chen Z, Jin L, et al. Rasch analysis of the hospital anxiety and depression scale among Chinese cataract patients. PLoS One. 2017;12(9):e0185287. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185287>
5. Socea SD, Abualhasan H, Magen O. Preoperative Anxiety Levels and Pain during Cataract Surgery. Current Eye Research. 2020;45(4):471-476. DOI: <https://doi.org/10.1080/02713683.2019.1666996>
6. Ayaki M, Nagura T, Toyama Y, et al. Motor function benefits of visual restoration measured in age-related cataract and simulated patients: Case-control and clinical experimental studies. Scientific Reports. 2015;5:14595. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep14595>
7. Pop-Jordanova N, Ristova J, Loleska S. Depression in ophthalmological patients. Prilozi (Makedonska akademija na naukite i umetnostite. Oddelenie za medicinski nauki). 2014;35(2):53-58. DOI: <https://doi.org/10.2478/prilozi-2014-0007>
8. Ханин ЮЛ. Исследование тревоги в спорте. Вопросы психологии. 1978;6:92-99.
9. Андрущенко АВ, Дробижев МЮ, Добровольский АВ. Сравнительная оценка шкал CES-D, BDI и HADS(d) в диагностике депрессий в общемедицинской практике. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2003;103(5):11-18.
10. Балунов ОА, Лукина ЛВ, Ситник ЛИ. Совершенствование полипрофессиональной модели оказания лечебно-диагностической помощи при пограничных психических расстройствах у больных с органическими заболеваниями головного мозга. СПб.: Национальный медицинский исследовательский центр психологии и неврологии им. В.М. Бехтерева; 2012.
11. McCusker S, Koola MM. Association of Ophthalmologic Disorders and Depression in the Elderly: A Review of the Literature. The primary care companion for CNS disorders. 2015;17(4):10.4088/PCC.14r01731. DOI: <https://doi.org/10.4088/PCC.14r01731>
12. Mazzoli LC, Urata CN, Kasahara M. Face memory deficits in subjects with eye diseases: a comparative analysis between glaucoma and age-related macular degeneration patients from a developing country. Graefes' Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology. 2019;257(9):1941-1946. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00417-019-04380-5>
13. Rozzini L, Riva M, Ghilardi N, et al. Cognitive dysfunction and age-related macular degeneration. American Journal of Alzheimer's Disease and other Dementias. 2014;29(3):256-262. DOI: <https://doi.org/10.1177/1533317513517032>

References

1. Vorobyeva IV. Monitoring of Separate Pathogenetically Significant Biochemical Markers in Lacrimal Fluid, Ophthalmological Parameters with Combined Pathology of Diabetic Retinopathy and Age-Related Macular Degeneration on the Background Angioprotective and Antioxidant Therapy. Ophthalmology in Russia. 2018;15(2):189-199. Russian. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep14595>

<https://doi.org/10.18008/1816-5095-2018-2-189-199>

2. Polunina EG, Makarov IA, Markova EY, et al. Modern possibilities for prophylaxis of cataract progression. *Ophthalmology in Russia*. 2017;14(2):120-124. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2017-2-120-124>

3. Daien V, Le Pape A, Heve D, et al. Incidence, Risk Factors, and Impact of Age on Retinal Detachment after Cataract Surgery in France: A National Population Study. *Ophthalmology*. 2015;11(122):2179-2185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2015.07.014>

4. Lin X, Chen Z, Jin L, et al. Rasch analysis of the hospital anxiety and depression scale among Chinese cataract patients. *PLoS One*. 2017;12(9):e0185287. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185287>

5. Socea SD, Abualhasan H, Magen O. Preoperative Anxiety Levels and Pain during Cataract Surgery. *Current Eye Research*. 2020;45(4):471-476. DOI: <https://doi.org/10.1080/02713683.2019.1666996>

6. Ayaki M, Nagura T, Toyama Y, et al. Motor function benefits of visual restoration measured in age-related cataract and simulated patients: Case-control and clinical experimental studies. *Scientific Reports*. 2015;5:14595. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep14595>

7. Pop-Jordanova N, Ristova J, Loleska S. Depression in ophthalmological patients. *Prilozi (Makedonska akademija na naukite i umetnostite. Oddelenie za medicinski nauki)*. 2014;35(2):53-58. DOI: <https://doi.org/10.2478/prilozi-2014-0007>

8. Khanin YuL. Research on anxiety in sports. *Voprosy Psichologii*. 1978;6:92-99. Russian.

9. Andryushchenko AV, Drobizhev MYu, Dobrovol'skii AV. Comparative assessment of CESD, BDI and HADS (d) scale in diagnosis of depression in general medical practice. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2003;103(5):11-18. Russian.

10. Balunov OA, Lukina LV, Sitnik LI. Improvement of the polyprofessional model of providing medical and diagnostic assistance for

borderline mental disorders in patients with organic brain diseases. SPb: Natsional'nyy meditsinskiy issledovatel'skiy tsentr psikhologii i nevrologii im. V.M. Bekhterova; 2012. Russian.

11. McCusker S, Koola MM. Association of Ophthalmologic Disorders and Depression in the Elderly: A Review of the Literature. The primary care companion for CNS disorders. 2015;17(4):10.4088/PCC.14r01731. DOI: <https://doi.org/10.4088/PCC.14r01731>

12. Mazzoli LC, Urata CN, Kasahara M. Face memory deficits in subjects with eye diseases: a comparative analysis between glaucoma and age-related macular degeneration patients from a developing country. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2019;257(9):1941-1946. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00417-019-04380-5>

13. Rozzini L, Riva M, Ghilardi N, et al. Cognitive dysfunction and age-related macular degeneration. *American Journal of Alzheimer's Disease and other Dementias*. 2014;29(3):256-262. DOI: <https://doi.org/10.1177/1533317513517032>

Статья поступила в редакцию 12 сентября 2020 г.

Поступила после доработки 10 ноября 2020 г.

Принята к печати 22 декабря 2020 г.

Received 12 September 2020

Revised 10 November 2020

Accepted 22 December 2020

Информация об авторе

Максим Михайлович Яблоков, врач-офтальмолог, Тамбовский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», г. Тамбов, Российская Федерация, E-mail: vitalaxen@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7902-0589.

Information about the author

Maxim M. Yablokov, Ophthalmologist, Tambov Branch of the S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution, Tambov, Russia, E-mail: vitalaxen@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7902-0589.