

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

6 (1) 2020

16+

Сайт журнала:
rmedicine.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. № ФС 77-74739 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 6, № 1. 2020

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
Издается с 2014 г.
ISSN 2658-6533



Volume 6, № 1. 2020

ONLINE SCHOLARLY PEER-REVIEWED JOURNAL
First published online: 2014
ISSN 2658-6533

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 Медицинской школы Ганновера, Ганновер, Германия

Кубешова Х.М., MD, PhD, профессор, Масариков университет, Брно, Чехия

Малерба Дж., PhD, профессор медицинской генетики, Университет Вероны, Верона, Италия

Милкович Б., PhD, профессор, Белградский университет, Белград, Сербия

Нкенке Э., MD, DMD, MA, доктор медицинских наук, профессор, Венский медицинский университет, Вена, Австрия

Покровский М.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

Полоников А.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск, РФ

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

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

Руженков В.А., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

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 of Hannover Medical School, Hannover, Germany

H.M. Kubeshova, MD, PhD, Professor, Masaryk University, Brno, Czech Republic

G. Malerba, PhD, Professor of Medical Genetics, University of Verona, Verona, Italy

B. Miljkovic, PhD, Professor, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

E. Nkenke, MD, DMD, MA, 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. Proshchayev, 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.A. Ruzhenkov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, 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

Сорокин А.В., кандидат медицинских наук, Национальный 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

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

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

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

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

Henry H. Heng New data collection priority: focusing on genome-based bioinformation	5	Henry H. Heng New data collection priority: focusing on genome-based bioinformation	5
Ю.Э. Азарова, Е.Ю. Клёсова, С.Ю. Сакали, А.П. Ковалев Вклад полиморфизма rs11927381 гена <i>IGF2BP2</i> в патогенез сахарного диабета 2 типа	9	Iuliia E. Azarova, Elena Yu. Klyosova, Svetlana Yu. Sakali, Alexey P. Kovalev Contribution of rs11927381 polymorphism of the <i>IGF2BP2</i> gene to the pathogenesis of type 2 diabetes	9
Р.Ф. Еникеева, А.В. Казанцева, Ю.Д. Давыдова, Э.К. Хуснутдинова Роль полиморфных вариантов гена контактин-ассоциированно-подобного белка-2 (<i>CNTNAP2</i>) в формировании различий в уровнях тревожности	20	Renata F. Enikeeva, Anastasiya V. Kazantseva, Julia D. Davydova, Elza K. Khusnutdinova The role of polymorphic variants of the contactin-associated-like protein-2 (<i>CNTNAP2</i>) gene in the formation of differences in anxiety levels	20
О.А. Ефремова Изучение ассоциации полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием синдрома задержки роста плода 2-3 степени	37	Olesya A. Efremova The study of the association of polymorphic loci of the folate cycle genes with the development of the 2-3-degree fetal growth restriction syndrome	37
Т.В. Лежейко, М.В. Габаева, Е.В. Крикова, В.Е. Голимбет Полиморфизм гена <i>ZNF804A</i> rs1344706 и клиническая гетерогенность шизофрении	51	Tatyana V. Lezheiko, Marina V. Gabaeva, Ekaterina V. Krikova, Vera E. Golimbet <i>ZNF804A</i> rs1344706 gene polymorphism and clinical heterogeneity of schizophrenia	51
Д.И. Свиная Вклад ген-генных взаимодействий полиморфных локусов матричных металлопротеиназ в подверженность к первичной открытоугольной глаукоме у мужчин	63	Dina I. Svinareva The contribution of gene-gene interactions of polymorphic loci of matrix metalloproteinases to susceptibility to primary open-angle glaucoma in men	63

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACOLOGY, CLINICAL PHARMACOLOGY

О.Е. Анциферова, В.В. Гуреев, А.В. Гуреева, Е.В. Авдеева, Ю.А. Михайлова, Д.Б. Кузьмин Комплексная оценка коррекции очищенной микронизированной флавоноидной фракцией нарушений при ADMA-подобной преэклампсии в эксперименте	78	Oksana E. Antsiferova, Vladimir V. Gureev, Anastasia V. Gureeva, Elena V. Avdeyeva, Yulia A. Mikhaylova, Dmitriy B. Kuzmin Comprehensive assessment of using micronised purified flavonoid fraction in the correction of disorders associated with ADMA-like preeclampsia in experiment	78
О.В. Северинова, Г.А. Лазарева, Л.А. Жилинкова, А.В. Гуреева Фармакологические эффекты комбинированного введения низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и метилдопы при ADMA-подобной преэклампсии	94	Olga V. Severinova, Galina A. Lazareva, Lyudmila A. Zhilinkova, Anastasia V. Gureeva Pharmacological effects of the combined administration of a small dose of Acetylsalicylic acid and methyl dopa in ADMA-like preeclampsia	94

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

CLINICAL MEDICINE

В.В. Енькова, О.В. Хоперская, Е.В. Енькова, А.А. Олина, Л.А. Новикова Особенности видового состава и функциональной активности тучных клеток в децидуальной ткани пациенток с неразвивающейся беременностью и синдромом поликистозных яичников	107	Valeria V. Enkova, Olga V. Khoperskaya, Elena V. Enkova, Anna A. Olina, Lyubov A. Novikova Features of the species composition and functional activity of mast cells in the decidual tissue of patients with undeveloped pregnancy and polycystic ovary syndrome	107
Д.А. Коняев Взаимосвязь показателей интерлейкинового профиля и оксидантной системы крови у пожилых больных возрастной макулярной дегенерацией с поздней стадией	118	Dmitry A. Konyaev Interrelation of interleukin profile and the blood oxidant system in elderly patients with late-stage age-related macular degeneration	118
Е.А. Маркелова, Ю.А. Лутай Ассоциация нарушений липидного, углеводного обмена с показателями артериального давления в утренние и вечерние часы у пациентов с метаболическим синдромом пожилого возраста	126	Elena A. Markelova, Yuliya A. Lutay Association of lipid and carbohydrate metabolism disorders with blood pressure indicators in the morning and evening hours in patients with elderly metabolic syndrome	126
В.В. Руженкова Распространенность и клиническая структура психических расстройств у студентов медиков (проблемы первичной и вторичной психопрофилактики)	135	Victoria V. Ruzhenkova The prevalence and clinical structure of mental disorders in medical students (problems of primary and secondary psychoprophylaxis)	135

ГЕХЕТІКА GENETICS



Invited Editorial

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

Henry H. Heng

**New data collection priority: focusing on genome-based
bioinformation**

Center for Molecular Medicine and Genomics, and Department of Pathology,
Wayne State University School of Medicine, Detroit, MI, United States,
3226 Scott Hall, 540 E. Canfield, Detroit, MI 48201, USA
Corresponding author: Henry H. Heng (hheng@med.wayne.edu)

Abstract

Genetic research used to be data-driven under the framework of well-established gene theory. With the advance of various-omics technologies, large-scale data generation has become routine. However, data analyses have unexpectedly become extremely challenging due to the highly heterogeneous nature of bio-data. Furthermore, these diverse data sets seem to be inconsistent with some key predictions of gene theory. To briefly address this new reality, this editorial suggests a new genome theory to explain the new facts. By briefly comparing cytogenetics and gene sequencing research, the importance and key principles of chromosomal coded bioinformation is highlighted in the context of evolutionary studies and disease research.

Keywords: genome chaos; genome theory; karyotype coding; missing heritability; non clonal chromosome aberrations; system inheritance; two-phases of cancer evolution

For citation: Heng HH. New data collection priority: focusing on genome-based bioinformation. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):5-8. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-1

While classical cytogenetic analyses were technically challenging (e.g. extensive training and practice are required to perform different banding methods and precisely identify altered chromosomes and chromosomal fragments), the theoretical perspective motivating it was rather simple: chromosomes are the carriers of genes, and clonal chromosomal aberrations are the focus for analyses [1, 2]. Molecular cytogenetics has certainly made cytogenetic analyses much easier. Although the higher order of chromosomal structure is still unsolved, karyotype analyses are working

so far, especially with the help of various FISH technologies, including SKY and M-FISH.

The discovery of CNVs (copy number variations) generated high excitement, and array CGH (comparative genomic hybridization) has become routine in cytogenetic labs. For years, there have been discussions and predictions on whether array CGH should replace classical karyotype analyses [1, 3]. One of the key rationales of such discussion is simple: array CGH provides much higher resolution, and in the era of molecular biology,

higher molecular resolution is considered higher quality, more valuable information. For many researchers, only molecular sequencing approaches can reveal any “mechanistic” understanding: cytogenetic profiles are merely descriptive [4]. No wonder “sequencing everything” has become a new trend for data collection in biological research.

Ironically, the surprising results of various large scale-omics studies, including the Human Genome Project, Personal Genome Project, and Cancer Genome Project, have forcefully challenged the molecular rationale that focuses on “molecular part characterization” rather than system behavior at more suitable levels of genomic-systems.

For example, the “highly predictable” relationship between genes and phenotypes has become increasingly complicated, even more so with high degrees of uncertainty. Most complex traits often cannot be explained by polygenic models as the missing heritability seems to be caused by the emergent system behavior of a closely connected yet adaptive genomic network within dynamic environments. Such emergent properties are hard to link to a limited number of either dominant genomic or environmental factors, even with whole genome scanning methodologies based on huge numbers of samples. A system is much more than the collection of all parts.

Similarly, a more specific puzzle comes from the current Cancer Genome Project. Its goal, based on the gene mutation theory of cancer, is to identify a key limited number of common cancer gene mutations. Presumably, by sequencing many cancer samples for each cancer type, the pattern of driver genes will emerge from the background of heterogeneity or “genomic noise.” Quite the opposite is true, however. What was detected was a high degree of heterogeneity (at multiple genomic and nongenomic, including epigenetic, levels), which reflects the stochastic nature of genomic changes in most cancers [1, 2].

While it is disappointing to fail the initial goal of identifying common mutation drivers, the sequencing data did confirm the importance of cytogenetic findings that chromosomal changes are the common drivers of

cancer evolution. First, it confirms the two phases of cancer evolution (punctuated and stepwise) in most cancer types [5, 6]; Second, it endorses the importance of Genome Chaos in evolutionary phase transition [7-9]; Third, it supports the significance of heterogeneity in cancer, as previously ignored “genomic noise” actually represents evolutionary potential and can be used as a new biomarker to monitor system instability [1-2]; and Fourth, it validates the conclusion that profiles of chromosomal abnormalities have much better clinical prediction value than gene mutation data [10].

Why is cytogenetic data more powerful than individual gene mutation data? The genome theory of cancer and organismal evolution offers a clear explanation: the chromosome is not just the carrier of genes, but also the genomic organizer at a higher level of organization. More specifically, the chromosomal sets encode a new type of bio-information above genes. In the perspective of systems biology, the network of gene interaction is the key. However, what defines the gene interaction is unknown. The genome theory proposes that the physical platform of the gene interaction is provided by the karyotype coding, where the physical relationship of genes/regulatory elements along and among chromosomes can form action domains within the 3D nuclei. When the karyotype coding is changed by chromosomal numerical or/and structural changes, new action domains will form, leading to changes of the gene interaction relationship, often at the global level [11]. Those variants form the genomic basis for different types of diseases when interacting with dynamic environments [12].

Knowing the ultimate importance of genome-encoded information (system inheritance) and its relevance to biological processes, from evolutionary mechanisms to implications in disease formation, a new research priority needs to be established in the field of genomics and evolution, as well as molecular medicine [13]. First, a new framework embracing the multiple levels of genomics needs to be established by accepting

the fact that not all levels of organization are equal. Long-ignored chromosomal level profiling might be more useful than DNA sequencing, especially during the macro-cellular evolutionary phase. Second, efforts are needed to build technical platforms suitable for chromosomal profiling [14-19]. There is much to be done: a) Systematic identification of different types of chromosomal numerical/structural changes, many of which have been considered “noise” in previous studies due to the lack of clonality; b) Understanding the relationship among various subtypes of chromosomal abnormality (from aneuploidy to polyploidy, from simple translocations to chaotic genome) and comparing their contributions to disease processes; c) Acceptance of using Non-Clonal Chromosomal aberrations or NCCAs to study genome instability and unify different molecular mechanisms; d) Profiling both individual cells and population dynamics in watch evolution in action experiments. Third, new knowledge of genome-based genomics and evolution needs to be applied into disease studies, especially when dealing with complex issues such as genomic mosaicism, phase transitions of somatic evolution, and the interaction between genomics and environment [20-22].

It is thus timely to write this editorial to remind readers of the importance of data collection at the chromosomal level in current biomedicine. Fortunately, the genome theory has outlined the key rationales and conceptual frameworks of genome-based genomic and evolutionary ideas, based on genome-defined bioinformation principles [1].

No conflict of interest was recorded with respect to this article.

References

1. Heng HH. Genome Chaos: Rethinking Genetics, Evolution, and Molecular Medicine. Cambridge, MA, USA: Academic Press Elsevier; 2019.
2. Heng HH. Debating Cancer: The Paradox in Cancer Research. Singapore: World Scientific Publishing Co; 2015.
3. Liehr T. "Classical cytogenetics" is not equal to "banding cytogenetics". Mol Cytogenet. 2017;10:3. DOI: 10.1186/s13039-017-0305-9
4. Heng HH, Regan SM, Liu G, et al. Why it is crucial to analyze non clonal chromosome aberrations or NCCAs? Mol Cytogenet. 2016;9:15. DOI: 10.1186/s13039-016-0223-2
5. Heng HH, Stevens JB, Liu G, et al. Stochastic cancer progression driven by non-clonal chromosome aberrations. J Cell Physiol. 2006 May 10;208(2):461-72. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.20685>
6. Navin N, Kendall J, Troge J, et al. Tumour evolution inferred by single-cell sequencing. Nature. 2011 March 11;472:90-94. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature09807>
7. Stephens PJ, Greenman CD, Fu B, et al. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. Cell. 2011 January 7;144(1):27-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.11.055>
8. Erenpreisa JE, Ivanov A, Dekena G, et al. Arrest in metaphase and anatomy of mitotic catastrophe: mild heat shock in two human osteosarcoma cell lines. Cell. Biol. Int. 2000 Feb;24(2):61-70. DOI: <https://doi.org/10.1006/cbir.1999.0466>
9. Liu G, Stevens JB, Horne SD, et al. Genome chaos: survival strategy during crisis. Cell Cycle. 2014 Dec 3;13(4):528-37. DOI: <https://doi.org/10.4161/cc.27378>
10. Jamal-Hanjani M, Wilson GA, McGranahan N, et al. Tracking the evolution of non-small-cell lung Cancer. N Engl J Med. 2017 June 1;376(22):2109-21. DOI: 10.1056/NEJMoal616288
11. Ye CJ, Stilgenbauer L, Moy A, et al. What Is Karyotype Coding and Why Is Genomic Topology Important for Cancer and Evolution? Front Genet. 2019 November 1;10:1082. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01082>
12. Ye CJ, Regan S, Liu G, et al. Understanding aneuploidy in cancer through the lens of system inheritance, fuzzy inheritance and emergence of new genome systems. Molecular cytogenetics. 2018 May 10;11(1):31. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-018-0376-2>
13. Ye CJ, Sharpe Z, Alemara S, et al. Micronuclei and Genome Chaos: Changing the System Inheritance. Genes (Basel). 2019 May 13;10(5):E366. DOI: 10.3390/genes10050366
14. Rangel N, Forero-Castro M, Rondón-Lagos M. New insights in the cytogenetic practice: Karyotypic chaos, non-clonal chromosomal alterations and chromosomal instability in human cancer and therapy response. Genes. 2017 June

- 3;8(6):155. DOI:
<https://doi.org/10.3390/genes8060155>
15. Frias S, Ramos S, Salas C, et al. Non-clonal chromosome aberrations and genome chaos in somatic and germ cells from patients and survivors of hodgkin lymphoma. *Genes (Basel)*. 2019 January 10;10(1):37. DOI:
<https://doi.org/10.3390/genes10010037>
16. Liehr T. Cytogenetically visible copy number variations (CG-CNVs) in banding and molecular cytogenetics of human; about heteromorphisms and euchromatic variants. *Mol Cytogenet*. 2016 January 22;9:5. DOI:
<https://doi.org/10.1186/s13039-016-0216-1>
17. Niederwieser C, Nicolet D, Carroll AJ, et al. Chromosome abnormalities at onset of complete remission are associated with worse outcome in patients with acute myeloid leukemia and an abnormal karyotype at diagnosis: CALGB 8461 (Alliance) *Haematologica*. 2016;101:1516-1523. DOI: 10.3324/haematol.2016.149542
18. Zhang S, Mercado-Urbe I, Xing Z, et al. Generation of cancer stem-like cells through the formation of polyploid giant cancer cells. *Oncogene*. 2014;33:116-128. DOI:
<https://doi.org/10.1038/onc.2013.96>
19. Heng HH, Liu G, Stevens JB, et al. Karyotype heterogeneity and unclassified chromosomal abnormalities. *Cytogenet Genome Res*. 2013 April;139(3):144-157. DOI:
<https://doi.org/10.1159/000348682>
20. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. Chromosomal mosaicism goes global. *Mol. Cytogenet*. 2008 November 25;1:26. DOI:
<https://doi.org/10.1186/1755-8166-1-26>
21. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB, et al. Ontogenetic and Pathogenetic Views on Somatic Chromosomal Mosaicism. *Genes (Basel)*. 2019 May 19;10(5):E379. DOI:
<https://doi.org/10.3390/genes10050379>
22. Heng HH, Regan S, Ye CJ. Genotype, environment, and evolutionary mechanism of diseases. *Environ Dis [Internet]*. 2016 [cited 2020 Feb 29];1:14-23. Available from: <http://www.environmentmed.org/text.asp?2016/1/1/14/180332>
- Received 15 January 2020
Revised 17 February 2020
Accepted 20 February 2020
- Information about the authors**
Henry H. Heng, PhD, Professor, Head of Laboratory, Center for Molecular Medicine and Genomics, and Department of Pathology, Wayne State University School of Medicine, Detroit, MI, United States, E-mail: hheng@med.wayne.edu, ORCID: 0000-0003-1475-9547.



УДК 575.174.015.3:616.379-008.64-092

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-2

Ю.Э. Азарова¹,
Е.Ю. Клёсова¹,
С.Ю. Сакали²,
А.П. Ковалев³

Вклад полиморфизма rs11927381 гена *IGF2BP2*
в патогенез сахарного диабета 2 типа

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация

² Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Курская городская больница №6» Комитета здравоохранения Курской области, ул. Союзная, д. 30, г. Курск, 305022, Российская Федерация

³ Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Курская областная клиническая станция переливания крови» Комитета здравоохранения Курской области, ул. Кольцова, д. 11, г. Курск, 305035, Российская Федерация
Автор для переписки: Ю.Э. Азарова (azzzzar@yandex.ru)

Аннотация

Актуальность: Дисфункция бета-клеток поджелудочной железы, наряду с инсулинорезистентностью периферических тканей, является ключевым звеном патогенеза сахарного диабета 2 типа. В этой связи значительный интерес представляет изучение роли полиморфизмов генов, непосредственно участвующих в работе бета-клеток островков Лангерганса, в формировании предрасположенности к заболеванию. **Цель исследования:** Изучить связь полиморфного варианта гена кодирующего белок 2 связывающий мРНК инсулиноподобного фактора роста 2, *IGF2BP2*, (T>C, rs11927381) с риском развития СД2 у жителей Курской области. **Материалы и методы:** В исследование были включены 559 больных СД2 и 540 практически здоровых добровольцев. Генотипирование полиморфизма гена *IGF2BP2* (T>C, rs11927381) было выполнено с использованием технологии iPLEX на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassArray Analyzer 4 (Agena Bioscience). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью онлайн программы SNPStats. **Результаты:** Частота встречаемости генотипа C/C была значимо выше в группе больных СД2 по сравнению с группой контроля (OR 1,75; 95%CI 1,25-2,44; P=0,0026). Ассоциация сохранила значимость и после введения поправок на пол, возраст и индекс массы тела (OR 1,87; 95%CI 1,26-2,78; P=0,0054). Стратифицированный анализ по полу показал, что выявленная ассоциация была характерна только для мужчин (OR 2,27; 95%CI 1,17-4,40; P=0,041), в то время как у женщин ассоциация не наблюдалась (P>0,05). Генотипы C/T и C/C были ассоциированы со снижением содержания общего холестерина и липопротеинов низкой плотности у больных СД2 (P<0,05). **Заключение:** Установленная ассоциация указывает на вовлеченность гена *IGF2BP2* в формирование предрасположенности к СД2. Изучаемый вариант rs11927381 также связан с более низким содержанием общего холестерина и липопротеинов низкой плотности у пациентов с СД2, что может быть следствием эффектов SNP на эпигенетическом уровне. **Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа; однонуклеотидный полиморфизм; *IGF2BP2*; генетическая предрасположенность

Для цитирования: Азарова ЮЭ, Клёсова ЕЮ, Сакали СЮ, и др. Вклад полиморфизма rs11927381 гена *IGF2BP2* в патогенез сахарного диабета 2 типа. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):9-19. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-2

Iuliia E. Azarova¹,
Elena Yu. Klyosova¹,
Svetlana Yu. Sakali²,
Alexey P. Kovalev³

**Contribution of rs11927381 polymorphism
of the *IGF2BP2* gene to the pathogenesis
of type 2 diabetes**

¹ Kursk State Medical University,
3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia

² Kursk City Hospital N 6,
30 Soyuznaya St., Kursk, 305022, Russia

³ Kursk Regional Clinical Station of Blood Transfusion,
11 Koltsova St., Kursk, 305035, Russia

Corresponding author: Iuliia E. Azarova (azzzzar@yandex.ru)

Abstract

Background: Pancreatic beta-cell dysfunction, along with the insulin resistance of peripheral tissues, is a key element in the pathogenesis of type 2 diabetes (T2D). In this regard, of considerable interest is the study of the role of polymorphisms of the genes directly involved in the work of the beta cells of the islets of Langerhans in the formation of susceptibility to the disease. **The aim of the study:** To study the relationship of the polymorphic variant of the gene encoding insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 2, *IGF2BP2*, (T>C, rs11927381) with the risk of developing T2D in the residents of the Kursk region. **Materials and methods:** The study included 559 patients with type 2 diabetes and 540 healthy volunteers. Genotyping of the *IGF2BP2* gene polymorphism (T>C, rs11927381) was performed using iPLEX technology on a genomic time-of-flight mass spectrometer MassArray Analyzer 4 (Agena Bioscience). Statistical analysis was performed with the use of the online program SNPStats. **Results:** The frequency of the C/C genotype was significantly higher in the group of patients with T2D compared with the control group (OR 1.75; 95% CI 1.25-2.44; P=0.0026). The association retained its significance after adjustment for sex, age and body mass index (OR 1.87; 95% CI 1.26-2.78; P=0.0054). A gender-stratified analysis showed that the identified association was typical only for men (OR 2.27; 95% CI 1.17-4.40; P=0.041), while in women it was not observed (P>0.05). C/T and C/C genotypes were associated with a decrease in total cholesterol and low-density lipoproteins in patients with T2D (P<0.05). **Conclusion:** The established association indicates the involvement of the *IGF2BP2* gene in the formation of susceptibility to T2D. The studied variant of rs11927381 is also associated with lower levels of total cholesterol and low-density lipoproteins in type 2 diabetic patients that may account for the SNP effects on epigenetic markers, such as methylation and acetylation.

Keywords: type 2 diabetes mellitus; single nucleotide polymorphism; *IGF2BP2*; genetic predisposition

For citation: Azarova IE, Klyosova EYu, Sakali SYu, et al. Contribution of rs11927381 polymorphism of the *IGF2BP2* gene to the pathogenesis of type 2 diabetes. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):9-19. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-2

Введение. Распространенность сахарного диабета стремительно растет во всем мире, и по данным Международной диабетической федерации, на сегодняшний день составляет более 425 млн человек [1]. На конец 2018 года в России насчитывалось 4,58 млн больных диабетом, 92,6% которых (4,24 млн человек) страдают сахарным диабетом 2 типа (СД2) [2]. За период с 2000 по 2018 гг число больных СД2 в нашей стране выросло более чем в 2 раза. Всероссийское эпидемиологическое исследование NATION выявило диабетическую гипергликемию у 5,4% участников исследования в возрасте 20-79 лет, что увеличивает общее число пациентов до 8 млн человек [3].

Заболевание представляет собой серьезную многофакторную патологию, в реализации фенотипа которой принимают участие генетические и средовые факторы. Полногеномные ассоциативные исследования, проведенные за последние 12 лет и включавшие более миллиона больных и трех миллионов здоровых лиц, выявили сотни однонуклеотидных вариантов, связанных с риском развития СД2 [4]. Значительная часть обнаруженных полиморфизмов локализована в некодирующих областях генома или межгенных пространствах, что осложняет интерпретацию полученных данных. Локусы, биологическую роль которых удалось установить, в большей степени влияют на бета-клетки поджелудочной железы, определяя их количество, массу, функциональную активность, чувствительность к уровню глюкозы в крови, а также выживаемость в условиях глюкозо- и липотоксичности. Гораздо меньшее количество вариантов ассоциировано с изменениями в сигнализации инсулина в периферических тканях, приводящих к инсулинорезистентности [5]. Помимо снижения чувствительности периферических тканей к инсулину и нарушения его

продукции поджелудочной железой, существующая сегодня концепция патогенеза СД2 включает увеличение продукции глюкозы печенью, усиление секреции глюкагона островками Лангерганса, уменьшение синтеза гормонов желудочно-кишечного тракта инкретиннов, повышение реабсорбции глюкозы почками, усиление всасывания глюкозы в кишечнике, а также повышение активности центров аппетита в гипоталамусе. Перечисленные восемь звеньев составляют так называемый «угрожающий октет» DeFronzo [6], любой компонент которого может способствовать развитию хронической гипергликемии и нарушению практически всех видов обмена.

Одним из генов, связь которого с СД2 была впервые установлена в полногеномных исследованиях, является ген *IGF2BP2*, кодирующий белок 2 связывающий мРНК инсулиноподобного фактора роста 2 [7]. Ассоциация полиморфного варианта rs11927381 с риском СД2 была выявлена на этнически гетерогенной популяции и ни разу не была реплицирована.

Цель исследования. Изучение связи полиморфизма гена *IGF2BP2*, (rs11927381, T>C) с риском развития СД2 у жителей Курской области.

Материалы и методы исследования. Протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом при КГМУ. В исследование вошли 559 больных СД2 (155 мужчин и 404 женщины) со средним возрастом $62,2 \pm 7,5$ лет, находившихся на стационарном лечении в эндокринологическом отделении Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи с января по декабрь 2018 года. Диагноз СД2 устанавливали на основе критериев ВОЗ [8, 9]. Группу контроля составили 540 практически здоровых добровольцев (239 мужчин и 301 женщина) со средним возрастом $61,1 \pm 5,9$ лет, доноров Областной станции переливания

крови, как было описано нами ранее [10, 11]. У всех участников исследования на основе письменного информированного согласия проводили забор 5 мл венозной крови натошак в вакуумные пробирки Vacuette с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Геномную ДНК выделяли с помощью биохимического набора QIAamp DNA BloodMiniKit (Qiagen) на автоматической станции для экстракции белков и нуклеиновых кислот QiaCube (Qiagen). Генотипирование полиморфизма гена *IGF2BP2* (T>C, rs11927381) было выполнено с использованием технологии iPLEX на геномном масс-спектрометре MassArrayAnalyzer 4 (AgenaBioscience). Для проведения биохимических исследований 5 мл крови натошак забирали в вакуумные пробирки с гепарином лития. Концентрации глюкозы, гликированного гемоглобина, триглицеридов, общего холестерина и его подфракций определяли наборами фирмы «Диакон-ДС» на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Clima MC-15 (RAL).

Биоинформатический анализ проводили с применением инструментов STRING (<https://string-db.org>) для визуальной оценки белковых партнеров *IGF2BP2*; GeneOntology (<http://geneontology.org>) для поиска общих генных онтологий партнеров *IGF2BP2*; mQTLDatabase (<http://www.mqtl.org>) и ENCODE (<https://www.encodeproject.org>) для изучения влияния изучаемого SNP на статус метилирования гена и другие эпигенетические метки. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью онлайн программы SNPStats (<https://www.snpstats.net/start.htm>). Тестировали пять генетических моделей: кодоминантную, доминантную, рецессивную, сверхдоминантную и log-аддитивную. Ассоциация считалась значимой при $P < 0,05$. Для проверки нормальности распределения биохимических показателей использовали критерий Колмогорова-Смирнова. Переменные, имеющие нормальное распределение, были описаны с использованием среднего значения (Mean) и стандартного отклонения (St.Dv.) в виде

Mean±St.Dv. В качестве теста статистической значимости использовали тест Стьюдента. Показатели с ненормальным распределением описывали с использованием медианы (Median), первого (Q1) и третьего (Q3) квартилей, в виде: Median [Q1; Q3]. В качестве теста статистической значимости в таких случаях применяли критерий Манна-Уитни. Обнаруженные отличия групп принимались за статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Демографические и лабораторные характеристики больных и здоровых приведены в таблице 1. Стаж диабета составил 10,6 лет. Наследственная отягощенность присутствовала у трети пациентов. Подавляющее большинство больных также страдали артериальной гипертензией, у 31,8% больных была установлена одна из форм ишемической болезни сердца. Анализ результатов биохимического исследования крови выявил классические для СД2 гипергликемию, повышение уровня гликированного гемоглобина, общего холестерина, липопротеинов низкой плотности, триацилглицеролов на фоне снижения содержания липопротеинов высокой плотности.

Данные по частотам аллелей и генотипов *IGF2BP2* у больных и здоровых лиц представлены в таблице 2.

Частота встречаемости генотипа C/C была значимо выше в группе больных СД2 по сравнению с группой контроля (OR 1,75; 95%CI 1,25-2,44; $P = 0,0026$, кодоминантная модель). Ассоциация сохранила значимость и после введения поправок на пол, возраст и индекс массы тела (OR 1,87; 95%CI 1,26-2,78; $P = 0,0054$, кодоминантная модель). Стратифицированный анализ по полу (табл. 3) показал, что выявленная ассоциация была характерна только для мужчин (OR 2,27; 95%CI 1,17-4,40; $P = 0,041$, кодоминантная модель), в то время как у женщин после введения поправок на возраст и индекс массы тела ассоциация не наблюдалась ($P > 0,05$). Тем не менее, частота минорного аллеля C была значимо выше у пациентов с СД2 как в общей выборке, так и в подгруппах мужчин и женщин.

Таблица 1

Клинико-лабораторные показатели участников исследования

Table 1

Clinical and laboratory characteristics of the study participants

Параметры сравнения	Контроль, n=540	Больные СД2, n=559	P
Возраст, ср.±ст.откл.	61,1±5,9	62,2±7,5	0,17
Число мужчин, n (%)	239 (44,2)	155 (27,7)	<0,0001
Индекс массы тела, кг/м ²	26,4±4,6	32,7±4,9	<0,0001
Стаж диабета, Ме [Q1; Q3]	-	10,6 [3; 12]	-
Наследственная отягощенность, n (%)	-	186 (33,3)	-
Артериальная гипертензия, n (%)	-	469 (83,9%)	-
ИБС, n (%)	-	178 (31,8)	-
HbA _{1c} (%), Ме [Q1; Q3]	4,69 [4,12; 4,97]	8,90 [7,97; 10,80]	<0,0001
Глюкоза крови натощак, Ме [Q1; Q3]	4,56 [4,41; 4,88]	11,70 [9,34; 15,11]	<0,0001
Общий холестерин (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	3,11 [2,89; 3,18]	4,81 [4,10; 6,04]	<0,0001
ЛПН (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	1,77 [1,51; 1,76]	3,12 [2,48; 4,09]	<0,0001
ЛВП (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	1,38 [1,32; 1,67]	0,82 [0,74; 1,08]	<0,0001
ТАГ (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	1,13 [0,92; 1,36]	2,27 [1,85; 3,02]	<0,0001

Примечание: ЛНП – липопротеины низкой плотности; ЛВП – липопротеины высокой плотности; ТАГ – триацилглицеролы

Note: ЛНП – low density lipoproteins; ЛВП – high density lipoproteins; ТАГ – triacylglycerols

Таблица 2

Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей изучаемого гена

Table 2

Comparative analysis of frequencies of the studied gene genotypes and alleles

Модель	Генотип / Аллель	Контроль, n=540	Больные СД2, n=559	OR (95% CI)	P	OR* (95% CI)	P*
-	C	35,9	43,6	1,38 (1,16-1,63)	0,00026	-	-
Кодоминантная	T/T	238 (44,1%)	195 (34,9%)	1,00	0,0026	1,00	0,0054
	C/T	216 (40%)	241 (43,1%)	1,36 (1,05-1,77)		1,40 (1,02-1,92)	
	C/C	86 (15,9%)	123 (22%)	1,75 (1,25-2,44)		1,87 (1,26-2,78)	
Доминантная	T/T	238 (44,1%)	195 (34,9%)	1,00	0,0018	1,00	0,0039
	C/T-C/C	302 (55,9%)	364 (65,1%)	1,47 (1,15-1,88)		1,53 (1,14-2,05)	
Рецессивная	T/T-C/T	454 (84,1%)	436 (78%)	1,00	0,01	1,00	0,013
	C/C	86 (15,9%)	123 (22%)	1,49 (1,10-2,02)		1,58 (1,10-2,26)	
Сверхдоминантная	T/T-C/C	324 (60%)	318 (56,9%)	1,00	0,3	1,00	0,38
	C/T	216 (40%)	241 (43,1%)	1,14 (0,89-1,45)		1,14 (0,85-1,52)	
Log-аддитивная	---	---	---	1,33 (1,13-1,56)	0,0006	1,37 (1,13-1,66)	0,0012

Примечание: OR* (95% CI) – отношение шансов и доверительный интервал при поправке на пол, возраст и ИМТ; P* – уровень значимости при поправке на пол, возраст и ИМТ

Note: OR* (95% CI) – odds ratio and confidence interval when adjusted for gender, age and BMI; P* – significance level when adjusted for gender, age and BMI

Таблица 3

**Стратифицированный по полу сравнительный анализ частот генотипов
и аллелей изучаемого гена**

Table 3

**Gender-stratified comparative analysis of frequencies of the studied gene genotypes
and alleles**

Модель	Гено-тип/Аллель	Контроль, n=540	Больные СД2, n=559	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)*	P*
Мужчины							
-	C	36,2	48,4	1,65 (1,24-2,21)	0,001	-	-
Кодоминантная	T/T	103 (43,1%)	44 (28,4%)	1,00	0,0049	1,00	0,041
	C/T	99 (41,4%)	72 (46,5%)	1,70 (1,07-2,71)		1,59 (0,93-2,73)	
	C/C	37 (15,5%)	39 (25,2%)	2,47 (1,39-4,37)		2,27 (1,17-4,40)	
Доминантная	T/T	103 (43,1%)	44 (28,4%)	1,00	0,0029	1,00	0,023
	C/T-C/C	136 (56,9%)	111 (71,6%)	1,91 (1,24-2,95)		1,78 (1,08-2,93)	
Рецессивная	T/T-C/T	202 (84,5%)	116 (74,8%)	1,00	0,018	1,00	0,061
	C/C	37 (15,5%)	39 (25,2%)	1,84 (1,11-3,04)		1,76 (0,98-3,16)	
Сверхдоминантная	T/T-C/C	140 (58,6%)	83 (53,5%)	1,00	0,33	1,00	0,49
	C/T	99 (41,4%)	72 (46,5%)	1,23 (0,82-1,84)		1,18 (0,74-1,90)	
Log-аддитивная	---	---	---	1,59 (1,20-2,10)	0,0012	1,52 (1,09-2,10)	0,012
Женщины							
-	C	35,7	41,7	1,29 (1,04-1,60)	0,023	-	-
Кодоминантная	T/T	135 (44,9%)	151 (37,4%)	1,00	0,099	1,00	0,32
	C/T	117 (38,9%)	169 (41,8%)	1,29 (0,93-1,80)		1,24 (0,83-1,86)	
	C/C	49 (16,3%)	84 (20,8%)	1,53 (1,01-2,34)		1,44 (0,87-2,41)	
Доминантная	T/T	135 (44,9%)	151 (37,4%)	1,00	0,046	1,00	0,17
	C/T-C/C	166 (55,1%)	253 (62,6%)	1,36 (1,01-1,85)		1,30 (0,90-1,89)	
Рецессивная	T/T-C/T	252 (83,7%)	320 (79,2%)	1,00	0,13	1,00	0,28
	C/C	49 (16,3%)	84 (20,8%)	1,35 (0,91-1,99)		1,30 (0,81-2,07)	
Сверхдоминантная	T/T-C/C	184 (61,1%)	235 (58,2%)	1,00	0,43	1,00	0,61
	C/T	117 (38,9%)	169 (41,8%)	1,13 (0,83-1,53)		1,10 (0,76-1,59)	
Log-аддитивная	---	---	---	1,25 (1,02-1,53)	0,033	1,21 (0,94-1,55)	0,13

Примечание: OR* (95% CI) – отношение шансов и доверительный интервал при поправке на пол, возраст и ИМТ; P* – уровень значимости при поправке на пол, возраст и ИМТ

Note: OR* (95% CI) – odds ratio and confidence interval when adjusted for gender, age and BMI; P* – significance level when adjusted for gender, age and BMI

Мы также проанализировали связь всех количественных биохимических показателей, измеренных в плазме крови больных и здоровых, с генотипами *IGF2BP2* (табл. 4). Как оказалось, генотипы C/T и C/C ассоциированы со снижением содержания общего холестерина на 0,31 и 0,32 ммоль/л, соответственно (P=0,036,

кодоминантная модель). Кроме того, генотип C/C связан и со снижением уровня липопротеинов низкой плотности на 0,45 ммоль/л у больных СД2 (P=0,041, кодоминантная модель). Значимых взаимосвязей *IGF2BP2* с другими метаболическими показателями выявлено не было.

Таблица 4

Ассоциации генотипов *IGF2BP2* показателями липидного обмена пациентов с СД2

Table 4

Associations of *IGF2BP2* with parameters of lipid metabolism of type 2 diabetic patients

Генотип	n	Ср.±ст.откл., ммоль/л	Отличие (95% CI)	P
Общий холестерин				
T/T	192	5,19±0,1	0,00	0,036 ^{CD}
T/C	238	4,88±0,08	-0,31 (-0,56 - -0,05)	
C/C	119	4,88±0,12	-0,32 (-0,62 - -0,01)	
ЛНП				
T/T	142	3,55±0,12	0,00	0,041 ^{CD}
T/C	169	3.28±0.1	-0.27 (-0.57 - 0.03)	
C/C	84	3.10±0.14	-0.45 (-0.82 - -0.09)	

Примечание: CD – кодоминантная модель

Note: CD – codominant model

Инструмент STRING выявил функциональных партнеров *IGF2BP2* (рис. 1): ими являются белки, принадлежащие к семейству инсулиноподобных факторов роста (*IGF2*, *IGFBP1*, *IGFBP2*, *IGFBP3*, *IGFBP4*, *IGFBP5*, *IGFBP6*, *IGF1R*, *IGF2R*), белки Wnt-сигнального пути (*TCF7L2*, *EP300*, *CTNNB1*, *MYC*, *CREBBP*, *TLE1*, *TLE3*, *TLE4*, *NLK*, *AXIN2*), а также белки,

регулирующие глюкозостимулированную секрецию инсулина (*HHEX*, *CDKAL1*, *JAZF1*, *FTO*, *THADA*, *CDC123*, *SLC30A8*, *KCNJ11*, *ABCC8*, *ABCC9*). Таким образом, *IGF2BP2*, совместно с другими белками сети, участвует в процессинге проинсулина, регуляции синтеза рецепторов кинкретинам, активации пролиферации бета-клеток и подавлении их апоптоза [12-14].

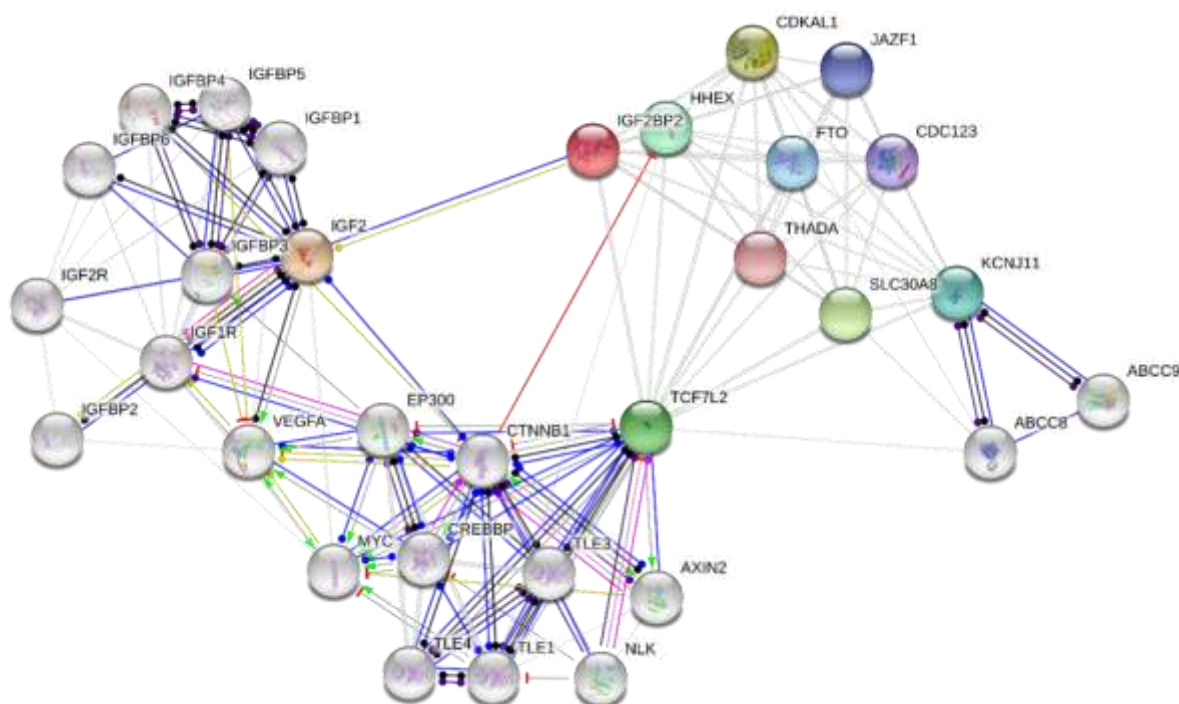


Рис. 1. Сеть белковых партнеров *IGF2BP2*

Fig. 1. *IGF2BP2* protein network

Согласно экспериментальным данным по оценке эффектов однонуклеотидных вариантов ДНК на статус метилирования генов mQTL, аллель Crs11927381 связан с гипометилированием *IGF2BP2* (табл. 5), а, следовательно, с увеличением экспрессии этого гена в различные периоды жизни. Действительно, Marselli и соавторы [15] показали повышенную концентрацию

мРНК *IGF2BP2* в бета-клетках островкового аппарата пациентов с СД2 по сравнению с группой контроля. Увеличение экспрессии *IGF2BP2* может способствовать увеличению образования *IGF2* и недостатку митохондриального белка-разобщителя *UCP1*, что влечет за собой развитие ожирения, инсулинорезистентности и нарушения секреции инсулина [16-18].

Таблица 5
Эффекты изучаемого полиморфизма на статус метилирования *IGF2BP2*

Table 5

Effects of the studied SNP on *IGF2BP2* methylation status

Период жизни	A1	A2	MAF	CpG	beta	t-stat	EffectSize	P
Подростковый	C	T	0,295	cg23956648	-0,3248	-8,3158	0,04529	3,68e-16
Младенчество	C	T	0,288	cg18267471	-0,3303	-6,8595	0,00130	1,42e-11
Детство	C	T	0,296	cg18267471	-0,2657	-5,8454	0,00088	7,25e-09
Детство	C	T	0,296	cg23956648	-0,2831	-8,2955	0,03068	4,33e-16
Средний возраст	C	T	0,304	cg18267471	-0,3297	-6,9746	0,00127	6,81e-12
Средний возраст	C	T	0,304	cg12781915	-0,2448	-5,4855	0,00449	5,66e-08
Средний возраст	C	T	0,304	cg23956648	-0,3083	-8,1151	0,03790	2,02e-15
Беременность	C	T	0,306	cg15487251	-0,2513	-5,7721	0,02412	1,14e-08
Беременность	C	T	0,306	cg23956648	-0,4299	-10,1204	0,05788	1,13e-22

Биоинформатический инструмент ENCODE позволил определить, что вариантный аллель С входит в состав цисрегуляторного элемента с участком гиперчувствительности к ДНК-азе ($Z > 1,64$). Изучаемый SNP также ассоциирован с модификацией гистона H3, а именно, сацетилированием остатка лизина 27 (Z для H3K27 $> 1,64$), что согласно экспериментальным данным, сопряжено с повышением экспрессии [19]. Открытый хроматин в данном регуляторном элементе создает участки связывания для пяти транскрипционных факторов: USF1, USF2, FCAG-NFYC и RAD51. Анализ обогащения генных онтологий Gene Ontology обнаружил, что перечисленные транскрипционные факторы обеспечивают глюкозоиндуцированную активацию транскрипции ($P = 2,72 \cdot 10^{-7}$, $FDR = 4,3 \cdot 10^{-3}$) гена *IGF2BP2*. Кроме того, в ряде работ было показано, что транскрипционный фактор USF1 обладает мощным регуляторным потенциалом в отношении генов липидного

обмена и вовлечен в патогенез семейной комбинированной гиперлипидемии [20, 21]. Таким образом, обнаруженная в нашем исследовании взаимосвязь генотипов *IGF2BP2* суровнями общего холестерина и липопротеинов низкой плотности может отражать эффект не самого гена, а являться следствием транскрипционного контроля метаболизма глюкозы и липидов со стороны ассоциированных с изучаемым SNP белковых факторов, в частности, USF1.

Выводы. Проведенное нами исследование выявило ассоциацию варианта rs11927381 гена *IGF2BP2* с повышенным риском развития СД2. Мы также установили взаимосвязь изучаемого полиморфизма с уровнем общего холестерина и липопротеинов низкой плотности и предложили биоинформатическое обоснование этого факта с позиций эффектов SNP на эпигенетические модификации гистонов и открытость хроматина, регулирующие экспрессию *IGF2BP2* и осуществляющие

сложный транскрипционный контроль метаболизма.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 / N. Cho [et al.] // Diabetes research and clinical practice. 2018. Vol. 138. P. 271-281. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023>
2. Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным Федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г. / И.И. Дедов [и др.] // Сахарный диабет. 2018. Т. 21, N 3. С. 144-159. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM9686>
3. Шестакова М.В., Сухарева О.Ю. Диагностика и выбор метода лечения сахарного диабета 2 типа // Клиническая фармакология и терапия. 2018. Т. 27, N 2. С. 3-9.
4. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019 / A. Buniello [et al.] // Nucleic acids research. 2018. Vol. 47(D1). P. D1005-D1012. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1120>
5. Shah M., Vella A. What is type 2 diabetes? // Medicine. 2014. Vol. 42(12). P. 687-691. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2014.09.013>
6. De Fronzo R.A. From triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus // Diabetes. 2009. Vol. 58(4). P. 773-95. DOI: 10.2337/db09-9028
7. Cook J.P., Morris A.P. Multi-ethnic genome-wide association study identifies novel locus for type 2 diabetes susceptibility // Eur. J. Hum. Genet. 2016. Vol. 24(8). P. 1175-1180. DOI: <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.17>
8. World Health Organization: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications: Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Geneva: World Health Org., 1999.
9. World Health Organization. Global report on diabetes: executive summary (No. WHO/NMH/NVI/16.3). WorldHealthOrganization, 2016.
10. Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene-gene and gene-smoking interaction and disease susceptibility / I. Azarova [et al.] // J. Diabetes. 2018. Vol. 10(5). P. 398-407. DOI: <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12623>
11. Азарова Ю.Э., Клесова Е.Ю., Конопля А.И. Роль полиморфизмов генов глутаматцистеинлигазы в развитии сахарного диабета 2 типа у жителей Курской области // Научный результат. Медицина и фармация. 2018. Т. 4, N 1. С. 39-52. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-39-52
12. Jin T. Current understanding on role of the Wnt signaling pathway effector TCF7L2 in glucose homeostasis // Endocrine reviews. 2016. Vol. 37, N 3. P. 254-277. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2015-1146>
13. Transcription factor-7-like 2 (TCF7L2) gene acts downstream of the Lkb1/Stk11 kinase to control mTOR signaling, β cell growth, and insulin secretion / M.S. Nguyen-Tu [et al.] // Journal of Biological Chemistry. 2018. Vol. 293(36). P. 14178-14189. DOI: 10.1074/jbc.RA118.003613
14. TCF7L2 in mouse pancreatic beta cells plays a crucial role in glucose homeostasis by regulating beta cell mass / I. Takamoto [et al.] // Diabetologia. 2014. Vol. 57(3). P. 542-553. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3131-6>
15. Gene expression profiles of Beta-cell enriched tissue obtained by laser capture microdissection from subjects with type 2 diabetes / L. Marselli [et al.] // PloS one. 2010. Vol. 5(7). P. 11499. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011499>
16. IGF2BP2/IMP2-deficient mice resist obesity through enhanced translation of Ucp1 mRNA and other mRNAs encoding mitochondrial proteins / N. Dai [et al.] // Cell metab. 2015. Vol. 21(4). P. 609-621. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.03.006>
17. Blood-based analysis of type-2 diabetes mellitus susceptibility genes identifies specific transcript variants with deregulated expression and association with disease risk / M.I. Christodoulou [et al.] // Sci. Rep. 2019. Vol. 9(1). P. 1512. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37856-1>
18. Livingstone C., Borai A. Insulin-like growth factor-II: its role in metabolic and endocrine disease // Clin. Endocrinol. 2014. Vol. 80(6). P. 773-781. DOI: <https://doi.org/10.1111/cen.12446>

19. Whole-genome maps of USF1 and USF2 binding and histone H3 acetylation reveal new aspects of promoter structure and candidate genes for common human disorders / A. Rada-Iglesias [et al.] // *Genome research*. 2008. Vol. 18(3). P. 380-392. DOI: 10.1101/gr.6880908

20. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1) / P. Pajukanta[et al.] // *Nature genetics*. 2004. Vol. 36(4). P. 371-376. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng1320>

21. USF1 and dyslipidemias: converging evidence for a functional intronic variant / J.Naukkarinen [et al.] // *Human molecular genetics*. 2005. Vol. 14(17). P. 2595-2605. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi294>

References

1. Cho N, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*. 2018 Apr; 138:271-281. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023>

2. Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, et al. [Diabetes mellitus in the Russian Federation: prevalence, morbidity, mortality, parameters of glycaemic control and structure of glucose lowering therapy according to the Federal Diabetes Register, status 2017]. *Diabetes mellitus*. 2018;21(3):144-159. Russian. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM9686>

3. Shestakova MV, Sukhareva OYu. [Diagnostics and choice of method treatment of type 2 diabetes mellitus]. *Clinical pharmacology and therapy*. 2018;27(2):3-9. Russian.

4. Buniello A, MacArthur JAL, Cerezo M, et al. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic acids research*. 2018;47(D1):D1005-D1012. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1120>

5. Shah M, Vella A. What is type 2 diabetes? *Medicine*. 2014;42(12):687-691. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2014.09.013>

6. De Fronzo RA. From triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*. 2009 Apr;58(4):773-95. DOI: 10.2337/db09-9028

7. Cook JP, Morris AP. Multi-ethnic genome-wide association study identifies novel locus for type 2 diabetes susceptibility. *Eur. J. Hum. Genet*. 2016;24(8):1175-1180. DOI: <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.17>

8. World Health Organization: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications: Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Geneva, World Health Org.; 1999.

9. World Health Organization. Global report on diabetes: executive summary (No. WHO/NMH/NVI/16.3). WorldHealthOrganization; 2016.

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

11. Azarova YuE, Klyosova EYu, Konoplya AI. [The role of polymorphisms of glutamate-cysteine ligase in type 2 diabetes mellitus susceptibility in Kursk population]. *Research Result. Medicine and Pharmacy*. 2018;4(1):39-52. Russian. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-39-52

12. Jin T. Current understanding on role of the Wnt signaling pathway effector TCF7L2 in glucose homeostasis. *Endocrine reviews*. 2016 June;37(3):254-277. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2015-1146>

13. Nguyen-Tu MS, da Silva XG, Leclerc I, et al. Transcription factor-7-like 2 (TCF7L2) gene acts downstream of the Lkb1/Stk11 kinase to control mTOR signaling, β cell growth, and insulin secretion. *Journal of Biological Chemistry*. 2018;293(36):14178-14189. DOI: 10.1074/jbc.RA118.003613

14. Takamoto I, Kubota N, Nakaya K, et al. TCF7L2 in mouse pancreatic beta cells plays a crucial role in glucose homeostasis by regulating beta cell mass. *Diabetologia*. 2014;57(3):542-553. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3131-6>

15. Marselli L, Thorne J, Dahiya S, et al. Gene expression profiles of Beta-cell enriched tissue obtained by laser capture microdissection from subjects with type 2 diabetes. *PloS one*. 2010;5(7):11499. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011499>

16. Dai N, Zhao L, Wrighting D, et al. IGF2BP2/IMP2-deficient mice resist obesity through enhanced translation of Ucp1 mRNA and other mRNAs encoding mitochondrial proteins. *Cell metab*. 2015 Apr;21(4):609-621. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.03.006>

17. Christodoulou MI, Avgeris M, Kokkinopoulou I, et al. Blood-based analysis of type-2 diabetes mellitus susceptibility genes identifies specific transcript variants with deregulated expression and association with disease risk. *Sci. Rep.* 2019;9(1):1512. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37856-1>
18. Livingstone C, Borai A. Insulin-like growth factor-II: its role in metabolic and endocrine disease. *Clin. Endocrinol.* 2014;80(6):773-781. DOI: <https://doi.org/10.1111/cen.12446>
19. Rada-Iglesias A, Ameer A, Kapranov P, et al. Whole-genome maps of USF1 and USF2 binding and histone H3 acetylation reveal new aspects of promoter structure and candidate genes for common human disorders. *Genome research.* 2008;18(3):380-392. DOI: 10.1101/gr.6880908
20. Pajukanta P, Lilja HE, Sinsheimer JS, et al. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1). *Nature genetics.* 2004;36(4):371-376. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng1320>
21. Naukkarinen J, Gentile M, Soro-Paavonen A, et al. USF1 and dyslipidemias: converging evidence for a functional intronic variant. *Human molecular genetics.* 2005 Sept;14(17):2595-2605. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi294>

Статья поступила в редакцию 30 августа 2019 г.
Поступила после доработки 25 октября 2019 г.
Принята к печати 16 ноября 2019 г.

Received 30 August 2019
Revised 25 October 2019
Accepted 16 November 2019

Информация об авторах

Юлия Эдуардовна Азарова, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии КГМУ, заведующая лабораторией биохимической генетики и метаболомики НИИ

генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: azzzzar@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-8098-8052.

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

Светлана Юрьевна Сакали, врач-эндокринолог, заместитель главного врача по амбулаторно-поликлинической работе ОБУЗ «Курская городская больница № 6», E-mail: s.sakali00@mail.ru, ORCID: 0000-0001-1001-2001.

Алексей Павлович Ковалев, главный врач, ОБУЗ «Курской областной клинической станции переливания крови», E-mail: okspk46@mail.ru, ORCID: 0000-0001-1001-2001.

Information about the authors

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

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

Svetlana Yu. Sakali, Endocrinologist, Deputy Chief Physician for Outpatient Work, Kursk City Hospital N 6, E-mail: s.sakali00@mail.ru, ORCID: 0000-0001-1001-2001.

Alexey P. Kovalev, Chief Physician, Kursk Regional Clinical Station of Blood Transfusion, E-mail: okspk46@mail.ru, ORCID: 0000-0001-1001-2001.



УДК 575.162:575.167:57.024

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-3

Р.Ф. Еникеева,
А.В. Казанцева,
Ю.Д. Давыдова,
Э.К. Хуснутдинова

Роль полиморфных вариантов гена контактин-ассоциированно-подобного белка-2 (CNTNAP2) в формировании различий в уровнях тревожности

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук,
просп. Октября, д. 71, г. Уфа, 450054, Российская Федерация
Автор для переписки: А.В. Казанцева (Kazantsa@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Изучение многофакторной природы формирования тревожности обусловлено ее участием во многих аспектах развития человека: физического и психического здоровья, функционировании эмоциональной сферы и общения, учебной деятельности и других. В свою очередь, излишняя тревожность может приводить к развитию различных психопатологий, включая депрессивное, суицидальное, аддиктивное поведение, что обуславливает ее социальную значимость. Кроме классических путей моноаминергической нейротрансмиссии в формирование индивидуальных различий в уровне тревожности могут быть вовлечены нейробиологические механизмы, обуславливающие вариации в синаптической пластичности и нейротрофике. Контактин-ассоциированно-подобный белок-2 (contactin associated protein-like 2, Caspr2, кодируется геном *CNTNAP2*, 7q35) является важным элементом, вовлеченным в регуляцию этого процесса. Изменения в последовательности гена *CNTNAP2* связывают с формированием ряда психопатологий и аффективных фенотипов.

Цель исследования: Целью настоящего исследования являлась оценка основного эффекта полиморфных вариантов *rs2530310*, *rs2710102* и *rs10251794* гена *CNTNAP2* и гаплотипического эффекта в формировании индивидуальных вариаций в уровне ситуативной и личностной тревожности у психически здоровых индивидов 17-24 лет разной этнической принадлежности. **Материалы и методы:** Уровень ситуативной и личностной тревожности был оценен с помощью опросника Спилбергера-Ханина у 523 психически здоровых индивидов (75,7% женщин) из Республики Башкортостан (средний возраст 20,99±3,32 лет) разной этнической принадлежности. Генотипирование полиморфных локусов *rs2530310*, *rs2710102* и *rs10251794* в гене *CNTNAP2* проведено с помощью ПЦР. Оценка основного эффекта полиморфных локусов и гаплотипов гена *CNTNAP2* в вариации уровня тревожности осуществлялась в ходе линейного регрессионного анализа (PLINK v.1.09). **Результаты:** Была выявлена ассоциация полиморфного локуса *rs10251794* гена *CNTNAP2* с вариациями в уровне ситуативной тревожности как в общей выборке ($\beta = 1,97$; $P = 0,002$; $P_{FDR} = 0,007$), так и среди мужчин ($\beta = 3,14$; $P = 0,011$; $P_{FDR} = 0,032$) при рассмотрении аддитивного (A/A vs. A/T vs. T/T в локусе *rs10251794*) и доминантного эффекта аллеля (A/A + A/T vs. T/T в локусе *rs10251794*). **Заключение:** Полученные данные указывают на возможную вовлеченность гена контактин-

ассоциированно-подобного белка-2, участвующего в регуляции синаптической пластичности и нейрогенеза, в формирование индивидуальных различий в эмоциональной сфере.

Ключевые слова: тревожность; контактин; синаптическая пластичность; анализ ассоциаций; психогенетика; полиморфный локус

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№АААА-А16-116020350032-1) при частичной поддержке РФФИ (проект № 17-29-02195). Образцы ДНК для исследования взяты из ЦКП "Коллекция биологических материалов человека" ИБГ УФИЦ РАН, поддержанного Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашением № 007-030164/2).

Для цитирования: Еникеева РФ, Казанцева АВ, Давыдова ЮД, и др. Роль полиморфных вариантов гена контактин-ассоциированно-подобного белка-2 (*CNTNAP2*) в формировании различий в уровнях тревожности. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):20-36. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-3

Renata F. Enikeeva,
Anastasiya V. Kazantseva,
Julia D. Davydova,
Elza K. Khusnutdinova

The role of polymorphic variants of the
contactin-associated-like protein-2 (*CNTNAP2*) gene
in the formation of differences in anxiety levels

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Branch of the Russian Academy of Sciences,
71 Oktyabrya Ave., Ufa, 450054, Russia

Corresponding author: Anastasiya V. Kazantseva (Kazantseva@mail.ru)

Abstract

Background: The study of the multifactor nature of anxiety is caused by its role in multiple aspects of human development including physical and mental health, emotional sphere and social activity, education, etc. In turn, excessive anxiety can result in developing various psychopathologies including depression, suicidal and addictive behavior, thus determining its social significance. Together with the monoaminergic neurotransmission, the neurobiological mechanisms involved in synaptic plasticity and neurotrophics can cause individual differences in anxiety. The contactin associated protein-like 2 (Caspr2 encoded by the *CNTNAP2* gene, 7q35) is one of the significant elements of this process. Changes in the nucleotide sequence of the *CNTNAP2* gene are associated with developing several psychopathologies and affective-related phenotypes. **The aim of the study:** The present study is aimed at estimating the main effect of the polymorphic variants rs2530310, rs2710102 and rs10251794 of the *CNTNAP2* gene and the haplotypic effect in the formation of individual variations in the level of situational and personal anxiety in mentally healthy individuals of different ethnicity aged 17-24 years. **Materials and methods:** State and trait anxiety were assessed with the Spielberger State-Trait Anxiety Inventory (STAI) in 523 mentally healthy individuals (75,7% of women) of different ethnicity from the Republic of Bashkortostan (mean age: 20.99 ± 3.32 years). Genotyping of the *CNTNAP2* gene polymorphisms (rs2530310, rs2710102 and rs10251794) was conducted with PCR. The evaluation of the main effect of polymorphic loci and haplotypes of the *CNTNAP2* gene in variations in the level of anxiety was carried out in the course of linear regression analysis (PLINK v.1.09). **Results:** As a result of the analysis,

CNTNAP2 rs10251794 was associated with state anxiety in the total sample ($\beta = 1.97$; $P = 0.002$; $P_{FDR} = 0.007$) and in men ($\beta = 3.14$; $P = 0.011$; $P_{FDR} = 0.032$), while considering the additive effect of minor allele (A/A vs. A/T vs. T/T in rs10251794) and dominant effect of minor allele (A/A + A/T vs. T/T in rs10251794), which survived FDR-correction for multiple testing. **Conclusion:** The obtained data indicate the possible involvement of contactin associated protein-like 2 regulating synaptic plasticity and neurogenesis in individual differences in emotional control and anxiety-related traits.

Keywords: anxiety; synaptic plasticity; association analysis; psychogenetics; SNP

Acknowledgements: The study was partially supported by the State Contract of the Ministry of Science and Education of RF (№AAAA-A16-116020350032-1) and by the Russian Foundation for Basic Research (project № 17-29-02195). DNA samples for the study were provided by the IBG UFRC RAS collection “Collection of human biological materials” developed within the project № 007-030164/2.

For citation: Enikeeva RF, Kazantseva AV, Davydova JD, et al. The role of polymorphic variants of the contactin-associated-like protein-2 (*CNTNAP2*) gene in the formation of differences in anxiety levels. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(1):20-36. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-3

Введение. В течение нескольких последних десятилетий российскими и зарубежными специалистами в области психогенетики и смежных дисциплин активно исследуются различные формы тревожности и сопутствующих аффективных расстройств (депрессии, суицидального поведения, биполярного расстройства, агрессии, и др.). Такой интерес обусловлен влиянием тревоги на многие аспекты развития человека: физическое и психическое здоровье, развитие эмоциональной сферы и общение, учебную деятельность и т.д. Именно тревожность лежит в основе целого ряда психологических трудностей, в том числе многих нарушений развития [1]. Известно, что тревожность у человека определяется как комплексный феномен, характеризующийся специфическими когнитивными, аффективными и поведенческими реакциями на уровне целой личности в зависимости от степени выраженности в индивидуальном эмоциональном пространстве объективных и субъективных источников угрозы [2]. С эволюционной точки зрения тревожность была необходима индивиду для того, чтобы избежать опасности [3]. Однако, излишняя тревожность может приводить к развитию различных психопатологий, включая депрес-

сию, СП, АП, аддиктивное поведение, что обуславливает ее социальную значимость. Излишняя тревожность в детском возрасте препятствует нормальному усвоению школьной программы, проблемам в социальной адаптации, что впоследствии может привести к развитию девиантного (кондуктивного) поведения, с одной стороны, и попыткам суицида, с другой.

Формирование тревожности имеет многофакторную природу, поскольку обусловлено вовлеченностью как генетического (эпигенетического), так и средового компонента. Согласно данным близнецовых исследований, коэффициент наследуемости уровня тревожности составляет 30-41% [4], что способствовало проведению многочисленных молекулярно-генетических исследований, выявивших взаимосвязь между определенными вариантами генов нейромедиаторных систем мозга, серотонинергической системы, в частности, и индивидуальными различиями в уровне тревожности [5]. Кроме классических путей моноаминергической нейротрансмиссии в формирование индивидуальных различий в уровне тревожности могут быть вовлечены нейробиологические механизмы, обуславливающие вариации в синаптической пластичности и

нейротрофике [6]. Последний механизм представляет собой способность синапсов к функциональным и морфологическим перестройкам в процессе синаптической активности. Нарушение регуляции синаптической пластичности было связано с различными психическими и неврологическими [7], а также когнитивными нарушениями [8]. С другой стороны, индивидуальные свойства личности тесно связаны с определенными нейробиологическими механизмами, включая синаптическую пластичность [9].

Одним из важных элементов, участвующих в синаптической пластичности, является контактин-ассоциированно-подобный белок-2 (contactin associated protein-like 2, Caspr2, кодируется геном *CNTNAP2*, 7q35), который взаимосвязан с калиевыми каналами и другими молекулами адгезии, способствует созданию функциональных субдоменов миелинизированных аксонов. Делеции в гетерозиготном состоянии в гене *CNTNAP2* приводят к изменениям в регуляции генов, вовлеченных в нейрональное развитие и нейрональную активность [10]. Согласно анализу сигнальных путей, ассоциированных с формированием различных психологических и психиатрических фенотипов, ген *CNTNAP2* участвует в регуляции поведения [11]. В частности, ген *CNTNAP2* вовлечен в развитие расстройств аутистического спектра (РАС) [12, 13], которые, с одной стороны, характеризуются нарушениями социальной активности и лингвистических способностей, а, с другой стороны, характеризуются излишней тревожностью [14]. Таким образом, ген *CNTNAP2* может рассматриваться в качестве кандидата при изучении не только дефицита социально-обусловленных свойств личности, но и свойств личности, характеризующих ее аффективную составляющую. Стратегия поиска взаимосвязи гена с вариацией признака основывается на выявлении ассоциации между полиморфными вариантами кандидатного гена и фенотипом. К настоящему времени наиболее изученными в гене *CNTNAP2* являются полиморфные ло-

кусы rs7794745 и rs2710102, которые рассматриваются как функционально-значимые [15, 16]. В частности, с помощью метода функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) была показана активация префронтальных регионов мозга наблюдалась у индивидов-носителей «рискового» аллеля локуса rs2710102 в ответ на выполнение лингвистического задания [15]. Однако, опубликованные результаты противоречивы. Поскольку ген *CNTNAP2* затрагивает более 2,5 Мб в регионе 7q35–36.1, имеет смысл рассмотреть вовлеченность других дистальных полиморфных локусов этого гена в вариацию уровня тревожности. В частности, несмотря на то, что интрон 3 гена *CNTNAP2* не содержит известных функциональных элементов, делеции в этой области гена связывают с рядом психических признаков [17]. Кроме того, ранее полиморфный локус rs10251794, находящийся в интроне 3, был ассоциирован с некоторыми индивидуальными личностными свойствами на уровне полногеномного анализа ассоциаций [18]. С другой стороны, известно, что изменения в 3'-нетранслируемой области гена могут регулировать экспрессию гена вследствие изменения сродства связывания регуляторных микроРНК с таргетными участками гена-мишени. В связи с этим, в рамках данного исследования помимо функционального локуса rs2710102 были изучены однонуклеотидные полиморфные маркеры rs2530310 и rs10251794 в гене *CNTNAP2*, расположенные в 3'-нетранслируемой области и интроне 3, соответственно.

Цель исследования. Поскольку многочисленные молекулярно-генетические исследования указывают на вовлеченность гена *CNTNAP2* в развитие некоторых психических расстройств, и, основываясь на «гипотезе универсальных генов», мы предположили, что варианты гена *CNTNAP2* могут быть связаны с формированием тревожных состояний.

Целью настоящего исследования являлась оценка как основного эффекта полиморфных вариантов rs2530310,

rs2710102 и rs10251794 гена *CNTNAP2*, так и гаплотипического эффекта в формировании индивидуальных вариаций в уровне ситуативной и личностной тревожности у психически здоровых индивидов 17-24 лет разной этнической принадлежности.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие 523 психически здоровых индивида (75,7% женщин) из Республики Башкортостан (средний возраст $20,99 \pm 3,32$ лет) разной этнической принадлежности (русские – 119, татары – 143, башкиры – 94, индивиды смешанной этнической принадлежности – 167). Все индивиды являлись студентами ВУЗов без наследственной отягощенности по психическим заболеваниям. От всех участников было получено добровольное согласие на участие в данном исследовании.

Для оценки уровней ситуативной и личностной тревожности предлагался бланк самооценки Ч. Спилбергера, адаптированный Ханиным. Методика позволяет выявить индивидуальный уровень ситуативной и личностной тревожности. Шкалы ситуативной и личностной тревожности

состоят из 20 вопросов. Определение показателей ситуативной и личностной тревожности производится с помощью ключа [19].

Молекулярно-генетические методы включали выделение ДНК из лимфоцитов периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Полиморфные локусы rs2530310, rs2710102 и rs10251794 в гене *CNTNAP2* выявляли при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием олигонуклеотидных праймеров (табл. 1). После начальной денатурации (94 °C, 4 мин) выполняли 33 цикла амплификации в следующем режиме: денатурация 94 °C – 30 сек.; отжиг праймеров 58 °C – 30 сек.; синтез ДНК 72 °C – 30 сек. Затем пробы выдерживали 7 мин при 72 °C и охлаждали. Для выявления аллелей изученных полиморфных локусов 10 мкл реакционной смеси обрабатывали 3 ед. акт. Соответствующей эндонуклеазы рестрикции (Сиб-энзим, Россия) в течение 16 ч. В результате рестрикции и последующего разделения в 7%-ном полиакриламидном геле проводилась детекция аллелей (табл. 1).

Таблица 1

Условия амплификации и последовательности праймеров полиморфных локусов, детектированных с помощью ПЦР/ПДРФ

Table 1

PCR conditions and oligonucleotide sequences of primers used for SNPs detection

SNP	Последовательность праймеров	Эндонуклеаза рестрикции	Аллели (размер фрагментов, п.н.)
rs2710102	5' - CTGGCTGGTACCTGCAAAC - 3' 5' - ACACATGGATGGACTGACCG - 3'	<i>Ama87</i>	G=56+48 A=104
rs2530310	5' – CAGCACGCATTTACAAGTTTATTTTC - 3' 5' – ACAGCCATCTCCGAAAGCAG - 3'	<i>BstDEI</i>	A=25+41+60 G=41+85
rs10251794	5' – ATACATTTAATCACTTCCAAAAC - 3' 5' – CATTTTCGTGGGGACAATAGAG - 3'	<i>BstDEI</i>	A=23+102 T=125

Для оценки основного эффекта полиморфных локусов генов-кандидатов, эффекта гаплотипов, в вариации уровня тревожности был проведен линейный регрессионный анализ в программе PLINK v.1.09. В качестве независимых переменных в линейном регрессионном анализе

выступали генотипы, а в качестве зависимой переменной – уровень ситуативной и личностной тревожности. Анализ был проведен как в общей выборке, так и отдельно среди женщин, мужчин, индивидов русской, татарской, башкирской этнической принадлежности. Кроме того, такие факто-

ры как «пол» и «этнос» были включены в модель линейной регрессии в качестве ковариат. Гаплотипические блоки были сконструированы на основе метода доверительных интервалов; оценка неравновесия по сцеплению между маркерами (на основании критерия Левонтина, D') проведена с использованием программы Haploview 4.2. В качестве коррекции на множественность сравнений была проведена процедура FDR (False Discovery Rate) (PLINK v.1.09).

Результаты и их обсуждение. Результаты оценки распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов *rs2710102*, *rs2530310* и *rs10251794* гена *CNTNAP2* соответствовали распределению Харди-Вайнберга ($P = 0,704$, $P = 0,632$ и $P = 0,826$, соответственно). Оценка распределения частот генотипов для всех локусов, а также позиции локусов на хромосоме показаны в таблице 2. Значения показателей по шкалам личностной и ситуативной тревожности в изученной выборке подчинялись закону нормального распределения ($P > 0,05$).

Таблица 2

Распределение частот генотипов полиморфных локусов гена *CNTNAP2* и тест Харди-Вайнберга

Table 2

Distribution of genotype frequencies of the *CNTNAP2* gene polymorphisms and the Hardy-Weinberg equilibrium

SNP	Позиция на хромосоме	Локализация в гене	Минорный/мажорный аллель	Частота генотипа			P_{HWE}
rs2710102	147877298	Интрон 13	G/A	0,225	0,516	0,259	0,704
rs2530310	148420550	3'-UTR	A/G	0,209	0,497	0,294	0,632
rs10251794	146988457	Интрон 3	A/T	0,093	0,456	0,451	0,826

Примечание: P_{HWE} – значение P-value для теста Харди-Вайнберга.

Note: P_{HWE} – P-value for Hardy-Weinberg equilibrium.

В результате линейного регрессионного анализа была выявлена ассоциация полиморфного локуса *rs10251794* гена *CNTNAP2* с вариациями в уровне ситуативной тревожности как в общей выборке ($\beta = 1,97$; $P = 0,002$; $P_{FDR} = 0,007$), так и среди мужчин ($\beta = 3,14$; $P = 0,011$; $P_{FDR} = 0,032$) и женщин ($\beta = 1,64$; $P = 0,029$; $P_{FDR} = 0,088$) при анализе аддитивного эффекта минорного аллеля (A/A vs. A/T vs. T/T в локусе *rs10251794*) локуса. Однако у женщин ассоциация не достигла уровня статистической значимости после введения поправки на множественность сравнений. Причем, сила ассоциации увеличилась при рассмотрении доминантного эффекта минорного аллеля модели (A/A + A/T vs. T/T в локусе *rs10251794*) (табл. 3). В результате анализа было показано, что минорный аллель *rs10251794**A был ассоциирован с повы-

шенной ситуативной тревожностью в общей выборке ($\beta = 2,82$; $P < 0,001$; $P_{FDR} = 0,002$) и среди мужчин ($\beta = 5,87$; $P < 0,001$; $P_{FDR} < 0,001$) (рис. 1).

Дальнейшая статистическая обработка результатов продемонстрировала увеличение частоты аллеля *rs10251794**A среди индивидов с более высокими значениями уровня личностной тревожности по сравнению с носителями генотипа *rs10251794**T/T при рассмотрении доминантного эффекта минорного аллеля (A/A + A/T vs. T/T) наследования признака как в общей выборке ($\beta = 1,77$; $P = 0,017$; $P_{FDR} = 0,053$), так и в группе мужчин ($\beta = 3,81$; $P = 0,017$; $P_{FDR} = 0,052$) и индивидов татарской этнической принадлежности ($\beta = 2,76$; $P = 0,049$; $P_{FDR} = 0,149$) (табл. 2, рис. 1). Однако, ассоциации не достигли уровня значимости после введения поправки на множественность сравнений ($P_{FDR} > 0,05$).

Таблица 3 (начало)

Результаты линейного регрессионного анализа ассоциации полиморфных локусов *rs2710102*, *rs2530310* и *rs10251794* в гене *CNTNAP2* с показателями ситуативной и личностной тревожности

Beginning of Table 3

Linear regression association analysis of *rs2710102*, *rs2530310*, and *rs10251794* in the *CNTNAP2* gene and state and trait anxiety

Группа	Модель	N	rs10251794			rs2710102			rs2530310		
			A/T ^a			G/A ^a			A/G ^a		
			β	P	P _{FDR}	β	P	P _{FDR}	β	P	P _{FDR}
Ситуативная тревожность											
Общая выборка	Адд.	523	1,97	0,002	0,007	0,34	0,566	0,566	-0,58	0,331	0,497
	Дом.		2,82	<0,001	0,002	0,94	0,321	0,481	-0,58	0,531	0,531
Мужчины	Адд.	127	3,14	0,011	0,032	-0,19	0,876	0,876	-1,00	0,390	0,585
	Дом.		5,87	<0,001	<0,001	0,33	0,858	0,858	-2,09	0,255	0,383
Женщины	Адд.	396	1,64	0,029	0,088	0,34	0,611	0,611	-0,39	0,577	0,611
	Дом.		1,91	0,048	0,146	1,11	0,315	0,473	-0,04	0,966	0,966
Русские	Адд.	119	1,03	0,416	0,416	-1,40	0,214	0,321	-1,69	0,140	0,321
	Дом.		2,51	0,133	0,200	-0,52	0,775	0,775	-2,82	0,112	0,200
Татары	Адд.	143	1,45	0,292	0,438	1,83	0,142	0,426	0,91	0,477	0,477
	Дом.		2,81	0,103	0,309	2,22	0,242	0,363	1,18	0,544	0,544
Башкиры	Адд.	94	-0,59	0,671	0,671	1,17	0,384	0,593	-1,10	0,395	0,593
	Дом.		0,01	0,995	0,995	2,40	0,242	0,727	-0,54	0,786	0,995
Личностная тревожность											
Общая выборка	Адд.	523	1,08	0,061	0,185	-0,37	0,479	0,718	-0,12	0,823	0,823
	Дом.		1,77	0,017	0,053	0,29	0,732	0,732	0,33	0,682	0,732
Мужчины	Адд.	127	2,32	0,057	0,173	-0,59	0,629	0,903	0,14	0,903	0,903
	Дом.		3,81	0,017	0,052	0,64	0,721	0,983	-0,03	0,983	0,983
Женщины	Адд.	396	0,77	0,204	0,385	-0,62	0,256	0,385	-0,05	0,917	0,917
	Дом.		1,23	0,117	0,353	0,09	0,918	0,918	0,64	0,455	0,682

Таблица 3 (окончание)

Результаты линейного регрессионного анализа ассоциации полиморфных локусов *rs2710102*, *rs2530310* и *rs10251794* в гене *CNTNAP2* с показателями ситуативной и личностной тревожности

End of Table 3

Linear regression association analysis of *rs2710102*, *rs2530310*, and *rs10251794* in the *CNTNAP2* gene and state and trait anxiety

Группа	Модель	N	<i>rs10251794</i>			<i>rs2710102</i>			<i>rs2530310</i>		
			<i>A/T^a</i>			<i>G/A^a</i>			<i>A/G^a</i>		
			β	P	P _{FDR}	β	P	P _{FDR}	β	P	P _{FDR}
Русские	Адд.	119	0,46	0,687	0,828	-1,20	0,239	0,719	0,22	0,828	0,828
	Дом.		1,51	0,316	0,547	-1,51	0,365	0,547	-0,26	-,867	0,867
Татары	Адд.	143	1,63	0,147	0,442	0,60	0,558	0,837	-0,02	0,984	0,984
	Дом.		2,76	0,049	0,149	1,87	0,228	0,342	0,64	0,690	0,690
Башкиры	Адд.	94	-0,37	0,777	0,777	1,97	0,121	0,361	0,63	0,577	0,777
	Дом.		-0,04	0,979	0,979	3,05	0,117	0,352	1,01	0,594	0,891

Примечание: N – число проанализированных индивидов. β – коэффициент регрессии, P – P-value для теста Вальда (Wald test), МТ – математическая тревожность. Статистически значимые различия (до и после FDR-коррекции) выделены жирным шрифтом. ^aУказаны минорный / мажорный аллель. Указаны данные, полученные в аддитивной (Адд.) и доминантной (Дом.) модели наследования.

Note: N – sample size. β – regression coefficient; P – P-value for Wald test; MA – mathematical anxiety. Statistically significant differences (prior and after FDR-correction) are shown in bold. ^aMinor / major alleles are reported. Data revealed under additive (Add.) and dominant (Dom.) models of inheritance are demonstrated.

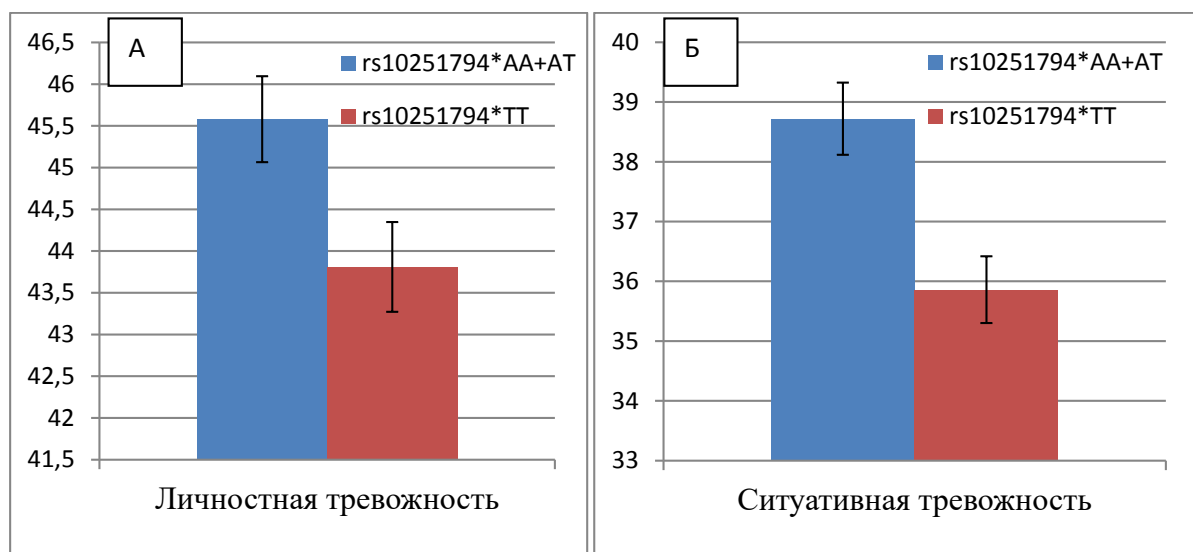


Рис. 1. Средние значения показателей личностной (А) и ситуативной (Б) тревожности в зависимости от генотипа полиморфного локуса *rs10251794* в гене *CNTNAP2* в общей группе при группировке индивидов согласно доминантной модели наследования.

Fig. 1. Mean values of trait (A) and state (B) anxiety according to *CNTNAP2 rs10251794* genotype in the total sample with individuals' grouping based on dominant model of inheritance.

Нами был проведен анализ неравновесия по сцеплению между локусами *rs2710102*, *rs2530310* и *rs10251794* в гене *CNTNAP2*, который не обнаружил неравновесия по сцеплению между ними ($D' < 0,1$), что обусловлено большим расстоянием между локусами (более 540 кб). В связи с этим, гаплотипический анализ не проводился.

На следующем этапе был проведен линейный регрессионный анализ с включением половой и этнической принадлежности как ковариат в модели регрессии. В результате него был продемонстрирован значимый эффект взаимодействия генетической компоненты (вариантов локуса *rs10251794*) и половой принадлежности в доминантной модели ($\beta = -3,95$; $P = 0,041$; $P_{FDR} = 0,082$), которая была элиминирована в ходе коррекции на множественность сравнений.

В ходе анализа не было обнаружено статистически значимых моделей ассоциации полиморфных локусов *rs2530310* и *rs2710102* гена *CNTNAP2* и фенотипическими вариациями в уровне тревожности ни в одной из изученных групп.

Таким образом, в настоящем исследовании были выявлены ассоциации между полиморфными вариантами гена, отвечающего за регуляцию синаптической пластичности, и уровнем личностной и ситуативной тревожности. В частности, линейный регрессионный анализ свидетельствует об ассоциации минорного аллеля локуса *rs10251794* гена *CNTNAP2* с повышенной тревожностью. К настоящему времени существует всего одно опубликованное исследование, включающее полиморфный локус *rs10251794* в гене *CNTNAP2*. В ходе данного полногеномного анализа ассоциаций (GWAS, genome-wide association study), основанного на анализе около 4000 индивидов из Италии и проанализировавшего более 350 тыс. однонуклеотидных полиморфных локусов (SNP), была продемонстрирована ассоциация полиморфного локуса *rs10251794* в гене *CNTNAP2* с другим свойством личности – «открытостью к познанию» [18]. Ранее нами была обнаружена взаимосвязь другого полиморфного варианта в гене *CNTNAP2* (*rs2530310*) с вариациями в уровне определенного вида тревожности, который возникает при необходимости решения математических

заданий (т.н. математической тревожности) [20].

Ген *CNTNAP2* у человека и млекопитающих в основном экспрессируется в стриатуме, таламусе, миндалевидном комплексе, фронтальной коре [21] – отделах мозга, вовлеченных в регуляцию эмоциональной сферы и когнитивных функций [22]. С эволюционной точки зрения экспрессия гена *CNTNAP2* у человека в 1,6 раз выше, чем у шимпанзе, что может указывать на участие контактин-ассоциированно подобного белка-2 в формировании высших нервных функций, включая речь и специфические поведенческие особенности [23]. Существуют данные, указывающие на взаимосвязь мутаций в гене *CNTNAP2* с дефицитом ГАМК- и глутаматергического функционирования [24], которое также участвует в регуляции эмоциональных состояний.

Интересны результаты работ, исследовавших взаимосвязь активации регионов головного мозга в ответ на восприятие человеческого голоса, право/леворукости и вариантов гена *CNTNAP2*. В результате таких исследований была продемонстрирована значимая активация правой средней лобной и верхней височной извилины у индивидов с аллелем Т полиморфного локуса *rs7794745* в ответ на обработку речевой информации вне зависимости от право/леворукости [16]. Примечательно, что на нейроанатомическом уровне большее количество серого вещества было отмечено в этих же отделах головного мозга у лиц с социальным тревожным расстройством [25], что позволяет предположить дифференцированную активацию регионов мозга, отвечающих за регуляцию эмоционального состояния, в зависимости от генетически детерминированного уровня активности контактин-ассоциированно подобного белка-2.

Поскольку ген *CNTNAP2* затрагивает более 2,5 мб в регионе 7q35–36.1., в настоящей работе для исследования были выбраны однонуклеотидные полиморфные локусы, расположенные в разных регионах этого гена (*rs2710102*, *rs2530310* и

rs10251794). В связи с дистальным расположением изученных локусов неравновесия по сцеплению между ними обнаружено не было, что не позволило сконструировать возможные гаплотипы. Тем не менее, линейный регрессионный анализ позволил выявить ассоциацию аллеля *rs10251794*A* с повышенной ситуативной тревожностью в общей выборке. В то же время нам не удалось обнаружить вовлеченность полиморфных маркеров *rs2710102* и *rs2530310* в формирование изученных типов тревожности. С другой стороны, полиморфный вариант *rs2710102*A* в гене *CNTNAP2* ранее был ассоциирован с селективным мутизмом у детей, представляющим собой излишнее избегание тревожных ситуаций и рассматриваемым в качестве предиктора социального тревожного расстройства в будущем [26]. Существуют данные о взаимосвязи аллелей локусов *rs2710102*A* и *rs2710117*T* в гене *CNTNAP2* с риском развития большого депрессивного эпизода в китайской популяции [27]. Однако, в ходе широкомасштабного исследования, включавшего мета-анализ опубликованных ранее данных GWAS, не было продемонстрировано взаимосвязи функциональных полиморфных вариантов гена *CNTNAP2* (*rs7794745* и *rs2710102*) ни с одним из 7 изученных психиатрических заболеваний (РАС, шизофренией, биполярным расстройством, синдромом дефицита внимания с гиперактивностью, нервной анорексией, обсессивно-компульсивным расстройством, основным депрессивным эпизодом). Тем не менее, анализ вариаций числа копийности в гене *CNTNAP2* с помощью микрочипов продемонстрировал несовершенную сегрегацию делеции участка длиной 131 кб в интроне 1 гена, затрагивающую сайт связывания транскрипционного фактора FOXP2, индивидам с биполярным расстройством [28]. Исходя из полученных нами и опубликованных данных, можно предположить вовлеченность изменений в последовательности гена *CNTNAP2*, затрагивающих скорее интроны 1 и 3, чем дистальные участки гена,

в формирование фенотипов, связанных с функционированием эмоциональной сферы.

Большое количество молекулярно-генетических работ сфокусировано на изучении функционирования гена *CNTNAP2* при РАС. Поскольку функциональные исследования экспрессии гена *CNTNAP2* в мозге человека невозможны, рядом ученых было выдвинуто предположение, что экспрессия генов в головном мозге человека коррелирует с их уровнем экспрессии в волосяных фолликулах, поскольку оба органа развиваются из эктодермы на ранних стадиях развития [12]. В ходе данного эксперимента было обнаружено снижение экспрессии гена *CNTNAP2* в волосяных фолликулах у индивидов с РАС, по сравнению с контрольной группой [12]. В основном во всех работах были проанализированы локусы *rs2710102* и *rs7794745*, показавшие ранее функциональную значимость. В частности, широкомасштабное исследование с использованием теста неравновесной трансмиссии выявило два локуса в интроне 14 (*rs2710093*, *rs2253031*) из более 2100 проанализированных SNPs, ассоциированные с РАС [13]. Другие авторы, наоборот, отметили отсутствие взаимосвязи между локусом *rs2710102* и РАС как в экспериментальных статьях [29-31], так и в результате мета-анализа, включавшего данные Консорциума по психиатрической генетике (Psychiatric Genomics Consortium) [32]. С другой стороны, возможно, одиночные полиморфные локусы в гене *CNTNAP2*, не приводящие к существенному изменению структуры и функций кодируемого белка, ассоциированы с аффективной составляющей РАС, в то время как мутации и вариации числа копийности отдельных участков гена *CNTNAP2* являются определяющими в формировании РАС. В частности, при изучении нуклеотидной последовательности 358 генов-кандидатов РАС были обнаружены изменения в последовательности ДНК в гене *CNTNAP2* у здоровых индивидов без РАС, но с эпилепсией и тиками [33]. Кроме того, поскольку ген *CNTNAP2* доста-

точно большой, в регуляции его экспрессии могут принимать участие и другие локусы (кроме *rs2710102* и *rs7794745*), вовлеченность которых на данный момент была предсказана *in silico*, но не проверена *in vitro*.

В настоящей работе была выявлена гендерная специфичность ассоциации полиморфного варианта *rs10251794* в гене *CNTNAP2* с ситуативной тревожностью. Причем, эффект локуса *rs10251794* в формировании вариаций уровня тревожности обнаруживался в группе мужчин. Интересно, что ассоциации полиморфных вариантов в гене *CNTNAP2* были выявлены с РАС [12, 13] – заболеванием, распространенность которого намного выше среди мужского населения. Одним из возможных объяснений выявленной в настоящей работе гендерной специфичности может являться регуляция *Caspr2*-зависимого поведения посредством половых гормонов [24, 34]. Причем, женские половые гормоны (окситоцин и фитоэстроген биоханин А) рассматриваются в качестве возможного терапевтического средства при лечении РАС в связи с восстановлением дефицита социального поведения у нокауты по гену *CNTNAP2* [24, 34]. В предыдущих исследованиях нами был продемонстрирован этно-специфичный характер ассоциации полиморфных вариантов генов *SLC6A4* и *HTR2A* с крайними проявлениями излишней тревожности – клинически диагностированной униполярной депрессией [35]. Однако, в настоящей работе этнической специфичности, связанной с определенными частотами аллелей и генотипов изученных полиморфных маркеров в гене *CNTNAP2*, с уровнем тревожности обнаружено не было.

Стоит отметить, что некоторые средовые факторы могут модулировать ассоциацию генов с чертами тревожного ряда. В частности, важное значение в формировании тревожности играют факторы, воздействующие на индивида во время пренатального развития [36], которые, в свою очередь, могут изменять профиль метилирования конкретных генов. Так, при ис-

следовании уровня метилирования более 5500 CpG островков по всему геному с использованием технологии микрочипов (Illumina HumanMethylation450K Beadchip) было выявлено дифференциальное метилирование нескольких генов, включая ген *CNTNAP2*, в пуповинной крови у новорожденных, чьи матери курили во время гестации, и не подвергавшихся такому воздействию [37]. Ранее нашей исследовательской группой была продемонстрирована значимость такого фактора как «сезон рождения» в выявление взаимосвязи между геном нейротрофического фактора головного мозга (*BDNF*) и уровнем тревожности (измеренным по шкале «избегание ущерба» с помощью опросника TCI-125) [6]. Полученный эффект может быть обусловлен дефицитом необходимых микронутриентов в питании беременной женщины (фолиевой кислоты, витамина B12, ω -3 жирных кислот) в зависимости от месяцев гестации. В свою очередь, этот дефицит приводит к увеличению концентрации гомоцистеина и окислительному стрессу, снижению уровня нейротрофинов, нейротрофического фактора головного мозга, в частности [38]. Эти изменения, в свою очередь, обуславливают модулирование эпигенетической регуляции посредством метилирования ДНК, гистонов, приводя к усилению продукции провоспалительных эйкозаноидов и дефициту противовоспалительных цитокинов и биоактивных липидов [39]. Последние, в свою очередь, приводят к так называемому ингибированию поведения [40]. Стоит отметить, что ген *CNTNAP2*, наряду с психиатрическими фенотипами, был ассоциирован с уровнем циркулирующих липидов в зависимости от уровня физической активности при исследовании более 250 тысяч индивидов из различных мировых популяций [41], что указывает на существенную значимость физической активности в каскаде процессов эпигенетической регуляции гена *CNTNAP2*.

Заключение. Несмотря на большое количество публикаций в отношении взаимосвязи как одиночных полиморфных

локусов, так и изменений нуклеотидной последовательности в гене *CNTNAP2* с манифестацией РАС и аффективных патологий, в настоящей работе была выявлена ассоциация полиморфных вариантов этого гена с индивидуальными различиями в эмоциональной составляющей индивидуального психологического паттерна. Несмотря на ряд преимуществ данной работы (учет половой и этнической принадлежности при проведении статистического анализа, введение поправки на множественность сравнений), необходимо проведение репликативного исследования на большей выборке. Кроме того, функциональная значимость двух из изученных локусов была не проанализирована *in vitro*, что не позволило сделать вывод о взаимосвязи индивидуального уровня тревожности с экспрессией и активностью гена *CNTNAP2*. Необходимо отметить отсутствие возможности исследования влияния ряда стресс-ассоциированных средовых факторов, действующих на индивида во время онтогенеза (и в период пренатального развития, в особенности), которые, в свою очередь, могут приводить к изменениям профиля метилирования гена *CNTNAP2*, модулируя таким образом формирование индивидуального уровня тревожности. Дальнейшие исследования в данной области с учетом высказанных предложений представляются необходимыми.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Анохин П.К. Эмоции. Психология эмоций. М.: Педагогика, 1994. С. 214-276.
2. Вейн А.М., Воробьева О.В., Дюкова Г.М. Стресс, депрессия и психосоматические заболевания. М.: Медицина, 2003. 16 с.
3. The origin of anxiety disorders – an evolutionary approach / L.E. Willers [et al.] // Mod. Trends Pharmacopsychiatry. 2013. Vol. 29. P. 16-23. DOI: 10.1159/000351919
4. The genetic and environmental aetiology of spatial, mathematics and general anxiety / M. Malanchini [et al.] // Sci. Rep. 2017. Vol. 7. P. 42218. DOI: 10.1038/srep42218

5. The role of dopamine transporter (SLC6A3) and dopamine D2 receptor/ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (DRD2/ANKK1) gene polymorphisms in personality traits / A. Kazantseva [et al.] // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2011. Vol. 35(4). P. 1033-1040. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2011.02.013
6. Brain derived neurotrophic factor gene (BDNF) and personality traits: The modifying effect of season of birth and sex / A. Kazantseva [et al.] // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2015. Vol. 56. P. 58-65. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2014.08.001
7. Penzes P., Woolfrey K.M., Srivastava D.P. Epac2- mediated dendritic spine remodeling: implications for disease // *Mol. Cell. Neurosci*. 2010. Vol. 46. P. 368-380. DOI: 10.1016/j.mcn.2010.11.008
8. Selective changes in thin spine density and morphology in monkey prefrontal cortex correlate with aging-related cognitive impairment / D. Dumitriu [et al.] // *J. Neurosci*. 2010. Vol. 30. P. 7507-7515. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6410-09.2010
9. Казанцева А., Хуснутдинова Э. Гены vs Среда, или что управляет нашим поведением. Уфа: РИЦ БашГУ. 2017. 186 с.
10. Patient-derived hiPSC neurons with heterozygous CNTNAP2 deletions display altered neuronal gene expression and network activity / E. Flaherty [et al.] // *NPJ Schizophr*. 2017. Vol. 3(1). P. 35. DOI: 10.1038/s41537-017-0033-5
11. Fabbri C., Serretti A. Genetics of long-term treatment outcome in bipolar disorder // *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2016. Vol. 65. P. 17-24. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2015.08.008
12. Utility of Scalp Hair Follicles as a Novel Source of Biomarker Genes for Psychiatric Illnesses / M. Maekawa [et al.] // *Biol. Psychiatry*. 2015. Vol. 78(2). P. 116-125. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.07.025
13. Defining the contribution of CNTNAP2 to autism susceptibility / S. Sampath [et al.] // *PLoS One*. 2013. Vol. 8(10). P. e77906. DOI: 10.1371/journal.pone.0077906
14. Lai M.C., Lombardo M.V., Baron-Cohen S. Autism // *Lancet*. 2014. Vol. 383(9920). P. 896-910. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61539-1
15. Genetic variation in CNTNAP2 alters brain function during linguistic processing in healthy individuals / H.C. Whalley [et al.] // *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet*. 2011. Vol. 156(B). P. 941-948. DOI: 10.1002/ajmg.b.31241
16. Interaction effect between handedness and CNTNAP2 polymorphism (rs7794745 genotype) on voice-specific frontotemporal activity in healthy individuals: an fMRI study / M. Koeda [et al.] // *Front. Behav. Neurosci*. 2015. Vol. 9. P. 87. DOI: 10.3389/fnbeh.2015.00087
17. CNTNAP2 gene dosage variation is associated with schizophrenia and epilepsy / J.I. Friedman [et al.] // *Molecular Psychiatry*. 2008. Vol. 13(3). P. 261-266. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002049>
18. Genome-wide association scan for five major dimensions of personality / A. Terracciano [et al.] // *Mol. Psychiatry*. 2010. Vol. 15(6). P. 647-656. DOI: 10.1038/mp.2008.113
19. Ханин Ю.Л. Краткое руководство к применению шкалы реактивной и личностной тревожности Ч.Д. Спилбергера. М.: Медицина, 1976. 18 с.
20. Гены семейства нейрексинов (CNTNAP2 и NRXN1): их роль в развитии математической тревожности / А.В. Казанцева [и др.] // *Медицинская генетика*. 2016. Т. 15, N 11. С. 17-23.
21. Alarcón M., Abrahams B.S., Stone J.L. Linkage, Association, and Gene-Expression Analyses Identify CNTNAP2 as an Autism-Susceptibility Gene // *The American Journal of Human Genetics*. 2008. Vol. 82, N 1. P. 150-159. DOI: 10.1016/j.ajhg.2007.09.005
22. Peñagarikano O., Geschwind D.H. What does CNTNAP2 reveal about autism spectrum disorder? // *Trends in molecular medicine*. 2012. Vol. 18, N 3. P. 156-63. DOI: 10.1016/j.molmed.2012.01.003
23. Widespread differences in cortex DNA methylation of the "language gene" CNTNAP2 between humans and chimpanzees / E. Schneider [et al.] // *Epigenetics*. 2014. Vol. 9(4). P. 533-545. DOI: 10.4161/epi.27689
24. Estrogens Suppress a Behavioral Phenotype in Zebrafish Mutants of the Autism Risk Gene, CNTNAP2 / E.J. Hoffman [et al.] // *Neuron*. 2016. Vol. 89(4). P. 725-733. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.12.039
25. Gray Matter Structural Alterations in Social Anxiety Disorder: A Voxel-Based Meta-Analysis / X. Wang [et al.] // *Front. Psychiatry*. 2018. Vol. 9. P. 449. DOI: 10.3389/fpsyt.2018.00449

26. A common genetic variant in the neu-rexin superfamily member CNTNAP2 is associated with increased risk for selective mutism and social anxiety-related traits / M.B. Stein [et al.] // *Biol. Psychiatry*. 2011. Vol. 69(9). P. 825-831. DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.11.008

27. CNTNAP2 is significantly associated with schizophrenia and major depression in the Han Chinese population / W. Ji [et al.] // *Psychiatry Res*. 2013. Vol. 207(3). P. 225-228. DOI: 10.1016/j.psychres.2012.09.024

28. Comprehensive cross-disorder analyses of CNTNAP2 suggest it is unlikely to be a primary risk gene for psychiatric disorders / C. Toma [et al.] // *PLoS Genet*. 2018. Vol. 14(12). P. e1007535. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007535

29. Analysis of two language-related genes in autism: a case-control association study of FOXP2 and CNTNAP2 / C. Toma [et al.] // *Psychiatr. Genet*. 2013. Vol. 23(2). P. 82-85. DOI: 10.1097/YPG.0b013e32835d6fc6

30. Association study between autistic-like traits and polymorphisms in the autism candidate regions RELN, CNTNAP2, SHANK3, and CDH9/10 / L. Jonsson [et al.] // *Mol. Autism*. 2014. Vol. 5(1). P. 55. DOI: 10.1186/2040-2392-5-55

31. CNTNAP2 gene in high functioning autism: no association according to family and meta-analysis approaches / A.M. Werling [et al.] // *J. Neural Transm. (Vienna)*. 2016. Vol. 123(3). P. 353-363. DOI: 10.1007/s00702-015-1458-5

32. Association between CNTNAP2 polymorphisms and autism: A family-based study in the Chinese Han population and a meta-analysis combined with GWAS data of psychiatric genomics consortium / T. Zhang [et al.] // *Autism Res*. 2019. Vol. 12(4). P. 553-561. DOI: 10.1002/aur.2078

33. Targeted resequencing of 358 candidate genes for autism spectrum disorder in a Chinese cohort reveals diagnostic potential and genotype-phenotype correlations / W.Z. Zhou [et al.] // *Hum. Mutat*. 2019. Vol. 40. P. 801-815. DOI: 10.1002/humu.23724

34. Nomura J., Kannan G., Takumi T. Rodent models of genetic and chromosomal variations in psychiatric disorders // *Psychiatry Clin. Neurosci*. 2017. Vol. 71(8). P. 508-517. DOI: 10.1111/pcn.12524.

35. Изучение ассоциаций ряда полиморфных локусов генов серотонинергической системы с униполярной депрессией / Т.Г. Нос-

кова [и др.] // *Генетика*. 2009. Т. 45, N 6. С. 842-848. DOI: 10.1134/S1022795409060143

36. Роль эпигенетических факторов в развитии депрессивных расстройств / Р.Н. Муштафин [и др.] // *Генетика*. 2018. Т. 54, N 12. С. 1376-1389.

37. Impact on birth weight of maternal smoking throughout pregnancy mediated by DNA methylation / S.H. Witt [et al.] // *BMC Genomics*. 2018. Vol. 19(1). P. 290. DOI: 10.1186/s12864-018-4652-7

38. Vitamin B12 status of pregnant Indian women and cognitive function in their 9-year-old children / V. Bhate [et al.] // *Food and nutrition bulletin*. 2008. Vol. 29, N 4. P. 249.

39. Dhobale M., Joshi S. Altered maternal micronutrients (folic acid, vitamin B12) and omega 3 fatty acids through oxidative stress may reduce neurotrophic factors in preterm pregnancy // *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2012. Vol. 25, N 4. С. 317-323. DOI: 10.3109/14767058.2011.579209

40. Кутлумбетова Ю.Ю. Изучение роли генов рецепторов нейропептидов, половых гормонов и семейства нейротрофинов в формировании свойств личности: дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2014. 206 с.

41. Multi-ancestry study of blood lipid levels identifies four loci interacting with physical activity / T.O. Kilpeläinen [et al.] // *Nat. Commun*. 2019. Vol. 10(1). P. 376. DOI: 10.1038/s41467-018-08008-w

References

1. Anokhin PK. [Emotion. Psychology of emotions]. M.: Pedagogica; 1994. Russian.
2. Vein AM, Vorobeva OV, Dyukova GM. [Stress, depression and psychosomatic diseases]. M.: Medicina; 2003. Russian.
3. Willers LE, Vulink NC, Denys D, et al. The origin of anxiety disorders – an evolutionary approach. *Mod Trends Pharmacopsychiatry*. 2013;29:16-23. DOI: 10.1159/000351919
4. Malanchini M, Rimfeld K, Shakeshaft NG, et al. The genetic and environmental aetiology of spatial, mathematics and general anxiety. *Sci Rep*. 2017;7:42218. DOI: 10.1038/srep42218
5. Kazantseva A, Gaysina D, Malykh S, et al. The role of dopamine transporter (SLC6A3) and dopamine D2 receptor/ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (DRD2/ANKK1) gene polymorphisms in personality traits. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;

- 35(4):1033-1040. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2011.02.013
6. Kazantseva A, Gaysina D, Kutlumbetova Y, et al. Brain derived neurotrophic factor gene (BDNF) and personality traits: The modifying effect of season of birth and sex. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2015;56:58-65. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2014.08.001
7. Penzes P, Woolfrey KM, Srivastava DP. Epac2- mediated dendritic spine remodeling: implications for disease. *Mol. Cell. Neurosci*. 2010;46:368-380. DOI: 10.1016/j.mcn.2010.11.008
8. Dumitriu D, Hao J, Hara Y, et al. Selective changes in thin spine density and morphology in monkey prefrontal cortex correlate with aging-related cognitive impairment. *J. Neurosci*. 2010;30:7507-7515. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6410-09.2010
9. Kazantseva A, Khusnutdinova E. [Genes vs Environment or what manages our behavior]. Ufa: RIC BashGU; 2017. Russian.
10. Flaherty E, Deranieh RM, Artimovich E, et al. Patient-derived hiPSC neurons with heterozygous CNTNAP2 deletions display altered neuronal gene expression and network activity. *NPJ Schizophr*. 2017;3(1):35. DOI: 10.1038/s41537-017-0033-5
11. Fabbri C, Serretti A. Genetics of long-term treatment outcome in bipolar disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2016;65:17-24. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2015.08.008
12. Maekawa M, Yamada K, Toyoshima M, et al. Utility of Scalp Hair Follicles as a Novel Source of Biomarker Genes for Psychiatric Illnesses. *Biol Psychiatry*. 2015;78(2):116-25. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.07.025
13. Sampath S, Bhat S, Gupta S, et al. Defining the contribution of CNTNAP2 to autism susceptibility. *PLoS One*. 2013;8(10):e77906. DOI: 10.1371/journal.pone.0077906
14. Lai MC, Lombardo MV, Baron-Cohen S. Autism. *Lancet*. 2014;383(9920):896-910. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61539-1
15. Whalley HC, O'Connell G, Sussmann JE, et al. Genetic variation in CNTNAP2 alters brain function during linguistic processing in healthy individuals. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet*. 2011;156(B):941-948. DOI: 10.1002/ajmg.b.31241
16. Koeda M, Watanabe A, Tsuda K, et al. Interaction effect between handedness and CNTNAP2 polymorphism (rs7794745 genotype) on voice-specific frontotemporal activity in healthy individuals: an fMRI study. *Front Behav Neurosci*. 2015;9:87. DOI: 10.3389/fnbeh.2015.00087
17. Friedman JI, Vrijenhoek T, Markx S, et al. CNTNAP2 gene dosage variation is associated with schizophrenia and epilepsy. *Molecular Psychiatry*. 2008;13(3):261-266. DOI: https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002049
18. Terracciano A, Sanna S, Uda M, et al. Genome-wide association scan for five major dimensions of personality. *Mol Psychiatry*. 2010;15(6):647-56. DOI: 10.1038/mp.2008.113
19. Khanin YL. [A brief guide to the use of the Spielberger State-Trait Anxiety Inventory (STAI)]. M.: Medicina; 1976. Russian.
20. Kazantseva AV, Enikeeva RF, Romanova AR, et al. [Neurexin family genes (CNTNAP2 and NRXN1): their involvement in mathematical anxiety]. *Journal of Medical Genetics*. 2016;15(11):17-23. Russian.
21. Alarcón M, Abrahams BS, Stone JL. Linkage, Association, and Gene-Expression Analyses Identify CNTNAP2 as an Autism-Susceptibility Gene. *The American Journal of Human Genetics*. 2008;82(1):150-159. DOI: 10.1016/j.ajhg.2007.09.005
22. Peñagarikano O, Geschwind DH. What does CNTNAP2 reveal about autism spectrum disorder? *Trends in molecular medicine*. 2012;18(3):156-63. DOI: 10.1016/j.molmed.2012.01.003
23. Schneider E, El Hajj N, Richter S, et al. Widespread differences in cortex DNA methylation of the "language gene" CNTNAP2 between humans and chimpanzees. *Epigenetics*. 2014;9(4):533-45. DOI: 10.4161/epi.27689
24. Hoffman EJ, Turner KJ, Fernandez JM, et al. Estrogens Suppress a Behavioral Phenotype in Zebrafish Mutants of the Autism Risk Gene, CNTNAP2. *Neuron*. 2016;89(4):725-33. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.12.039
25. Wang X, Cheng B, Luo Q, et al. Gray Matter Structural Alterations in Social Anxiety Disorder: A Voxel-Based Meta-Analysis. *Front Psychiatry*. 2018;9:449. DOI: 10.3389/fpsy.2018.00449
26. Stein MB, Yang BZ, Chavira DA, et al. A common genetic variant in the neurexin superfamily member CNTNAP2 is associated with increased risk for selective mutism and social anxiety-related traits. *Biol Psychiatry*. 2011;69(9):825-31. DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.11.008

27. Ji W, Li T, Pan Y, et al. CNTNAP2 is significantly associated with schizophrenia and major depression in the Han Chinese population. *Psychiatry Res.* 2013;207(3):225-8. DOI: 10.1016/j.psychres.2012.09.024
28. Toma C, Pierce KD, Shaw AD, et al. Comprehensive cross-disorder analyses of CNTNAP2 suggest it is unlikely to be a primary risk gene for psychiatric disorders. *PLoS Genet.* 2018;14(12):e1007535. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007535
29. Toma C, Hervás A, Torricco B, et al. Analysis of two language-related genes in autism: a case-control association study of FOXP2 and CNTNAP2. *Psychiatr Genet.* 2013;23(2):82-5. DOI: 10.1097/YPG.0b013e32835d6fc6
30. Jonsson L, Zettergren A, Pettersson E, et al. Association study between autistic-like traits and polymorphisms in the autism candidate regions RELN, CNTNAP2, SHANK3, and CDH9/10. *Mol Autism.* 2014;5(1):55. DOI: 10.1186/2040-2392-5-55
31. Werling AM, Bobrowski E, Taurines R, et al. CNTNAP2 gene in high functioning autism: no association according to family and meta-analysis approaches. *J Neural Transm (Vienna).* 2016;123(3):353-63. DOI: 10.1007/s00702-015-1458-5
32. Zhang T, Zhang J, Wang Z, et al. Association between CNTNAP2 polymorphisms and autism: A family-based study in the Chinese Han population and a meta-analysis combined with GWAS data of psychiatric genomics consortium. *Autism Res.* 2019;12(4):553-561. DOI: 10.1002/aur.2078
33. Zhou WZ, Zhang J, Li Z, et al. Targeted resequencing of 358 candidate genes for autism spectrum disorder in a Chinese cohort reveals diagnostic potential and genotype-phenotype correlations. *Hum Mutat.* 2019;40:801-815. DOI: 10.1002/humu.23724
34. Nomura J, Kannan G, Takumi T. Rodent models of genetic and chromosomal variations in psychiatric disorders. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2017;71(8):508-517. DOI: 10.1111/pcn.12524
35. Noskova TG, Kazantseva AV, Gareeva AE, et al. [Association of serotonergic system gene polymorphisms with unipolar depression]. *Russian Journal of Genetics.* 2009;45(6):842-848. Russian. DOI: 10.1134/S1022795409060143.
36. Mustafin RN, Enikeeva RF, Davydova YD, et al. [The role of epigenetic factors in depressive disorders]. *Russian Journal of Genetics.* 2018;54(12):1376-1389. Russian.
37. Witt SH, Frank J, Gilles M, et al. Impact on birth weight of maternal smoking throughout pregnancy mediated by DNA methylation. *BMC Genomics.* 2018;19(1):290. DOI: 10.1186/s12864-018-4652-7
38. Bhate V, Deshpande S, Bhat D. Vitamin B12 status of pregnant Indian women and cognitive function in their 9-year-old children. *Food and nutrition bulletin.* 2008;29(4):249.
39. Dhobale M, Joshi S. Altered maternal micronutrients (folic acid, vitamin B12) and omega 3 fatty acids through oxidative stress may reduce neurotrophic factors in preterm pregnancy. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine.* 2012;25(4):317-323. DOI: 10.3109/14767058.2011.579209
40. Kutlumbetova YuYu. [The study of genes encoding neuropeptide receptors, sex hormones and neurotrophins in personality traits variation] [dissertation]. Ufa; 2014. Russian.
41. Kilpeläinen TO, Bentley AR, Noordam R, et al. Multi-ancestry study of blood lipid levels identifies four loci interacting with physical activity. *Nat Commun.* 2019;10(1):376. DOI: 10.1038/s41467-018-08008-w
- Статья поступила в редакцию 23 июня 2019 г.
Поступила после доработки 27 сентября 2019 г.
Принята к печати 07 октября 2019 г.
- Received 23 June 2019
Revised 27 September 2019
Accepted 07 October 2019
- Информация об авторах**
Рената Фануровна Еникеева, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, E-mail: enikeevarf@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4301-5283.
Анастасия Валерьевна Казанцева, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, E-mail: Kazantsa@mail.ru, ORCID: 0000-0002-3744-8058.
Юлия Дмитриевна Давыдова, аспирант второго года обучения по направлению подготовки 03.02.07 «Генетика», Институт биохимии и

генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, E-mail: Julia.dmitrievna@list.ru, ORCID: 0000-0003-3508-4710.

Эльза Камилевна Хуснутдинова, доктор биологических наук, профессор, и.о. Директора Института биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, E-mail: Elzakh@mail.ru, ORCID: 0000-0003-2987-3334.

Information about the authors

Renata F. Enikeeva, PhD in Biology, Post-Doctoral Fellow, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Branch of the Russian Academy of

Sciences, E-mail: enikeevarf@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4301-5283.

Anastasiya V. Kazantseva, PhD in Biology, Senior Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Branch of the Russian Academy of Sciences, E-mail: Kazantsa@mail.ru, ORCID: 0000-0002-3744-8058.

Julia D. Davydova, 2-year Post-graduate Student of the direction 03.02.07 Genetics, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Branch of the Russian Academy of Sciences, E-mail: Julia.dmitrievna@list.ru, ORCID: 0000-0003-3508-4710.

Elza K. Khusnutdinova, Doctor of Biological Sciences, Professor, Acting Director of the Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Branch of the Russian Academy of Sciences, E-mail: Elzakh@mail.ru, ORCID: 0000-0003-2987-3334.



УДК 575.16:618.33

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-4

О.А. Ефремова

**Изучение ассоциации полиморфных локусов генов
фолатного цикла с развитием синдрома задержки роста
плода 2-3 степени**

Харьковский национальный медицинский университет,
пр. Науки, д. 4, г. Харьков, 61022, Украина
Автор для переписки: О.А. Ефремова (efremovaolesya@gmail.com)

Аннотация

Актуальность: Ферменты фолатного цикла регулируют ключевые реакции в фолат-опосредованном одноуглеродном метаболизме. Нарушения фолатного цикла могут быть связаны с возникновением плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода (СЗРП) у беременных, однако на сегодняшний день связь полиморфизма генов фолатного цикла с развитием патологии течения беременности изучена недостаточно. **Цель исследования:** Изучение ассоциации полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием СЗРП 2-3 степени. **Материалы и методы:** Выборку для исследования составили 112 беременных с СЗРП 2-3 степени и 243 беременных с нормальным весом новорожденного. Изучались полиморфные локусы генов фолатного цикла rs1805087 гена *MTR*, rs1801394 гена *MTRR*, rs1979277 гена *SHMT1*, rs699517 гена *TYMS*, rs2790 гена *TYMS*. Исследование проводили методом ПЦР с использованием соответствующих олигонуклеотидных праймеров и зондов с последующим анализом полиморфизмов методом детекции TaqMan зондов (real-time ПЦР). Анализ ассоциаций проводился с использованием программного обеспечения gPLINK v2.050. Межгенные взаимодействия в двух- и трехлокусных моделях анализировали с помощью метода MDR и его модификации GMDR. **Результаты:** Показано, что аллель Т rs1979277 гена *SHMT1* ассоциирован с развитием СЗРП 2-3 степени в рамках аддитивной ($OR=1,56$, 95%CI 1,10-2,22, $p=0,012$, $p_{perm}=0,011$) и рецессивной ($OR=2,55$, 95%CI 1,24-5,22, $p=0,011$, $p_{perm}=0,007$) моделей. Выявлена ассоциация аллеля G rs1805087 гена *MTR* с формированием СЗРП 2-3 степени в соответствии с рецессивной моделью ($OR=3,28$, 95%CI 1,14-9,47, $p=0,028$, $p_{perm}=0,014$). Выявлены две 2-х локусных и одна трехлокусная модели SNP x SNP взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени. В состав значимых моделей входят три полиморфных локуса - rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* и rs1801394 *MTRR*. Парное взаимодействие rs1801394 *MTRR* x rs1979277 *SHMT1* является основой двух наиболее значимых моделей ген-генных взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени. **Заключение:** Полиморфные локусы rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* и rs1801394 *MTRR* ассоциированы с развитием СЗРП 2-3 степени.

Ключевые слова: полиморфизм; ассоциации; SNPxSNP взаимодействия; плацентарная недостаточность; синдром задержки роста плода; беременность; фолатный цикл

Для цитирования: Ефремова О.А. Изучение ассоциации полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием синдрома задержки роста плода 2-3 степени. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):37-50. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-4

Olesya A. Efremova

The study of the association of polymorphic loci of the folate cycle genes with the development of the 2-3-degree fetal growth restriction syndrome

Kharkiv National Medical University,
4 Nauki Ave., Kharkiv, 61022, Ukraine

Corresponding author: Olesya A. Efremova (efremovaolesya@gmail.com)

Abstract

Background: Folate cycle enzymes regulate key reactions in folate-mediated single-carbon metabolism. The folate cycle disturbances may be associated with the occurrence of placental insufficiency with fetal growth restriction syndrome (FGRS) in pregnant women, however, to date, the relationship of polymorphism of the folate cycle genes with the development of pregnancy pathology has not been examined in sufficient detail. **The aim of the study:** To study the association of polymorphic loci of the folate cycle genes with the development of 2-3-degree FGRS. **Materials and methods:** The sample for the study included 112 pregnant women with 2-3-degree FGRS and 243 pregnant women with normal birth weight. The polymorphic loci of the folate cycle gene rs1805087 of the *MTR* gene were studied, rs1801394 of the *MTRR* gene, rs1979277 of the *SHMT1* gene, rs699517 of the *TYMS* gene, rs2790 of the *TYMS* gene involved in the formation of placental insufficiency and FGRS of the 2nd or 3rd degrees. The study was carried out by PCR using the appropriate oligonucleotide primers and probes, followed by analysis of polymorphisms by the detection method of TaqMan probes (real-time PCR). Association analysis was performed using gPLINK v2.050 software. Intergenic interactions in two- and three-locus models were analyzed using MDR method and its GMDR modifications. **Results:** It was shown that the T allele rs1979277 of the *SHMT1* gene is associated with the development of 2-3-degree FGRS in the framework of additive ($OR = 1.56$, 95% CI 1.10 - 2.22, $p = 0.012$, $p_{perm} = 0.011$) and recessive ($OR = 2.55$, 95% CI 1.24-5.22, $p = 0.011$, $p_{perm} = 0.007$) models. The association of the G rs1805087 allele of the *MTR* gene with the formation of 2-3-degree FGRS was revealed in accordance with the recessive model ($OR = 3.28$, 95% CI 1.14-9.47, $p = 0.028$, $p_{perm} = 0.014$). Two 2-locus and one three-locus models of SNPxSNP interactions associated with the development of FGRS 2-3 degrees were identified. Significant models include three polymorphic loci – rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR*, and rs1801394 *MTRR*. Pairwise interaction rs1801394 *MTRR* x rs1979277 *SHMT1* is the basis of the two most significant models of gene-gene interactions associated with the development of FGRS of 2-3 degrees. **Conclusion:** Polymorphic loci rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* and rs1801394 *MTRR* are associated with the development of FGRS of 2-3 degrees.

Keywords: polymorphism; associations; SNPxSNP interactions; placental insufficiency; fetal growth restriction syndrome; pregnancy; folate cycle

For citation: Efremova OA. The study of the association of polymorphic loci of the folate cycle genes with the development of the 2-3-degree fetal growth restriction

syndrome. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):37-50. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-4

Введение. Задержка роста плода (ЗРП) – это не самостоятельное нозологическое заболевание, а синдром, возникающий вследствие развития различных патологических процессов, которые по тем или иным причинам развиваются в системе мать-плацента-плод. Одной из причин синдрома ЗРП (СЗРП) может быть плацентарная недостаточность (ПН). Следствием данного осложнения беременности, является рождение ребенка со сниженными массо-ростовыми показателями (менее 10-го перцентиля) [1, 2]. Абсолютное или относительное уменьшение плацентарной массы влияет на количество питательных веществ, которые получает плод, на характер газообмена, на эндокринную и метаболическую функцию плаценты, все это способствует формированию СЗРП [2-4]. Так как, эта патология имеет большой удельный вес в структуре перинатальных потерь и неонатальных заболеваний, а также ведет к неблагоприятным медико-биологическим и социальным прогнозам, изучение факторов, влияющих на развитие ПН и СЗРП имеет большое значение.

Известно, что частота перинатальной смертности при СЗРП выше в 7-10 раз по сравнению с нормально протекающей беременностью. За последние десятилетия частота плацентарной дисфункции (ПД), задержки развития плода и плацентарной недостаточности (ПН) не только не имеет тенденции к снижению, но и растет во всех странах мира [3, 4]. Кроме этого, практически у 50% детей, которые родились с признаками СЗРП, в дальнейшем выявляют острые и хронические заболевания [5, 6]. Приведенные негативные обстоятельства свидетельствуют о важности своевременного выявления СЗРП еще на этапе пренатального наблюдения, оптимизации условий развития плода, планирования и ведения родов, обеспечения рационального ухода в послеродовом периоде.

С акушерской точки зрения, ПД – это гестационное осложнение многофакторной этиологии, имеет тяжелые последствия для организма матери, плода и может быть, как причиной, так и реализацией осложненного течения беременности и соматической патологии [6]. Патогенез ПН заключается в нарушении децидуальной перфузии, ферментативной недостаточности децидуальной ткани [2, 4]. Происходят структурно-функциональные изменения плаценты, усиление вариабельности ядер симпластотрофобластов, уменьшение количества мелких ворсинок хориона, снижение интенсивности васкуляризации, инволютивных изменений, процессов имплантации, плацентации, плацентарной гемоциркуляции, циркуляторных поражений плаценты и т.д. Реакции сосудов терминальных ворсинок имеют компенсаторные резервы, при их истощении отсутствуют возможности развития дополнительной сосудистой сетки, все это является началом инволютивно-дистрофических изменений с формированием ПН и задержки роста плода, антенатальной потери плода, преждевременной отслойкой нормально и низко расположенной плаценты [2, 4, 6].

Одной из причин ПН и СЗРП являются изменения фоллатного цикла, обусловленные разнообразными факторами риска. К внешне средовым факторам риска можно отнести: низкое употребление микроэлементов, витаминов, вредные привычки (курение, алкоголь) и др. [7, 8]. Большое значение имеют определенные особенности генома, полиморфизмы генов, участвующих в метаболизме фолиевой кислоты. Нарушение обмена фолиевой кислоты, может вызывать целую группу причин, осложняющих течение беременности, в том числе приводящих к СЗРП [7, 8, 9].

Известно, что фолиевая кислота участвует в формировании сосудистого русла. Нарушение ангиогенеза может вызывать плацентарную дисфункцию, что ассоциировано с патогенезом фетоплацентарной недостаточности и СЗРП и может приводить к антенатальной гибели плода [10, 11].

Метаболизм фолиевой кислоты осуществляется с помощью сложного каскадного процесса, сопровождающегося генетически детерминированными ферментативными реакциями. Понимание роли полиморфизма генов-кандидатов, вовлеченных в процесс формирования задержки внутриутробного развития плода, имеет важное значение для разработки эффективных методов диагностики и профилактики этого осложнения беременности.

Цель исследования. Изучение ассоциации полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием синдрома задержки роста плода 2-3 степени.

Материалы и методы исследования. Под наблюдением находилось 355 беременных женщин в третьем триместре беременности, у которых были собраны анамнестические данные, исследовались общеклинические и биохимические показатели. Выборку для исследования составили 112 беременных с СЗРП 2-3 степени и 243 беременных с нормальным весом новорожденного. Группы были репрезентативны по возрасту, росту и акушерскому анамнезу.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенной из цельной венозной крови. Изучались следующие полиморфные локусы генов

фолатного цикла rs1805087 гена *MTR*, rs1801394 гена *MTRR*, rs1979277 гена *SHMT1*, rs699517 гена *TYMS*, rs2790 гена *TYMS*. Исследование проводили методом ПЦР с использованием соответствующих олигонуклеотидных праймеров и зондов с последующим анализом полиморфизмов методом детекции TaqMan зондов (real-time ПЦР).

Статистические расчеты осуществлялись с использованием программного обеспечения gPLINK v2.050 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>). Для коррекции множественных сравнений использовали пермутационный тест. Для исследования ген-генных взаимодействий использовался метод снижения размерности MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) в модификации Model-Based-MDR (MB-MDR) (Calle M.L. et al., 2010).

Результаты и их обсуждение. По всем изученным SNPs как в группе беременных с СЗРП 2-3 степени, так и в группе контроля частоты минорных аллелей (MAF) были выше 5%. Анализ наблюдаемого распределения генотипов не выявил отклонения от ожидаемого распределения в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга (HWE) по всем рассматриваемым локусам как среди беременных с СЗРП 2-3 степени (табл. 1), так и в контрольной группе (табл. 2).

Анализ ассоциации аллелей полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием СЗРП 2-3 ст. (табл. 3) показал что аллель Т rs1979277 гена *SHMT1* достоверно связан с развитием СЗРП 2-3 степени ($OR=1,57$, $95\%CI$ 1,11-2,23, $p=0,011$, $p_{perm}=0,012$, $N_{perm}=1596$).

Таблица 1

Распределение 5 полиморфных локусов генов фолатного цикла в группе беременных с СЗРП 2 - 3 степени

Table 1

Distribution of 5 polymorphic loci of the folate cycle genes in the group of pregnant women with FGRS of 2-3 degrees

CHR	SNP	Ген	Минорный аллель	Частый аллель	Частота минорного аллеля	Число изученных хромосом	Распределение генотипов*	Наблюдаемая гетерозиготность H ₀	Ожидаемая гетерозиготность H _e	P
1	rs1805087	MTR	G	A	0,230	674	9/35/66	0,318	0,366	0,191
5	rs1801394	MTRR	A	G	0,428	706	20/53/37	0,482	0,488	1,000
17	rs1979277	SHMT1	T	C	0,312	664	17/43/41	0,426	0,472	0,398
18	rs699517	TYMS	T	C	0,287	690	10/40/60	0,366	0,397	0,469
18	rs2790	TYMS	G	A	0,172	704	3/34/73	0,309	0,297	1,000

Примечание: * - количество гомозигот по минорному аллелю / гетерозигот / гомозигот по частому аллелю.

Note: * - count of homozygotes for the minor allele / heterozygotes / homozygotes for the frequent allele.

Таблица 2

Распределение 5 полиморфных локусов генов фолатного цикла в контрольной группе

Table 2

Distribution of 5 polymorphic loci of the folate cycle genes in the control group

CHR	SNP	Ген	Минорный аллель	Частый аллель	Частота минорного аллеля	Число изученных хромосом	Распределение генотипов*	Наблюдаемая гетерозиготность	Ожидаемая гетерозиготность	P
1	rs1805087	MTR	G	A	0,224	454	6/90/131	0,396	0,348	0,055
5	rs1801394	MTRR	A	G	0,43	486	44/121/78	0,498	0,490	0,896
17	rs1979277	SHMT1	T	C	0,281	462	17/96/118	0,416	0,404	0,747
18	rs699517	TYMS	T	C	0,293	470	18/102/115	0,434	0,415	0,532
18	rs2790	TYMS	G	A	0,167	484	7/67/168	0,277	0,279	0,821

Примечание: * - количество гомозигот по минорному аллелю / гетерозигот / гомозигот по частому аллелю.

Note: * - count of homozygotes for the minor allele / heterozygotes / homozygotes for the frequent allele.

Таблица 3

Ассоциации аллелей 5 полиморфных локусов генов фолатного цикла с СЗРП 2-3 ст. у беременных

Table 3

Associations of alleles of 5 polymorphic loci of the folate cycle genes with 2-3-degree FGRS in pregnant women

CHR	SNP	Ген	Минорный аллель (MAF)	MAF у беременных с СЗРП 2-3 ст.	MAF в контроле	OR	L95	U95	P
1	rs1805087	<i>MTR</i>	G	0,241	0,225	1,09	0,75	1,60	0,638
5	rs1801394	<i>MTRR</i>	A	0,423	0,430	0,97	0,70	1,34	0,086
17	rs1979277	<i>SHMT1</i>	T	0,381	0,281	1,57	1,11	2,23	0,011
18	rs699517	<i>TYMS</i>	T	0,273	0,294	0,90	0,63	1,29	0,572
18	rs2790	<i>TYMS</i>	G	0,182	0,167	1,11	0,73	1,68	0,637

Примечание: OR – отношение шансов (L95 – нижняя граница, U95 – верхняя граница), p – уровень значимости.

Note: OR is the odds ratio (L95 - lower limit, U95 - upper limit), p - significance level.

Таблица 4

Результаты логистического регрессионного анализа ассоциаций 5 SNPs генов фолатного цикла с формированием СЗРП 2-3 степени в рамках аддитивной, доминантной и рецессивной моделей

Table 4

Results of logistic regression analysis of 5 SNPs associations of the folate cycle genes with the formation of 2-3-degree FGRS in scope of additive, dominant and recessive models

Chr	SNP	Ген	n	Аддитивная модель				Доминантная модель				Рецессивная модель			
				OR	95%CI		P	OR	95%CI		P	OR	95%CI		P
					L95	U95			L95	U95			L95	U95	
1	rs1805087	<i>MTR</i>	337	1,10	0,74	1,62	0,630	0,91	0,57	1,45	0,689	3,28	1,14	9,47	0,028
5	rs1801394	<i>MTRR</i>	353	0,97	0,70	1,34	0,855	0,93	0,58	1,50	0,775	1,00	0,56	1,80	0,986
17	rs1979277	<i>SHMT1</i>	332	1,56	1,10	2,22	0,012	1,53	0,95	2,45	0,079	2,55	1,24	5,22	0,011
18	rs699517	<i>TYMS</i>	345	0,90	0,63	1,29	0,571	0,8	0,51	1,26	0,332	1,21	0,54	2,71	0,650
18	rs2790	<i>TYMS</i>	352	1,11	0,73	1,68	0,636	1,15	0,71	1,86	0,567	0,94	0,24	1,71	0,931

Примечание: – выделены статистически значимые результаты с учетом адаптивного пермутационного теста, OR – отношение шансов, 95%CI – 95% доверительный интервал (L95 – нижняя граница, U95 – верхняя граница), p – уровень значимости.

Note: – statistically significant results were selected taking into account the adaptive permutation test, - OR – odds ratio, 95% CI – 95% confidence interval (L95 – lower limit, U95 – upper limit), p – significance level.

Установлено, что аллель T rs1979277 гена *SHMT1* ассоциирован с развитием СЗРП 2-3 степени в рамках аддитивной (OR=1,56, 95%CI 1,10-2,22, p=0,012, p_{perm}=0,011, N_{perm}=1792) и рецессивной (OR=2,55, 95%CI 1,24-5,22, p=0,011, p_{perm}=0,007, N_{perm}=2961) моделей (табл. 4). Также выявлена ассоциация аллеля G rs1805087 гена *MTR* с формированием СЗРП 2-3 степени в соответствии с рецессивной моделью (OR=3,28, 95%CI 1,14-9,47, p=0,028, p_{perm}=0,014, N_{perm}=1364).

При анализе ассоциаций гаплотипов полиморфных локусов rs699517 и rs2790 гена *TYMS* с развитием СЗРП 2-3 степени у беременных достоверных данных не выявлено (табл. 5).

С использованием метода MB-MDR выявлено 3 значимые модели SNP×SNP взаимодействий генов фолатного цикла, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени: 2 модели двухлокусного взаимодействия, 1 – трехлокусного (p_{perm}≤0,05) (табл. 6).

Проведенный анализ показал, что в состав 3 наиболее значимых моделей межгенных взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени, входят 3 полиморфных локуса из 5 рассматриваемых SNPs: rs1805087 *MTR*, rs1801394 *MTRR* и rs1979277 *SHMT1*. Следует отметить, что каждый из этих трех «значимых» SNPs входит, как правило, в состав двух моделей. При этом, полиморфный локус rs1805087 *MTR* участвует в формировании

наиболее значимых моделей ген-генных взаимодействий всех уровней (2-х и 3-х локусных). Также, парное SNP×SNP взаимодействие rs1805087 *MTR* x rs1979277 *SHMT1* является основой двух наиболее значимых моделей межгенных взаимодействий – одной 2-х локусной и одной 3-х локусной моделей. Ассоциации отдельных комбинаций генотипов с развитием СЗРП 2-3 степени в рамках 3 наиболее значимых моделей SNP×SNP взаимодействий представлены в таблице 7. Наиболее значимую ассоциацию с СЗРП 2-3 степени имеет двухлокусная комбинация генотипов AG rs1801394 *MTRR* x GG rs1805087 *MTR* (beta =0,47, p=0,002).

С помощью метода MDR выполнен анализ межгенных взаимодействий трех SNPs rs1801394 *MTRR* x rs1805087 *MTR* x rs1979277 *SHMT1*, связанных с развитием СЗРП 2-3 степени. Полученные результаты представлены на рисунке 1 в виде дендрограммы (А) и графа (Б). Следует отметить, что наибольший вклад в формирование СЗРП 2-3 стадии вносят полиморфные локусы rs1979277 *SHMT1* (1,19% энтропии), rs1805087 *MTR* (1,19% энтропии) и парное межгенное взаимодействие rs1801394 *MTRR* x rs1805087 *MTR* (-0,40% энтропии).

Таким образом, проведенное исследование установило ассоциации трех из пяти изученных полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием СЗРП 2-3 степени: rs1805087 гена *MTR*, rs1979277 гена *SHMT1* и rs1801394 гена *MTRR*.

Таблица 5

Ассоциации гаплотипов полиморфных локусов rs699517 и rs2790 гена *TYMS* с развитием СЗРП 2-3 степени

Table 5

Associations of haplotypes of polymorphic loci rs699517 and rs2790 of the *TYMS* gene with the development of 2-3-degree FGRS

SNPs	Гаплотип	Частота гаплотипа		OR	P
		Беременные с СЗРП (n=112)	Контроль (n=243)		
rs699517 rs2790	TG	0,153	0,162	0,93	0,743
rs699517 rs2790	CG	0,029	0,008	3,50	0,038
rs699517 rs2790	TA	0,120	0,132	0,89	0,652

Примечание: результаты получены методом логистической регрессии. OR – отношение шансов, p – уровень значимости.

Note: the results were obtained by the method of logistic regression. OR is the odds ratio, p is the significance level.

Таблица 6

Наиболее значимые модели SNP x SNP взаимодействий генов фолатного цикла, ассоциированные с развитием СЗРП 2-3 степени

Table 6

The most significant models of SNP x SNP folate cycle gene interactions associated with the development 2-3-degree FGRS

N	Модели SNP x SNP взаимодействий	NH	betaH	WH	NL	betaL	WL	P _{perm}
Двухлокусные модели ($p < 2,7 \cdot 10^{-3}$)								
1	rs1801394 <i>MTRR</i> x rs1805087 <i>MTR</i>	1	0,475	9,38	0	NA	NA	0,042
2	rs1805087 <i>MTR</i> x rs1979277 <i>SHMT1</i>	2	0,283	9,13	1	-0,113	2,922	0,049
Трехлокусные модели ($p < 1,4 \cdot 10^{-5}$)								
1	rs1801394 <i>MTRR</i> x rs1805087 <i>MTR</i> x rs1979277 <i>SHMT1</i>	4	0,440	19,43	0	NA	NA	0,013

Примечание: получены методом MB-MDR;

NH – количество значимых сочетаний генотипов, связанных с повышенным риском развития СЗРП 2-3 степени;

beta H – коэффициент линейной регрессии для сочетаний генотипов, связанных с повышенным риском развития СЗРП 2-3 степени;

WH – статистика Вальда для сочетаний генотипов, связанных с повышенным риском развития СЗРП 2-3 степени;

NL – число значимых сочетаний генотипов, связанных с пониженным риском развития СЗРП 2-3 степени;

beta L – коэффициент линейной регрессии для сочетаний генотипов, связанных с пониженным риском развития СЗРП 2-3 степени;

WL – статистика Вальда для сочетаний генотипов, связанных с пониженным риском развития СЗРП 2-3 степени;

P_{perm} – уровень значимости моделей после проведенного пермутационного теста (выполнено 1000 пермутаций).

Note: obtained by MB-MDR;

NH - the number of significant combinations of genotypes associated with an increased risk of FGRS of 2–3 degrees;

beta H - linear regression coefficient for combinations of genotypes associated with an increased risk of FGRS of 2–3 degrees;

WH - Wald statistics for combinations of genotypes associated with an increased risk of developing FGRS of 2–3 degrees;

NL - the number of significant combinations of genotypes associated with a reduced risk of developing FGRS of 2–3 degrees;

beta L is the linear regression coefficient for combinations of genotypes associated with a reduced risk of FGRS of 2–3 degrees;

WL - Wald statistics for combinations of genotypes associated with a reduced risk of developing FGRS of 2–3 degrees;

P_{perm} - significance level of the models after the permutation test (1000 permutations were performed).

Таблица 7

Ассоциации комбинаций генотипов фолатного цикла, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени

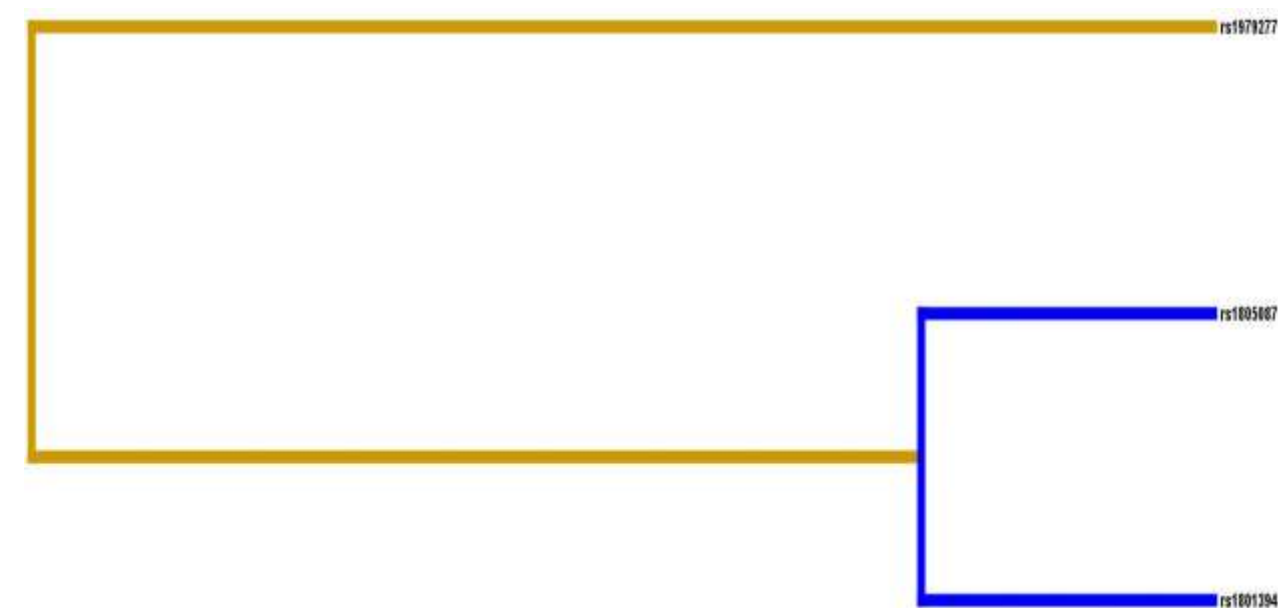
Table 7

Associations of combinations of the folate cycle genotypes associated with the development of 2-3-degree FGRS

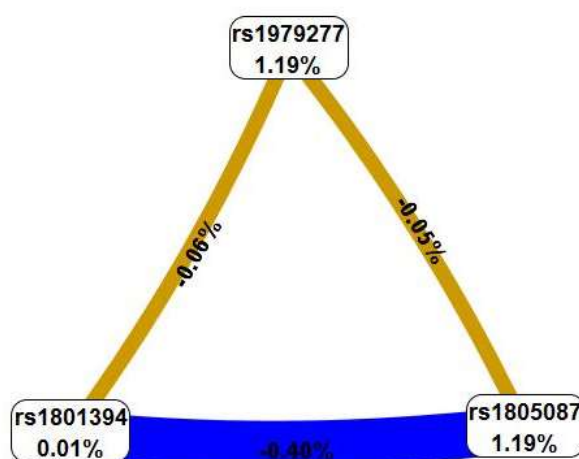
N мо- дели	N комби- нации	Комбинации генотипов	<i>beta</i>	P	Риск
Двухлокусные модели					
1	1	rs1801394 AG x rs1805087 GG	0,47	0,002	H
2	2	rs1805087 AA x rs1979277 TT	0,25	0,019	H
Трехлокусные модели					
3	3	rs1801394 AG x rs1805087 GG x rs1979277 CC	0,44	0,059	H
	4	rs1801394 AG x rs1805087 GG x rs1979277 CT	0,49	0,018	H
	5	rs1801394 AA x rs1805087 AA x rs1979277 TT	0,49	0,018	H
	6	rs1801394 AG x rs1805087 AG x rs1979277 TT	0,32	0,056	H

Примечание: получены методом MB-MDR; *beta* – коэффициенты логистической регрессии для сочетаний генотипов; p – уровень значимости (жирным выделена наиболее значимая ассоциация); H – высокий риск.

Note: obtained by MB-MDR; *beta* - logistic regression coefficients for combinations of genotypes; p – significance level (the most significant association is highlighted in bold); H – high risk.



А.



Б.

Рис. 1. Дендрограмма (А) и граф (Б) наиболее значимых SNP×SNP взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени (получены методом MDR). Характеризуют силу и направленность влияния полиморфных локусов и их сочетаний на развитие СЗРП 2-3 степени (% энтропии). При обозначении полиморфизма указаны хромосома и rs SNP. Коричневый цвет - умеренный синергизм, синий – выраженный синергизм в SNP×SNP взаимодействиях соответственно.

Fig. 1. Dendrogram (A) and graph (B) of the most significant SNP × SNP interactions associated with the development of 2-3-degree FGRS (obtained by the MDR method). Characterize the strength and orientation of the influence of polymorphic loci and their combinations on the development of 2-3-degree FGRS (% of entropy). When designating polymorphism, the chromosome and rs SNP are indicated. Brown is moderate synergism, blue is pronounced synergism in SNP × SNP interactions, respectively.

Полученные результаты согласуются с литературными данными о медико-биологических эффектах исследуемых генов в организме человека. Нормальное развитие плода требует адекватного уровня фолиевой кислоты во время беременности. Фолат способствует делению и росту клеток, а метаболизм фолата участвует в большом количестве физиологических и патофизиологических процессов в развитии человека [8, 10]. Поэтому полиморфизм генов, ответственных за обмен фолиевой кислоты, может негативно сказываться на росте и делении клеток плода и плаценты.

При сочетании неполноценных функционально ослабленных аллелей на фоне действия неблагоприятных (провоцирующих) факторов внешней среды такие полиморфизмы могут играть важную роль в патологии беременности и нарушении эмбрионального развития [9, 10, 12].

Метаболические ферменты фолатного цикла играют важную роль в поддержании нормального развития плода. Так, серин-гидроксиметилтрансфераза (*SHMT1*), пиридоксаль-фосфат-зависимый фермент, катализирующий взаимопревращение серина и глицина, обеспечивает фолат-зависимый одноуглеродный метаболизм, необходимый для синтеза пуринов и тимидилата, а также для превращения гомоцистеина в метионин. Метионин впоследствии аденилируется в S-аденозилметионин (SAM), кофактор, который метилирует ДНК, РНК, белки и многие метаболиты [9, 10]. Авторы указывают, что митохондриальные *SHMT*-производные одноуглеродные единицы необходимы для опосредованного фолатом одноуглеродного метаболизма в цитоплазме [11, 12]. Связь полиморфизма гена *SHMT1* с нарушением течения беременности и развитием плода показана в работе Katalin Fekete с соавторами [13]. Также проводились работы по изучению ассоциаций серин-гидроксиметилтрансферазы (*SHMT1*) с развитием острого лимфобластного лейкоза, склероза, дефекта нервной трубки [14-17].

Метионинсинтаза (*METH*, то есть *MTR*) является ключевым ферментом в пути фолата, который играет критическую роль в синтезе, репарации и метилировании ДНК. Метионинсинтаза является V_{12} -зависимым ферментом, и недостаток витамина V_{12} может нарушить метилирование гомоцистеина и привести к его накоплению. Деметилирование метионина в процессе метаболизма приводит к образованию гомоцистеина, а для его метилирования требуется фолат и кобаламин. Низкие концентрации фолиевой кислоты связаны с сосудистыми осложнениями беременности. Предыдущие экспериментальные и теоретические исследования показали, что кофакторы фолата ограничивают цитоплазматические фолатзависимые реакции [17, 18].

В ряде работ показана связь метионинсинтазаредуктазы (*MTR*) с внутриутробной задержкой роста плода [12, 13, 19]. Предыдущие *in vitro* исследования выявили, что этот фермент регулирует распределение метилентетрагидрофолата между путями метаболизма тимидилата и гомоцистеина. [12]. Sung Hwan Cho с соавторами выявили ассоциации генетических полиморфизмов метионинсинтазы (*MTRR*) и метионинсинтазаредуктазы (*MTR*) с рецидивирующим нарушением имплантации плода [21]. Имеются работы, демонстрирующие ассоциации полиморфизма генов *MTRR* и *MTR* с инициацией онкогенеза и опухолевой прогрессии, с риском развития сердечно-сосудистой патологии [22-27].

Вывод. В результате проведенного исследования установлена ассоциация полиморфных локусов генов фолатного цикла rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* и rs1801394 *MTRR* с развитием синдрома задержки роста плода 2-3 степени. Аллели T rs1979277 гена *SHMT1* и G rs1805087 гена *MTR* являются факторами риска развития данного осложнения беременности (OR=1,56 - 2,55 и OR=3,28 соответственно). Установлены три модели SNPxSNP взаимодействий генов фолатного цикла, ассоциированных с СЗРП 2-3 степени ($p<0,05$). В состав значимых моделей вхо-

дят три полиморфных локуса rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* и rs1801394 *MTRR*. Парное взаимодействие rs1801394 *MTRR* x rs1979277 *SHMT1* является основой двух наиболее значимых моделей ген-генных взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Human Placental Arterial Distensibility, Birth Weight, and Body Size Are Positively Related to Fetal Homocysteine Concentration / S.W. D'Souza [et al.] // *Reprod Sci.* 2017. Vol. 24(7). P. 1070-1078. DOI: 10.1177/1933719116678694
2. Birth-weight differences at term are explained by placental dysfunction and not by maternal ethnicity / J. Morales-Roselló [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018. Vol. 52(4). P. 488-493. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.19025>
3. Placental adaptations in growth restriction / S. Zhang [et al.] // *Nutrients.* 2015. Vol. 7. P. 360-389. DOI: 10.3390/nu7010360
4. The Possible Role of Placental Morphometry in the Detection of Fetal Growth Restriction / Salavati N. [et al.] // *Front. Physiol.* 2019. Vol. 9. P. 1884. DOI: 10.3389/fphys.2018.01884
5. Gordijn S.J., Beune I.M., Ganzevoort W. Building consensus and standards in fetal growth restriction studies // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2018. Vol. 49. P. 117-126. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2018.02.002
6. Fetal growth restriction: current knowledge / L.M.M. Nardoza [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* 2017. Vol. 295. P. 1061-1077. DOI: 10.1007/s00404-017-4341-9
7. Methionine metabolism in human pregnancy / J. Dasarthy [et al.] // *Am J Clin Nutr.* 2010. Vol. 91(2). P. 357-365. DOI: 10.3945/ajcn.2009.28457
8. Патогенетические аспекты нарушения обмена фолиевой кислоты при задержке внутриутробного развития плода [Электронный ресурс] / А.Н. Ни [и др.] // *Современные проблемы науки и образования.* 2016. N 2. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24187> (дата обращения: 20.02.2020).
9. Частота генетических маркеров фолатного цикла у новорожденных с задержкой внутриутробного развития / А.Н. Ни [и др.] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2015. N 3. С. 63-66.
10. Ларина Т.Н., Супрун С.В. Фолатный цикл: патогенетические механизмы осложнений беременности // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2018. N 70. С. 113-120.
11. Association Study of Polymorphisms in Genes Relevant to Vitamin B12 and Folate Metabolism with Childhood Autism Spectrum Disorder in a Han Chinese Population / Z. Zhang [et al.] // *Med Sci Monit.* 2018. Vol. 24. P. 370-376. DOI: 10.12659/MSM.905567
12. Полиморфизмы генов фолатного цикла, ассоциированные с угрозой раннего прерывания беременности у жительниц республики Адыгея / Д.Д. Мамий [и др.] // *Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 4: Естественно-математические и технические науки.* 2018. N 1(212). С. 103-111.
13. Perinatal folate supply: relevance in health outcome parameters / K. Fekete [et al.] // *Maternal and Child Nutrition.* 2010. Vol. 6(s2). P. 23-38. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1740-8709.2010.00261.x>
14. Association of *SHMT1* gene polymorphisms with the risk of childhood acute lymphoblastic / G. Bahari [et al.] // *Cell. Mol. Biol.* 2016. Vol. 62(2). P. 45-51.
15. Correlations between the polymorphisms of serine hydroxymethyl-transferase 1 gene and the adverse reactions of high-dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia / H. Ding [et al.] // *Chinese Journal of Clinical Oncology.* 2014. Vol. 3. P. 162-165. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.20131420
16. Association of *SHMT1*, *MAZ*, *ERG*, and *L3MBTL3* gene polymorphisms with susceptibility to multiple sclerosis / S.Z.N. Mehrabani [et al.] // *Biochemical genetics.* 2019. Vol. 3(57). P. 355-370. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10528-018-9894-1>
17. Interaction between Maternal and Paternal *SHMT1* C1420T Predisposes to Neural Tube Defects in the Fetus: Evidence from Case-Control and Family-Based Triad Approaches / P.K. Rebekah [et al.] // *Birth Defects Research.* 2017. Vol. 109(13). P. 1020-1029. DOI: 10.1002/bdr2.23623
18. Association of Polymorphisms in Genes Involved in One-Carbon Metabolism with *MTHFR* Methylation Levels / F. Coppédè [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* 2019. Vol. 20(15). P. 3754. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20153754>

19. Tian D.D., Zhang C.D., Wang L.K. Relation between *MTHFR* and *MTR* gene polymorphisms and the efficacy of oral folic acid therapy for hyperhomocysteinemia // Chinese General Practice. 2016. Vol. 19(12). P. 1396-1407.
20. Фетисова И.Н., Малышкина А.И., Фетисов Н.С. Полиморфизм генов фолатного цикла у женщин с невынашиванием беременности // Вестник Ивановской медицинской академии. 2019. Т. 24, N 1. С. 33-36.
21. Association of methionine synthase (rs1805087), methionine synthase reductase (rs1801394), and methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 (rs2236225) genetic polymorphisms with recurrent implantation failure / S.H. Cho [et al.] // Human Fertility. 2019. P. 1-8. DOI: 10.1080/14647273.2019.1613679
22. Niu Z., Hou X., Zhao H. Association of *MTHFR*, *MTRR* and *MTR* polymorphisms with breast cancer risk: a study in Chinese females // International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2017. Vol. 10(6). С. 7059-7066.
23. Полиморфные варианты генов фолатного цикла у больных раком легкого / М.Л. Баканова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. 2019. Т. 18, N 2. С. 70-77.
24. Donor one carbon metabolism gene single nucleotide polymorphisms predict the susceptibility of cancer recurrence after liver transplantation / C. Wang [et al.] // Gene. 2019. Vol. 689. P. 97-101. DOI: 10.1016/j.gene.2018.11.035
25. Association of Two Single-Nucleotide Polymorphisms (rs1805087 and rs1801131) with Coronary Artery Disease in Golestan Population / F. Baghbani-Arani [et al.] // Ann Mil Health Sci Res. 2017. Vol. 15(1). P. e11473. DOI: 10.5812/amh.11473
26. Популяционно-генетическая структура и анализ распространенности генов-кандидатов ряда мультифакториальных заболеваний среди населения / М.И. Чурносков [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2008. N 6-2(46). С. 34-39.
27. Березина О.В., Поспелова Т.И. Гены метаболизма фолатов при диффузной крупноклеточной лимфоме // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2018. Т. 153, N 2. С. 9-13.
28. Fetal Homocysteine Concentration. Reprod Sci. 2017;24(7):1070-1078. DOI: 10.1177/1933719116678694
29. Morales- Roselló J, Dias T, Khalil A, et al. Birth-weight differences at term are explained by placental dysfunction and not by maternal ethnicity. Ultrasound Obstet Gynecol. 2018;52(4):488-493. DOI: 10.1002/uog.19025
30. Zhang S, Regnault T, Barker P, et al. Placental adaptations in growth restriction. Nutrients. 2015;7:360-389. DOI: 10.3390/nu7010360
31. Salavati N, Smies M, Ganzevoort W, et al. The Possible Role of Placental Morphometry in the Detection of Fetal Growth Restriction. Front. Physiol. 2019;9:1884. DOI: 10.3389/fphys.2018.01884
32. Gordijn SJ, Beune IM, Ganzevoort W. Building consensus and standards in fetal growth restriction studies. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2018;49:117-126. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2018.02.002
33. Nardoza LMM, Caetano ACR, Zamaranian ACP, et al. Fetal growth restriction: current knowledge. Arch. Gynecol. Obstet. 2017;295:1061-1077. DOI: 10.1007/s00404-017-4341-9
34. Dasarathy J, Gruca LL, Bennett C, et al. Methionine metabolism in human pregnancy. Am J Clin Nutr. 2010;91(2):357-365. DOI: 10.3945/ajcn.2009.28457
35. Ni AN, Fadeeva TJ, Vasilieva TG, et al. [Pathogenetic aspects of folic acid exchange disorder in case of delay of intrauterine fetal development]. Modern problems of science and education [Internet]. 2016 [cited 2019 Feb 20];2. Available from: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24187>. Russian.
36. Ni AN, Fadeeva TJ, Vasilieva TG, et al. [Frequency of genetic markers of the folate cycle in newborns with delay of intrauterine development]. Russian Journal of Perinatology and Pediatrics. 2015;3:63-66. Russian.
37. Larina TN, Suprun SV. [The Folate Cycle: Pathogenetic Mechanisms of Pregnancy Complications]. Bulletin of Physiology and Respiratory Pathology. 2018;70:113-120. Russian.
38. Zhang Z, Yu L, Li S, et al. Association Study of Polymorphisms in Genes Relevant to Vitamin B12 and Folate Metabolism with Childhood Autism Spectrum Disorder in a Han Chinese Population. Med Sci Monit. 2018;24:370-376. DOI: 10.12659/MSM.905567
39. Mamiy DD, Tatarkova EA, Tuguz AR, et al. [Polymorphisms of folate cycle genes asso-

References

ciated with the threat of early termination of pregnancy in residents of the Republic of Adygea]. Journal of Adygei State University. Series 4: Natural-mathematical and technical sciences. 2018;1(212):103-111. Russian.

13. Fekete K, Berti C, Cetin I, et al. Perinatal folate supply: relevance in health outcome parameters. Maternal and Child Nutrition. 2010;6(s2):23-38. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1740-8709.2010.00261.x>

14. Bahari G, Hashemi M, Naderi M, et al. Association of *SHMT1* gene polymorphisms with the risk of childhood acute lymphoblastic. Cell. Mol. Biol. 2016;62(2):45-51.

15. Hui D, Lijie Y, Jie Y, et al. Correlations between the polymorphisms of serine hydroxymethyl-transferase 1 gene and the adverse reactions of high-dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia. Chinese Journal of Clinical Oncology. 2014;3:162-165. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.20131420

16. Mehrabani SZN, Shushizadeh MH, Abazari MF, et al. Association of *SHMT1*, *MAZ*, *ERG*, and *L3MBTL3* gene polymorphisms with susceptibility to multiple sclerosis. Biochemical genetics. 2019;3(57):355-370. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10528-018-9894-1>

17. Rebekah PK, Tella S, Buragadda S, et al. Interaction between Maternal and Paternal *SHMT1* C1420T Predisposes to Neural Tube Defects in the Fetus: Evidence from Case-Control and Family-Based Triad Approaches. Birth Defects Research. 2017;109(13):1020-1029. DOI:10.1002/bdr2.23623

18. Coppedè F, Stoccoro A, Tannorella P, et al. Association of Polymorphisms in Genes Involved in One-Carbon Metabolism with *MTHFR* Methylation Levels. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(15):3754. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20153754>

19. Tian DD, Zhang CD, Wang LK. Relation between *MTHFR* and *MTR* gene polymorphisms and the efficacy of oral folic acid therapy for hyperhomocysteinemia. Chinese General Practice. 2016;19(12):1396-1407.

20. Fetisova IN, Kolchkin AI, Fetisov NS. [Polymorphism of folate cycle genes in women with non-pregnancy]. Vestnik Ivanovskoy meditsinskoy akademii. 2019;24(1):33-36. Russian.

21. Cho SH, Kim JH, An HJ, et al. Association of methionine synthase (rs1805087), methionine synthase reductase (rs1801394), and methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 (rs2236225) genetic polymorphisms with recur-

rent implantation failure. Human Fertility. 2019 May 17:1-8. DOI: 10.1080/14647273.2019.1613679

22. Niu Z, Hou X, Zhao H. Association of *MTHFR*, *MTRR* and *MTR* polymorphisms with breast cancer risk: a study in Chinese females. International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2017;10(6):7059-7066.

23. Bakanova ML, Minina VI, Savchenko YA, et al. [Polymorphic variants of folate cycle genes in lung cancer patients]. Siberian Journal of Oncology. 2019;18(2):70-77. Russian.

24. Wang C, Lu D, Ling Q, et al. Donor one- carbon metabolism gene single nucleotide polymorphisms predict the susceptibility of cancer recurrence after liver transplantation. Gene. 2019;689:97-101. DOI: 10.1016/j.gene.2018.11.035

25. Baghbani-Arani F, Telori MK, Asadi J, et al. Association of Two Single-Nucleotide Polymorphisms (rs1805087 and rs1801131) with Coronary Artery Disease in Golestan Population. Ann Mil Health Sci Res. 2017;15(1):e11473. DOI: 10.5812/amh.11473

26. Churnosov MI, Necipelova EV, Tekunova TS, et al. [Population-genetic structure and analysis of the prevalence of candidate genes of a number of multi-factorial diseases among the population]. Scientific Bulletin of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy. 2008;6-2(46):34-39. Russian.

27. Berezina OV, Pospelova TI. [Genes of folate metabolism in diffuse in-large-cell lymphoma]. Siberian Medical Journal (Irkutsk). 2018;153(2):9-13. Russian.

Статья поступила в редакцию 08 ноября 2019 г.
Поступила после доработки 25 декабря 2019 г.
Принята к печати 10 января 2020 г.

Received 08 November 2019

Revised 25 December 2019

Accepted 10 January 2020

Информация об авторе

Олеся Адамовна Ефремова, ассистент кафедры медицинской генетики, Харьковский национальный медицинский университет, E-mail: efremovaolesya@gmail.com, ORCID: 0000-0003-3710-9942.

Information about the author

Olesya A. Efremova, Assistance Lecturer of the Department of Medical Genetics, Kharkiv National Medical University, E-mail: efremovaolesya@gmail.com, ORCID: 0000-0003-3710-9942.



УДК 575.162+575.164

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-5

Т.В. Лежейко,
М.В. Габаева,
Е.В. Крикова,
В.Е. Голимбет

Полиморфизм гена *ZNF804A* rs1344706
и клиническая гетерогенность шизофрении

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научный центр психического здоровья» (ФГБНУ НЦПЗ),
Каширское ш., д. 34, г. Москва, 115522, Российская Федерация
Автор для переписки: В.Е. Голимбет (golimbet@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Важным аспектом поиска генов риска шизофрении является подтверждение полученных ассоциаций, выявленных в результате полногеномного анализа (GWAS), в выборках из отдельных популяций, а также установление их специфичности для этого заболевания. **Цель исследования:** Изучить связь между вариантом риска *ZNF804A* rs1344706 и шизофренией с учетом типа ее течения и шизоаффективным расстройством (ШАР), а также некоторыми клиническими особенностями этих заболеваний, прогностически важными для оценки их тяжести. **Материалы и методы:** Выборка больных состояла из 1458 человек, из них 1284 с диагнозом шизофрении и 174 с диагнозом ШАР. Контрольная группа психически здоровых испытуемых включала в себя 1051 человека. Для оценки тяжести заболевания использовали возраст начала болезни и общий балл по широко используемой при изучении шизофрении шкале PANSS. Генотипирование полиморфизма *ZNF804A* rs1344706 проводили с помощью метода полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. **Результаты:** Обнаружено повышение частоты генотипа риска *AA* в группе больных шизофренией по сравнению с контрольной группой ($p=0,03$. ОШ 1,31, ДИ 95% 1,03-1,7). Анализ связи полиморфизма *ZNF804A* rs1344706 с клиническими характеристиками выявил значимый эффект генотипа ($p=0,007$) на суммарный балл PANSS в общей группе больных. Наибольшая выраженность симптомов отмечена в группе носителей генотипа риска *AA*, а наименьшая – у носителей генотипа *CC*. Влияния генотипа на возраст начала заболевания не обнаружено. **Заключение:** Полученные результаты подтверждают известные данные, о том, что полиморфизм *ZNF804A* rs1344706 ассоциирован с заболеванием и его тяжестью, а вариантом риска является генотип *AA*.

Ключевые слова: шизофрения; шизоаффективное расстройство; *ZNF804A*; rs1344706; симптомы; PANSS

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-07-01119.

Для цитирования: Лежейко ТВ, Габаева МВ, Крикова ЕВ, и др. Полиморфизм гена *ZNF804A* rs1344706 и клиническая гетерогенность шизофрении. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):51-62. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-5

Tatyana V. Lezheiko,
Marina V. Gabaeva,
Ekaterina V. Krikova,
Vera E. Golimbet

**ZNF804A rs1344706 gene polymorphism
and clinical heterogeneity of schizophrenia**

Mental Health Research Center,
34 Kashirskoe Rd., Moscow, 115522, Russia
Corresponding author: Vera E. Golimbet (golimbet@mail.ru)

Abstract

Background: Replication of genome-wide association study (GWAS) loci for schizophrenia in different populations as well as the study of their specificity for disease are important issues in searching for genetic factors of schizophrenia. **The aim of the study:** To search for the association of ZNF804A rs1344706 polymorphism with schizophrenia and schizoaffective disorder (SAD), as well as with clinical characteristics of these diseases, which are of prognostic value. **Materials and methods:** The study included 1458 patients diagnosed with schizophrenia (n=1284) or SAD (n=174) and a control group of healthy people (n=1051). Age-at-disease onset and the total score on the Positive and Negative Syndrome Scale were used to assess the severity of disease. Genotyping was performed using the restriction fragment length polymorphism technique. **Results:** There is an increase in the frequency of the risk genotype AA in the total group of patients compared to the control group ($p=0,03$, OR 1,31, CI 95% 1,03-1,7). An analysis of association between ZNF804A rs1344706 and clinical characteristics reveals a significant effect of genotype ($p=0,007$) on the severity of the disease measured with the Positive and Negative Syndrome Scale. The highest scores are in the group of genotype AA carriers and the lowest in the group of CC genotype carriers. No association between genotype and age-at disease onset was identified. **Conclusion:** The results confirm the earlier findings that the risk genotype AA of ZNF804A rs1344706 polymorphism is associated with schizophrenia and its severity.

Keywords: schizophrenia; schizoaffective disorder; ZNF804A gene; rs1344706; symptoms; PANSS

Acknowledgements: The study is supported by the RFBR grant № 19-07-01119.

For citation: Lezheiko TV, Gabaeva MV, Krikova EV, et al. ZNF804A rs1344706 gene polymorphism and clinical heterogeneity of schizophrenia. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):51-62. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-5

Введение. Шизофрения представляет собой заболевание, в этиологии которого важную роль играют генетические и средовые факторы. Патогенетические механизмы его до сих пор не выяснены. На современном этапе исследования биологических основ шизофрении большое внимание уделяется поиску генов, связанных с заболеванием, при этом в качестве основного инструмента поиска рассматривается широкомасштабное исследование генома

(GWAS от англ. genome-wide association study), позволяющее с высокой достоверностью выявить варианты риска. Исследование проводят, используя биочипы, с помощью которых можно генотипировать сотни тысяч полиморфных участков, по типу случай-контроль на больших выборках, состоящих из десятков тысяч человек. Такие большие выборки, как правило, составлены из отдельных групп, сформированных на базе различных популяций.

Анализ ассоциаций проводят в общей выборке, при этом в отдельных группах связи между полиморфным участком и заболеванием может быть и не обнаружено. Поэтому важной задачей является подтверждение выявленной на основе GWAS ассоциации в конкретной популяции. Очевидно, что такого рода исследования нужно проводить на достаточно больших выборках для обеспечения большой мощности исследования. Кроме того, важно исследовать связь выявленных с помощью GWAS вариантов с другими психотическими расстройствами, имеющими генетическую общность с шизофренией (шизоаффективное расстройство и биполярное аффективное расстройство (БАР)), а также клиническими особенностями заболевания. В настоящее время такие попытки предпринимаются в популяциях из разных стран [1, 2].

Одним из наиболее изучаемых в этом аспекте является ген цинк пальцевого белка (*ZNF804A* от англ. zinc finger protein 804A), который входит в число наиболее изучаемых генов, ассоциированных с шизофренией по данным GWAS [3]. Этот ген кодирует широко представленный в головном мозге человека транскрипционный фактор, принимающий участие в процессах нейронального развития, дифференциации и пролиферации глиальных клеток [4]. *ZNF804A* расположен на хромосомном участке 2q32.1 и содержит 4 экзона и 3 интрона. По данным GWAS с шизофренией ассоциирован полиморфизм rs1344706, обусловленный заменой аденина на цитозин (A\C) в интроне 2, при этом с риском шизофрении связан аллель A [5]. Следует отметить, что пока не существует единого мнения о функциональной значимости аллеля A [6]. Данные об его влиянии на экспрессию мРНК или соответствующего белка достаточно фрагментарны. Была обнаружена связь rs1344706 с экспрессией *ZNF804A* в лимфобластоидных клетках, но локусов, регулирующих уровни экспрессии мРНК или белка (eQTL) не выявлено. По мнению [7], аллель A представляет собой индексный аллель в составе гаплотипа

ZNF804A, который влияет на уровень экспрессии белка, при этом регуляция экспрессии имеет место на ранних стадиях развития головного мозга и носит временной характер, что подтверждает исследование этих авторов, показавшее снижение уровня экспрессии *ZNF804A* в эмбриональном мозге во 2-ом триместре беременности. В исследовании [8] обнаружено, что локус rs1344706 влияет на экспрессию мРНК одного из транскриптов *ZNF804A* в мозге эмбриона, которая различалась в образцах аутопсийного мозга больных шизофренией и аффективными расстройствами.

К настоящему времени проведено около трех десятков исследований в европейских и азиатских популяциях для подтверждения ассоциации между полиморфизмом rs1344706 и шизофренией, результаты которых обобщены в мета-анализах [9-11]. Однако следует отметить, что только в нескольких из известных работ размеры выборок больных превышали 1000 человек [12, 13], т.е. могли считаться в достаточной степени репрезентативными. В ряде работ изучали связь полиморфизма *ZNF804A* rs1344706 с заболеваниями, которые имеют общую генетическую основу с шизофренией, в частности, аутизмом [14] и БАР [15-17], синдромом дефицита внимания с гиперактивностью [18]. Интерес представляет и изучение влияния этого полиморфизма на тяжесть течения (выраженность симптомов, когнитивный дефицит) и исходы психических заболеваний [19-21]. Однако, следует отметить, что в указанных выше работах не учитывался такой фактор, как значительная клиническая гетерогенность болезни. Как правило, при характеристике больных не отмечены ее форма и тип течения. Кроме того, во многих случаях имеет место объединение шизофрении и шизоаффективного расстройства, хотя они относятся к разным нозологическим рубрикам в международной классификации болезней.

Цель исследования. В настоящей работе мы впервые провели сравнительное исследование полиморфизма *ZNF804A*

rs1344706 в группах с различными типами течения шизофрении, а также в группе ШАР. В качестве нулевой гипотезы мы предположили, что частота генотипа риска *AA* должна быть выше в группах больных шизофренией, независимо от типа течения и нозологической принадлежности (шизофрения или ШАР). Также было оценено влияние полиморфизма *ZNF804A* rs1344706 на некоторые клинические характеристики в выделенных подгруппах, важные для прогностической оценки тяжести болезни. Соответственно мы предположили, что тяжесть заболевания будет выше у носителей генотипа *AA* по сравнению с носителями генотипа *CC*.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие больные шизофренией и ШАР и контрольная группа психически здоровых испытуемых. Выборка больных состояла из 1458 человек (820 женщин и 638 мужчин, средний возраст $34,1 \pm 13,0$ лет, возраст к началу заболевания $25,8 \pm 10,0$ лет), из них 1284 с диагнозом шизофрения (рубрика F20 по МКБ-10) и 174 с диагнозом ШАР (F25, МКБ-10). Больные шизофренией были разделены на подгруппы по типу течения болезни: непрерывный или приступообразный. В подгруппы включали только тех больных, для которых тип течения был четко установлен, соответственно, в них не вошли пациенты с первым психотическим эпизодом F20.09), с неуточненной формой шизофрении (F20.8), а также больные, для которых лечащий врач определял тип течения как «приступообразный, ближе к непрерывному». В результате было отобрано 246 больных с непрерывным типом течения и 766 с приступообразным течением. Группа психически здоровых людей включала в себя 1051 человека (494 женщин и 557 мужчин, средний возраст $30,9 \pm 12,5$ лет) без наследственной отягощенности по психическим заболеваниям. Все участвующие в исследовании были этнически русскими. Исследование было одобрено Этическим комитетом ФГБНУ НЦПЗ. Все его участники дали информированное согласие на сдачу биологическо-

го материала. Для оценки тяжести заболевания были выбраны два показателя – возраст начала болезни и общий (суммарный) балл по широко используемой при изучении шизофрении шкале PANSS (The Positive and Negative Syndrome Scale), с помощью которой можно оценить выраженность 30 симптомов, условно подразделенных на три подгруппы (позитивные, негативные и общие психопатологические). Каждый симптом оценивается в баллах от 1 до 7. В настоящей работе использовали общий балл, включающий в себя сумму баллов по всем подшкалам PANSS. Этот показатель адекватно отражает тяжесть болезни [22]. Легкая степень соответствует 58 баллам, умеренная – 75, выраженная – 95, резко выраженная – 116. Информация о возрасте к началу заболевания была доступна для 1322 человек (768 женщин и 554 мужчин), оценка симптомов с помощью PANSS была выполнена для 1100 человек (723 женщин и 377 мужчин).

ДНК из венозной крови или слюны выделяли фенол-хлороформным методом. Генотипирование полиморфизма *ZNF804A* rs1344706 проводили по методике, описанной ранее [23]. Использовали олигонуклеотидные праймеры следующей структуры: прямой – 5'-AGTGACCTTGGTGGAAATGG-3' и обратный – 5'-TTTTCAGGTAGGGGATTGG-3'. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в реакционной смеси (объем 15 мкл), содержащей 2,5 мМ хлорида магния, 0,2 мМ каждого dNTP, 0,5 ед. полимеразы Taq, 100 нг геномной ДНК, 10 пкмол каждого из праймеров, 10х буфер для Taq-полимеразы. Сначала проводили денатурацию в течение 5 мин при 94 °C, процесс амплификации включал в себя 35 циклов (94 °C – 1 мин; 56 °C – 30 с; 72 °C – 1 мин). На заключительной стадии образцы прогревали при 72 °C 7 мин. Разделение полученных фрагментов осуществляли в полиакриламидном геле (8%) в течение одного часа при напряжении на электродах 220V. Длина фрагмента, полученного в результате амплификации, составляла

220 пар оснований (п.о.). Рестрикцию проводили с помощью эндонуклеазы *Bse8I* (производитель ООО Сибэнзим, Россия) при 60 °С в течение ночи. После проведения рестрикции на электрофореграмме визуализированы с помощью красителя бромистый этидий фрагменты длиной 114 и 106 п.о., что соответствовало генотипу *AA*; 114, 87, и 19 п.о. – генотип *CC*; 114, 106, 87, и 19 п.о. (гетерозиготный генотип *AC*).

Анализ данных. Различия между частотой генотипов оценивали с помощью точного критерия Фишера. В случае отвержения нулевой гипотезы об отсутствии различий между группами, измеряли силу ассоциации по величине отношение шансов (ОШ) и ее статистическую значимость, исходя из значений 95%-ного доверительного интервала (ДИ 95%). Уровень статистической значимости составлял 0,05. Различия между значениями клинических характеристик оценивали с помощью критерия Стьюдента. Для оценки ассоциации полиморфизма *ZNF804A* rs1344706 с клиническими характеристиками применяли обобщенную линейную модель, поскольку распределение значений всех используемых зависимых переменных соответствовало нормальному (*D'Agostino's K2* тест). В модель в качестве зависимых переменных включали возраст начала болезни или

общий балл по шкале PANSS, в качестве фактора использовали генотип, а возраст и пол вводили в качестве ковариат. Post hoc анализ проводили с учетом поправки Бонферрони.

Результаты и их обсуждение. Распределение генотипов по полиморфизму *ZNF804A* rs1344706 не отклонялось от равновесия Харди-Вайнберга в группах больных ($X^2 = 0,32$; $p > 0,05$) и психически здоровых людей ($X^2 = 0,55$; $p > 0,05$). Частота минорного аллеля (40%) была близка к таковой для европейских популяций (38,4%) по данным проекта 1000 геномов <http://www.internationalgenome.org>. Данные по частоте аллелей и генотипов в контрольной группе, в общей группе больных, в подгруппах с различным типом течения шизофрении, а также в группе ШАР представлены в таблице 1. Обнаружено повышение частоты генотипа риска *AA* в общей группе больных по сравнению с контрольной группой ($p = 0,03$, ОШ 1,31, ДИ 95% 1,03-1,7). При разделении на подгруппы по диагнозу значимое различие сохранялось только в подгруппе больных шизофренией с непрерывным течением ($p = 0,03$, ОШ 1,63, ДИ 95% 1,04-2,6), в подгруппе с приступообразным течением различия были обнаружены на уровне тенденции ($p = 0,07$, ОШ 1,3, ДИ 95% 1,0-1,7).

Таблица 1

Частота аллелей и генотипов *ZNF804A* в группах больных и контроле

Table 1

Allele and genotype frequencies for *ZNF804A* rs1344706 in the groups of patients and controls

Частота, %	Общая группа больных (n=1458)	Шизофрения непрерывная (n=246)	Шизофрения приступообразная (n=766)	ШАР (n=174)	Контрольная группа (n=1051)
частота аллелей и генотипов					
Аллель <i>A</i>	0,63	0,65	0,63	0,61	0,60
Аллель <i>C</i>	0,37	0,35	0,37	0,39	0,40
Генотип <i>AA</i>	40,46 (590)*	41,86 (103)*	39,44 (302)	40,8 (71)	36,82 (387)
Генотип <i>AC</i>	45,75 (667)	46,75 (115)	47,25 (362)	40,23 (70)	46,81 (492)
Генотип <i>CC</i>	13,79 (201)	11,39 (28)	13,31 (102)	18,97 (33)	16,37 (172)

Примечание: В скобках – число обследованных; * Различия в сравнении с контрольной группой значимы при $p = 0,03$

Note: The values in parentheses represent the number of patients; * Differences are significant in comparison with the control group ($p = 0.03$)

Также отмечены на уровне тенденции ($p=0,07$) различия между непрерывной шизофренией и ШАР. Между ШАР и контролем различий в частоте генотипа *AA* не выявлено. Сравнение подгрупп показало, что в подгруппе больных ШАР частота генотипа *AC* снижена, по сравнению как с больными непрерывной шизофренией ($p=0,03$, ОШ 1,7, ДИ 95% 1,1-2,6), так и с больными приступообразной шизофренией ($p=0,04$, ОШ 1,7, ДИ 95% 1,1-2,6).

Анализ клинических характеристик выделенных подгрупп выявил некоторые значимые различия (табл. 2). Группа больных с непрерывным типом течения шизофрении отличалась более ранним возрастом начала по сравнению с группой с приступообразным течением ($p=0,02$) и большей выраженностью симптомов по суммарному баллу PANSS по сравнению с другими группами ($p<0,001$). Выраженность симптомов в группе с приступообразным течением была больше, чем в группе ШАР ($p<0,001$). При включении в обобщенную линейную модель возраста

начала болезни в качестве зависимой переменной, выявлен значимый эффект пола ($p=0,01$). У мужчин начало болезни наблюдалось в среднем на 6 лет раньше, чем у женщин. Напротив, в подгруппе больных ШАР пол не оказывал влияния на возраст манифестации заболевания. Во всех группах отмечен значимый эффект такой ковариаты как возраст больного ($p=0,0001$). Генотип по полиморфизму ZNF804A rs1344706 не был ассоциирован с возрастом манифестации ни в одной из групп (табл. 3). При введении в модель в качестве зависимой переменной общего балла по шкале PANSS не было выявлено эффектов пола и генотипа в группах с разными типами течения шизофрении и ШАР. Однако при объединении всех групп обнаружена ассоциация генотипа с общим баллом PANSS ($p=0,007$). Post hoc анализ показал наибольшую выраженность синдромов в группе носителей генотипа риска *AA*, а наименьшую – у носителей генотипа *CC*, различия были значимы ($p=0,009$) (табл. 4).

Таблица 2

Клинические характеристики шизофрении с непрерывным и приступообразным типом течения и ШАР

Table 2

Clinical characteristics of chronic and attack-like schizophrenia and SAD

Клинические характеристики	Шизофрения непрерывная (n=240)	Шизофрения приступообразная (n=750)	ШАР (n=161)
Возраст начала, годы	22,6 (9,7)*	24,7 (9,2)*	23,7 (7,9)
Общий балл, шкала PANSS	91,6 (22,2)**	82,5 (20,6)**	74,8 (19,6)**

* Различия значимы при $p=0,02$

** Различия значимы при $p=0,001$

* Differences are significant ($p=0.02$)

** Differences are significant ($p=0.001$)

Таблица 3

Возраст начала заболевания у носителей различных генотипов ZNF804A rs1344706 в исследуемых группах больных

Table 3

The age of disease onset in carriers of different ZNF804A rs1344706 genotypes in the studied groups

Генотип	Общая группа (n=1322)	Шизофрения не- прерывная (n=240)	Шизофрения приступообразная (n=750)	ШАР (n=161)
	Возраст начала, годы			
Генотип AA	23,8 (9,6), n=540	21,1 (8,5) n=100	25,3 (9,4) n=299	23,9 (8,2) n=63
Генотип AC	24,2 (9,6), n=596	23,7 (10,4) n=113	24,3 (9,1) n=349	24,4 (8,6) n=65
Генотип CC	23,2 (8,2), n=186	23,2 (9,7) n=27	24,3 (8,8) n=102	21,8 (5,8) n=33

Примечание: Приведены средние значения, с скобках – стандартное отклонение.

Note: Values are expressed as means (SD).

Таблица 4

Выраженность симптомов, оцениваемых с помощью шкалы PANSS (общий балл), у носителей различных генотипов ZNF804A rs1344706

Table 4

Severity of symptoms assessed with PANSS (total score) in carriers of different ZNF804A rs1344706 genotypes

Генотип	Общая группа (n=1100)	Шизофрения не- прерывная (n=205)	Шизофрения приступообразная (n=618)	ШАР (n=147)
	Общий балл, шкала PANSS			
Генотип AA	85,2 (22,1) * n=449	96,8 (22,1) n=83	83,7 (20,7) n=251	74,8 (18,9) n=58
Генотип AC	82,3 (20,6) n=490	86,5 (20,7) n=97	81,9 (20,3) n=281	77,5 (19,9) n=60
Генотип CC	79,4 (22,1) n=161	94,1 (24,1) n=25	80,4 (21,1) n=86	69,3 (20,1) n=29

Примечание: Приведены средние значения, с скобках – стандартное отклонение; * Различия между генотипами AA и CC значимы (p=0,009).

Note: Values are expressed as means (SD); * Difference between AA and CC genotypes is significant (p=0.009)

Таким образом, выдвинутое нами предположение о том, что ассоциация полиморфизма ZNF804A rs1344706 с шизофренией не зависит от клинической гетерогенности этого заболевания, подтвердилось лишь отчасти. Можно с определенной долей уверенности говорить, что генотип AA связан с риском шизофрении в группах с разными типами ее течения. Относитель-

но ассоциации ZNF804A rs1344706 с ШАР сделать однозначное заключение на данном этапе исследований не представляется возможным. С одной стороны частота генотипа AA в группе ШАР не отличалась от контрольной группы, т.е. ассоциация отсутствовала. С другой стороны, при объединении групп с шизофренией и ШАР, как это имело место в некоторых публика-

циях [20, 24, 25], отмечено значимое повышение частоты генотипа *AA* по сравнению с контролем. К сожалению, поиск ассоциации этого полиморфизма с ШАР ранее не проводился, поэтому невозможно сравнить полученные нами результаты с известными данными. В то же время следует отметить, что в психиатрической литературе до сих пор нет единого мнения о том, является ли ШАР нозологически самостоятельным заболеванием, или входит в спектр шизофрении – БАР [26, 27]. Поскольку ранее сообщалось об ассоциации между ZNF804A rs1344706 и БАР, возможно априори считать, что этот полиморфизм связан и с ШАР.

Обнаруженная в настоящей работе ассоциация между генотипом риска *AA* и выраженностью симптомов шизофрении находится в соответствии с литературными данными. Так, в работе [28] в группе носителей генотипа *AA* тяжесть позитивных симптомов, которые оценивались по шкале позитивных симптомов (SAPS), была значимо выше, чем у больных шизофренией с генотипом *CC*. Сходные результаты были получены и при использовании шкалы PANSS, однако различия между генотипами наблюдались на уровне тенденции [29]. Размер выборок больных в указанных публикациях не превышал 300 человек. В исследовании, которое было близким по составу групп к нашей работе, связь между rs1344706 и симптомами психотического расстройства определяли в группах больных шизофренией ($n=568$), ШАР ($n=127$) и БАР ($n=125$), при этом использовали факторный анализ, в результате которого выявлены такие факторы как мания, депрессия, позитивные, негативные, дезорганизационные симптомы [20]. У носителей генотипа *AA* отмечена большая выраженность симптомов мании в общей группе, однако авторы не указывают, сохранялась ли эта связь в изучаемых группах.

Заключение. Таким образом, наши результаты подтверждают данные GWAS шизофрении, о том, что полиморфизм ZNF804A rs1344706 ассоциирован с забо-

леванием и его тяжестью, а вариантом риска является генотип *AA*. Полученные данные об отсутствии ассоциации между rs1344706 и ШАР, можно рассматривать как предварительные, тем не менее, они указывают на необходимость дальнейших исследований в этом направлении на больших группах больных, включающих в себя не только ШАР, но и близкий к нему по синдромальной структуре БАР с психотическими симптомами.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Replicated association between the European GWAS locus rs10503253 at CSMD1 and schizophrenia in Asian population / W. Liu [et al.] // Neuroscience Letters. 2017. N 647. P. 122-128. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.03.039
2. Genetic association and meta-analysis of a schizophrenia GWAS variant rs10489202 in East Asian populations / Y. Yang [et al.] // Transl Psychiatry. 2018. Vol. 8(1). P. 144. DOI: 10.1038/s41398-018-0211-x
3. The schizophrenia risk gene ZNF804A: clinical associations, biological mechanisms and neuronal functions / H. Chang [et al.] // Molecular Psychiatry. 2017. Vol. 22(7). P. 944-953. DOI: <https://doi.org/10.1038/mp.2017.19>
4. Psychosis Risk Candidate ZNF804A Localizes to Synapses and Regulates Neurite Formation and Dendritic Spine Structure / P.J.M. Deans [et al.] // Biology Psychiatry. 2017. Vol. 82(1). P. 49-61. DOI: 10.1016/j.biopsych.2016.08.038
5. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up / M.C. O'Donovan [et al.] // Nature Genetics. 2008. Vol. 40(9). P. 1053-5. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.201>
6. Hess J.L., Glatt S.J. How might ZNF804A variants influence risk for schizophrenia and bipolar disorder? A literature review, synthesis, and bioinformatic analysis // Neuropsychiatric Genetics. 2014. N 165. P. 28-40. DOI:10.1002/ajmg.b.32207
7. Hill M.J. Bray N.J. Evidence that schizophrenia risk variation in the ZNF804A gene exerts its effects during fetal brain development // American Journal of Psychiatry. 2012. N 169. P. 1301-8. DOI: 10.1176/appi.ajp.2012.11121845

8. Expression of ZNF804A in human brain and alterations in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder: a novel transcript fetally regulated by the psychosis risk variant rs1344706 / R. Tao [et al.] // *JAMA Psychiatry*. 2014. Vol. 71(10). P. 1112-20. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2014.1079
9. Association between rs1344706 of ZNF804A and schizophrenia: a meta-analysis / M. Zhu [et al.] // *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2014. Vol. 12(6). P. 292-6. DOI: 10.1016/j.gpb.2014.10.005
10. Association between variants of zinc finger genes and psychiatric disorders: systematic review and meta-analysis / Y. Sun [et al.] // *Schizophrenia Research*. 2015. Vol. 162(1-3). P. 124-37. DOI: 10.1016/j.schres.2015.01.036
11. Analyzing a single nucleotide polymorphism in schizophrenia: a meta-analysis approach / O. Falola [et al.] // *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2017. N 13. P. 2243-2250. DOI: 10.2147/NDT.S111900
12. Replication of GWAS identified miR-137 and its target gene polymorphisms in Schizophrenia of South Indian population and meta-analysis with Psychiatric Genomics Consortium / R. Sudesh [et al.] // *Schizophrenia Research*. 2018. N 199. P. 189-194. DOI: 10.1016/j.schres.2018.03.028
13. Genetic analysis of common variants in the ZNF804A gene with schizophrenia and major depressive disorder / Q. Wang [et al.] // *Psychiatric genetics*. 2018. Vol. 28(1). P. 1-7. DOI: 10.1097/YPG.0000000000000185
14. Family-based association study of ZNF804A polymorphisms and autism in a Han Chinese population / Z. Wang [et al.] // *BMC Psychiatry*. 2019. Vol. 19(1). P. 159. DOI: 10.1186/s12888-019-2144-1
15. ZNF804A Genetic Variation Confers Risk to Bipolar Disorder / C. Zhang [et al.] // *Molecular Neurobiology*. 2016. Vol. 53(5). P. 2936-2943. DOI: 10.1007/s12035-015-9193-3
16. Genetic association of rs1344706 in ZNF804A with bipolar disorder and schizophrenia susceptibility in Chinese populations [Электронный ресурс] / S. Rao [et al.] // *Scientific Reports*. 2017. N 7. Art.e41140. URL: <https://doi.org/10.1038/srep41140> (дата обращения: 20.06.2019)
17. The schizophrenia susceptibility gene ZNF804A confers risk of major mood disorders / J. Ou [et al.] // *Biological Psychiatry*. 2017. Vol. 18(7). P. 557-562. DOI: 10.1080/15622975.2016.1252466
18. Investigation of the ZNF804A gene polymorphism with genetic risk for bipolar disorder in attention deficit hyperactivity disorder / X. Xu [et al.] // *BMC Res Notes*. 2013. N 6. P. 29. DOI: 10.1186/1756-0500-6-29
19. Influence of ZNF804a on brain structure volumes and symptom severity in individuals with schizophrenia / T.H. Wassink [et al.] // *Archives of General Psychiatry*. 2012. N 69. P. 885-92. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.2116
20. Clinical symptomatology and the psychosis risk gene ZNF804A / E. Cummings [et al.] // *Schizophrenia Research*. 2010. N 122. P. 273-5. DOI: 10.1016/j.schres.2010.05.022
21. Associations between the schizophrenia susceptibility gene ZNF804A and clinical outcomes in psychosis / A. Wickramasinghe [et al.] // *Translational Psychiatry*. 2015. N 15. P. 698. DOI: 10.1038/tp.2015.198
22. What does the PANSS mean? / S. Leucht [et al.] // *Schizophrenia Research*. 2005. Vol. 79(2-3). P. 231-8. DOI: 10.1016/j.schres.2005.04.008
23. A polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method for screening ZNF804A gene polymorphism (rs1344706) in patients with schizophrenia: a significant association / A. Sazci [et al.] // *Genet Test Molecular Biomarkers*. 2012. Vol. 16(3). P. 157-61. DOI: 10.1089/gtmb.2011.0142
24. Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder / H.J. Williams [et al.] // *Molecular Psychiatry*. 2011. Vol. 16(4). P. 429-41. DOI: 10.1038/mp.2010.36
25. Replication of association between schizophrenia and ZNF804A in the Irish Case-Control Study of Schizophrenia sample / B. Riley [et al.] // *Molecular Psychiatry*. 2010. N. 15. P. 29-37. DOI: <https://doi.org/10.1038/mp.2009.109>
26. Characteristics of patients diagnosed with schizoaffective disorder compared with schizophrenia and bipolar disorder / T. Pagel [et al.] // *Bipolar Disorders*. 2013. Vol. 15(3). P. 229-39. DOI: 10.1111/bdi.12057
27. A comparison of schizophrenia, schizoaffective disorder, and bipolar disorder: Results from the Second Australian national psychosis survey / S.G. Mancuso [et al.] // *Affect Disorders*. 2015. N. 172. P. 30-7. DOI: 10.1016/j.jad.2014.09.035

28. The schizophrenia risk gene ZNF804A influences the antipsychotic response of positive schizophrenia symptoms / R. Mössner [et al.] // *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. 2012. Vol. 262(3). P. 193-7. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00406-011-0235-1>

29. Psychosis susceptibility gene ZNF804A and cognitive performance in schizophrenia / J.T. Walters [et al.] // *Archives of General Psychiatry*. 2010. N. 67. P. 692-700. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.81

References

1. Liu W, Liu F, Xu X, et al. Replicated association between the European GWAS locus rs10503253 at CSMD1 and schizophrenia in Asian population. *Neuroscience Letters*. 2017;647:122-128. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.03.039

2. Yang Y, Wang L, Li L, et al. Genetic association and meta-analysis of a schizophrenia GWAS variant rs10489202 in East Asian populations. *Transl Psychiatry*. 2018;8(1):144. DOI: 10.1038/s41398-018-0211-x

3. Chang H, Xiao X, Li M, et al. The schizophrenia risk gene ZNF804A: clinical associations, biological mechanisms and neuronal functions. *Mol Psychiatry*. 2017;22(7):944-953. DOI: <https://doi.org/10.1038/mp.2017.19>

4. Deans PJM, Raval P, Sellers KJ, et al. Psychosis Risk Candidate ZNF804A Localizes to Synapses and Regulates Neurite Formation and Dendritic Spine Structure. *Biol Psychiatry*. 2017;82(1):49-61. DOI: 10.1016/j.biopsych.2016.08.038

5. O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, et al. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nature Genetics*. 2008; 40(9):1053-1055. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.201>

6. Hess JL, Glatt SJ. How might ZNF804A variants influence risk for schizophrenia and bipolar disorder? A literature review, synthesis, and bioinformatic analysis. *Neuropsychiatric Genetics*. 2014;165:28-40. DOI:10.1002/ajmg.b.32207

7. Hill MJ, Bray NJ. Evidence that schizophrenia risk variation in the ZNF804A gene exerts its effects during fetal brain development. *American Journal of Psychiatry*. 2012;169:1301-1308. DOI: 10.1176/appi.ajp.2012.11121845

8. Tao R, Cousijn H, Jaffe AE, et al. Expression of ZNF804A in human brain and altera-

tions in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder: a novel transcript fetally regulated by the psychosis risk variant rs1344706. *JAMA Psychiatry*. 2014;71(10):1112-1120. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2014.1079

9. Zhu M, Liu T, Zhang J, et al. Association between rs1344706 of ZNF804A and schizophrenia: a meta-analysis. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2014; 12(6):292-296. DOI: 10.1016/j.gpb.2014.10.005

10. Sun Y, Hu D, Liang J, et al. Association between variants of zinc finger genes and psychiatric disorders: systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res*. 2015;162(1-3):124-137. DOI: 10.1016/j.schres.2015.01.036

11. Falola O, Osamor VC, Adebisi M, et al. Analyzing a single nucleotide polymorphism in schizophrenia: a meta-analysis approach. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2017;13:2243-2250. DOI: 10.2147/NDT.S111900

12. Sudesh R, Thalamuthu A, John S, et al. Replication of GWAS identified miR-137 and its target gene polymorphisms in Schizophrenia of South Indian population and meta-analysis with Psychiatric Genomics Consortium. *Schizophr Res*. 2018;199:189-194. DOI: 10.1016/j.schres.2018.03.028

13. Wang Q, Ji W, He K, et al. Genetic analysis of common variants in the ZNF804A gene with schizophrenia and major depressive disorder. *Psychiatr Genet*. 2018;28(1):1-7. DOI: 10.1097/YPG.0000000000000185

14. Wang Z, Zhang T, Liu J, et al. Family-based association study of ZNF804A polymorphisms and autism in a Han Chinese population. *BMC Psychiatry*. 2019;19(1):159. DOI: 10.1186/s12888-019-2144-1

15. Zhang C, Wang Z, Hong W, et al. ZNF804A Genetic Variation Confers Risk to Bipolar Disorder. *Mol. Neurobiol*. 2016;53(5):2936-2943. DOI: 10.1007/s12035-015-9193-3

16. Rao S, Yao Y, Ryan J, et al. Genetic association of rs1344706 in ZNF804A with bipolar disorder and schizophrenia susceptibility in Chinese populations. *Scientific Reports*. [Internet]. 2017 Jan 25 [cited 2019 June 20];7. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep41140>

17. Ou J, Li M, Xiao X, et al. The schizophrenia susceptibility gene ZNF804A confers risk of major mood disorders. *Biol Psychiatry*. 2017;18(7):557-562. DOI: 10.1080/15622975.2016.1252466

18. Xu X, Breen G, Luo L, et al. Investigation of the ZNF804A gene polymorphism with genetic risk for bipolar disorder in attention deficit hyperactivity disorder. BMC Res Notes. 2013;6:29. DOI: 10.1186/1756-0500-6-29

19. Wassink TH, Epping EA, Rudd D, et al. Influence of ZNF804a on brain structure volumes and symptom severity in individuals with schizophrenia. Archives of General Psychiatry. 2012;69:885-892. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.2116

20. Cummings E, Donohoe G, McDonald C, et al. Clinical symptomatology and the psychosis risk gene ZNF804A. Schizophrenia Research. 2010;122:273-5. DOI: 10.1016/j.schres.2010.05.022

21. Wickramasinghe A, Tulloch AD, Hayes RD, et al. Associations between the schizophrenia susceptibility gene ZNF804A and clinical outcomes in psychosis. Translational Psychiatry. 2015;15:698. DOI: 10.1038/tp.2015.198

22. Leucht S, Kane J.M, Kissling W, et al. What does the PANSS mean? Schizophr Res. 2005;79(2-3):231-238. DOI: 10.1016/j.schres.2005.04.008

23. Sazci A, Ozel M.D, Ergul E, et al. A polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method for screening ZNF804A gene polymorphism (rs1344706) in patients with schizophrenia: a significant association. Genet Test Mol Biomarkers. 2012;16(3):157-161. DOI: 10.1089/gtmb.2011.0142

24. Williams H.J, Norton N, Dwyer S, et al. Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder. Mol Psychiatry. 2011;16(4):429-441. DOI: 10.1038/mp.2010.36

25. Riley B, Thiselton D, Maher BS, et al. Replication of association between schizophrenia and ZNF804A in the Irish Case-Control Study of Schizophrenia sample. Mol Psychiatry. 2010;15:29-37. DOI: https://doi.org/10.1038/mp.2009.109

26. Pagel T, Baldessarini RJ, Franklin J, et al. Characteristics of patients diagnosed with schizoaffective disorder compared with schizophrenia and bipolar disorder. Bipolar Disord. 2013;15(3):229-239. DOI: 10.1111/bdi.12057

27. Mancuso SG, Morgan VA, Mitchell PB, et al. A comparison of schizophrenia, schizoaffective disorder, and bipolar disorder:

Results from the Second Australian national psychosis survey. J Affect Disord. 2015;172:30-7. DOI: 10.1016/j.jad.2014.09.035

28. Mössner R, Schuhmacher A, Wagner M, et al. The schizophrenia risk gene ZNF804A influences the antipsychotic response of positive schizophrenia symptoms. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2012;262(3):193-197. DOI: https://doi.org/10.1007/s00406-011-0235-1

29. Walters JT, Corvin A, Owen MJ, et al. Psychosis susceptibility gene ZNF804A and cognitive performance in schizophrenia. Archives of General Psychiatry. 2010;67:692-700. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.81

Статья поступила в редакцию 25 июня 2019 г.
Поступила после доработки 30 сентября 2019 г.
Принята к печати 10 октября 2019 г.

Received 25 June 2019

Revised 30 September 2019

Accepted 10 October 2019

Информация об авторах

Татьяна Викторовна Лежейко, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической генетики, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», E-mail: lezheiko@list.ru, ORCID: 0000-0002-7873-2039, ResearcherID: J-6388-2017.

Марина Владимировна Габаева, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клинической генетики, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», E-mail: gabaeva@yandex.ru, ORCID 0000-0002-4480-7661, Researcher ID: J-6442-2017.

Екатерина Владимировна Крикова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической генетики, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», E-mail: katya.krikova83@mail.ru, ORCID: 0000-0001-6241-9112, Researcher ID: S-6215-2018.

Вера Евгеньевна Голимбет, доктор биологических наук, профессор, зав. лабораторией клинической генетики, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», E-mail: golimbet@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9960-7114, Researcher ID: E-2328-2016.

Information about the authors

Tatyana V. Lezheiko, PhD, Senior Researcher, Clinical Genetics Laboratory, Mental Health Research Center, E-mail: lezheiko@list.ru, ORCID: 0000-0002-7873-2039, ResearcherID: J-6388-2017.

Marina V. Gabaeva, PhD, Researcher, Clinical Genetics Laboratory, Mental Health Research Center, E-mail: gabaeva@yandex.ru, ORCID 0000-0002-4480-7661, Researcher ID: J-6442-2017.

Ekaterina V. Krikova, PhD, Senior Researcher, Clinical Genetics Laboratory, Mental Health Research Center, E-mail: katya.krikova83@mail.ru,

ORCID: 0000-0001-6241-9112, Researcher ID: S-6215-2018.

Vera E. Golimbet, PhD, DrSci, professor, Head of Clinical Genetics Laboratory, Mental Health Research Center, E-mail: golimbet@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9960-7114, Researcher ID: E-2328-2016.



УДК616.346.2-002

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

Д.И. Свинарева

Вклад ген-генных взаимодействий полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ в подверженность к первичной открытоугольной глаукоме у мужчин

Некоммерческое партнерство «Офтальмологический Центр «Поколение»,
мкр. Буденного, д. 16, г. Старый Оскол, 309502, Российская Федерация
Автор для переписки: Д.И. Свинарева (din77din@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) относится к одной из самых распространенных и тяжелых форм заболеваний глаз, приводящих к слепоте и инвалидности. Глаукома у мужчин встречается в более чем половине случаев (65%). **Цель исследования:** Изучить вклад ген-генных взаимодействий полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ в подверженность к первичной открытоугольной глаукоме у мужчин. **Материалы и методы:** Выборка для исследования включала 236 мужчин с ПОУГ (диагноз был подтвержден клиническими, инструментальными и лабораторными методами обследования) и 176 мужчин контрольной группы, не имеющих данного заболевания. Проведено молекулярно-генетическое исследование 8 полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ (*MMP*). Изучение SNP×SNP взаимодействий, ассоциированных с развитием ПОУГ, проводилось с использованием программы APSampler. **Результаты:** Установлено 16 моделей SNP×SNP взаимодействий генов *MMP* (4 двухлокусных, 7 трехлокусных и 5 четырехлокусных) определяющих подверженность к развитию ПОУГ у мужчин ($p_{perm} < 0,05$), среди которых 6 моделей являются протективными и 10 моделей – факторы риска развития ПОУГ ($OR = 1,80-9,26$). В состав моделей входят все 8 изучаемых нами полиморфных локусов *MMP*: rs3918249, rs3787268, rs2250889, rs17577, rs17576, rs3918242 гена *MMP-9*, rs1799750 гена *MMP-1*, rs679620 гена *MMP-3*. При этом два полиморфизма (rs1799750 *MMP-1* и rs2250889 *MMP-9*) включены в наибольшее количество моделей (10 и 8 моделей соответственно). Полиморфные локусы rs1799750 и rs2250889 имеют важное функциональное значение в организме – проявляют эпигенетические эффекты, ассоциированы с уровнем экспрессии (*cis*-eQTL) генов *MMP1*, *MMP10*, *WTAPP1*, *PLTP*, *PCIF1*, *NEURL2* и уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *SLC12A5*, определяют несинонимическую замену в гене *MMP-9* (p.Arg574Pro). **Заключение:** Межгенные взаимодействия полиморфных локусов *MMP* ассоциированы с формированием ПОУГ у мужчин.

Ключевые слова: матриксные металлопротеиназы; SNP×SNP взаимодействия; ПОУГ; полиморфизм; мужчины

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

Для цитирования: Свинарева ДИ. Вклад ген-генных взаимодействий полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ в подверженность к первич-

ной открытоугольной глаукоме у мужчин. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):63-77. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-6

Dina I. Svinareva

The contribution of gene-gene interactions of polymorphic loci of matrix metalloproteinases to susceptibility to primary open-angle glaucoma in men

Ophthalmological Center «Generation»,
16 Budyonny Micr., Stary Oskol, 309502, Russia
Corresponding author: Dina I. Svinareva (din77din@mail.ru)

Abstract

Background: Primary open-angle glaucoma (POAG) is a serious form of eye diseases leading to blindness and disability. Glaucoma in men occurs in more than half of cases (65%). **The aim of the study:** To study the contribution of gene-gene interactions of polymorphic loci of matrix metalloproteinases to susceptibility to primary open-angle glaucoma in men. **Materials and methods:** The study included 236 men with POAG (the diagnosis was confirmed by clinical, instrumental and laboratory examination methods) and 176 men of the control group without this disease. A molecular genetic study of 8 polymorphic loci of matrix metalloproteinase (MMP) genes was performed. The study of SNP×SNP interactions associated with the POAG development was conducted using the Arsamper program. **Results:** 16 models of SNP × SNP interactions of MMP genes (4 two-locus, 7 three-locus and 5 four-locus) that determine susceptibility to the development of POAG in men ($p_{perm} < 0.05$) were identified, among which 6 models are protective and 10 models are risk factors for the development of POAG (OR = 1.80-9.26). The models include all 8 MMP polymorphic loci studied: rs3918249, rs3787268, rs2250889, rs17577, rs17576, rs3918242 of the MMP-9 gene, rs1799750 of the MMP-1 gene, and rs679620 of the MMP-3 gene. Two polymorphisms (rs1799750 MMP-1 and rs2250889 MMP-9) are included in the largest number of models (10 and 8 models, respectively). The polymorphic rs1799750 and rs2250889 loci are of great functional importance in the body – they exhibit epigenetic effects associated with the expression level (cis-eQTL) of the MMP1, MMP10, WTAPP1, PLTP, PCIF1, NEURL2 genes and the level of alternative splicing of the SLC12A gene transcript, they determine the non-syn5 gene MMP-9 (p.Arg574Pro). **Conclusion:** Intergenic interactions of polymorphic MMP loci are associated with the POAG formation in men.

Keywords: matrix metalloproteinases; SNP×SNP interactions; POAG; polymorphism; men

Acknowledgements: This work was financially supported by a grant from the President of the Russian Federation for leading scientific schools of the Russian Federation (project NSH-2609.2020.7).

For citation: Svinareva DI. The contribution of gene-gene interactions of polymorphic loci of matrix metalloproteinases to susceptibility to primary open-angle glaucoma in men. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):63-77. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-6

Введение. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) относится к одной из самых распространенных и тяжелых форм

заболеваний глаз, приводящих к слепоте и инвалидности. [1]. Среди всех видов глауком на долю ПОУГ приходится от 72,3 до

96,1% [2]. ПОУГ – хроническое заболевание, характеризующееся прогрессирующей и необратимой дегенерацией клеток ганглиозного слоя, входящего в состав зрительного нерва и слоя нервных волокон сетчатой оболочки [3]. Следует отметить, что мужской пол является фактором риска развития глаукомы – данное заболевание встречается у мужчин в 65% [4]. Особенностью ПОУГ является бессимптомное течение и довольно сложная и трудоемкая диагностика на начальных стадиях, поэтому выявление данного заболевания в большинстве случаев происходит на стадиях, сопровождающихся уже необратимыми изменениями зрительного нерва [5]. ПОУГ – одна из главных причин слабовидения и слепоты среди лиц трудоспособного возраста в развитых странах [6].

Установлено, что в формировании ПОУГ важное значение имеют матриксные металлопротеиназы (далее ММР). ММР вовлечены в патогенез различных типов глаукомы [7-10], их содержание существенно выше в глаукоматозных глазах [11]. Матриксные металлопротеиназы участвуют в регуляции оттока внутриглазной жидкости [12]. По сравнению со здоровыми глазами, содержание ММР-2 и -9 существенно выше в глаукоматозных глазах. Эти изменения были обнаружены в водянистой влаге, радужно-роговичный углу и теноновой капсуле у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, первичной закрытоугольной глаукомой и эксфолиативной глаукоме [13, 14]. Повышение содержания металлопротеиназы-9 как в системном кровотоке, так и местно также может свидетельствовать о нарушении процессов клеточного ремоделирования в структурах глаза, что способствует формированию аутоиммунного воспаления с деструкцией тканей [15]. Наибольшее значение в формировании ПОУГ имеют ММР-1 и ММР -9 [16, 17].

Генетические исследования ПОУГ активно проводятся как зарубежными научными коллективами, так и российскими учеными [18-21]. Исследуется вовле-

ченность генов матриксных металлопротеиназ в формирование глаукомы. Так, в проведенном Golubnitschaja O. et. al. исследовании установлено, что экспрессия генов тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ ММР-9 и ММР-14 была повышена у пациентов с нормотензивной глаукомой по сравнению с контрольной группой [22]. Aung T et. al. изучали полиморфизм rs2664538 гена ММР- 9 у 217 пациентов с ПЗУГ и 83 индивидуумов контрольной группы в Китае [23]. Markiewicz L. et. al. провели анализ ассоциаций полиморфных локусов -1607 1G / 2G ММР-1, -1562 C / T ММР-9, -82 A / G ММР-12, C / T IL-1 β -511 и 372 T / C TIMP1 с возникновением ПОУГ и исследовали их влияние на основные клинические признаки глаукомы [24]. В результате исследования, проведенного Micheal S. et. al. обнаружено, что у мужчин фактором риска ПЗУГ является полиморфизм rs17576 (с.836A>G) гена ММР-9, который у женщин не играл существенной роли [25]. Следует отметить, что в Российской Федерации изучение роли полиморфизма генов ММР в развитии ПОУГ до последнего времени не проводилось.

Цель исследования. Изучить вклад ген-генных взаимодействий полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ в подверженность к первичной открытоугольной глаукомы у мужчин.

Материалы и методы исследования. Выборка для исследования включала 236 мужчин с ПОУГ (диагноз был подтвержден клиническими, инструментальными и лабораторными методами обследования) и 176 мужчин контрольной группы, не имеющих данного заболевания. Все мужчины, включенные в данное исследование, являлись уроженцами Центрально-Черноземья Российской Федерации (Курская, Белгородская, Воронежская, Липецкая области), имели русскую национальность и не находились в родстве друг с другом [18, 19]. Диагноз глаукома был поставлен согласно следующих диагностических критериев: повышение ВГД, вид глаукоматозной экскавации ДЗН при оф-

тальмоскопии, изменения периферического поля зрения, специфичные для глаукомы. Обследование обеих групп было проведено в офтальмологическом отделении ОГБУЗ Белгородской областной клинической больницы им. Святителя Иоасафа (Белгород) и офтальмологическом центре «Покولение» (Старый Оскол).

Группа контроля была сформирована из индивидуумов мужского пола, не имеющих острых и хронических заболеваний глаз, у которых отсутствовали какие-либо признаки глаукомы – ВГД было ниже 21 при пневматической тонометрии, отсутствовала глаукоматозная экскавация диска зрительного нерва и периферическое поле зрения было в пределах нормы. Также они не имели тяжелых соматических патологий, в том числе приводящих к поражениям глаз.

Все исследования пациентам проводились только после их информированного согласия на использование персональных и лечебно-диагностических данных для научно-исследовательских целей, полученных в ходе госпитализации.

Средний возраст пациентов с ПОУГ составил $70,5 \pm 4,8$ лет, контрольной группы – $69,7 \pm 5,2$ лет ($p > 0,05$). Более половины больных ПОУГ (52,6%) имели сопутствующие заболевания других органов и систем, в группе контроля – 48,1%. При оценке индекса массы тела больные ПОУГ не отличались от группы контроля: у больных ПОУГ – $27,99 \pm 4,82$, варьировал от 16,4 до 47,3, у пациентов из контрольной группы – $28,21 \pm 5,70$, варьировал от 17,93 до 51,4 ($p = 0,59$).

Для молекулярно-генетического исследования были отобраны 8 полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ rs3918249, rs3787268, rs2250889, rs17577, rs17576, rs3918242 гена *MMP-9*, rs1799750 гена *MMP-1*, rs679620 гена *MMP-3* с учетом их значимого влияния на экспрессию и регуляторный потенциал генов [26].

Анализ полиморфных маркеров осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК на амплифи-

каторе CFX96. Генотипирование проводилось в режиме реального времени методом TaqMan зондов. Использовались наборы реагентов для генотипирования полиморфных локусов rs3918249, rs3787268, rs2250889, rs17577, rs17576, rs3918242 гена *MMP-9*, rs1799750 гена *MMP-1*, rs679620 гена *MMP-3* с соответствующими олигонуклеотидными праймерами и зондами, синтезированными ООО «ТестГен» (Ульяновск).

Анализ SNP×SNP взаимодействий, определяющих подверженность к развитию ПОУГ у мужчин, проводился методом Монте-Карло марковских цепей и байесовской непараметрической статистики с использованием программного обеспечения APSampler (<http://sources.redhat.com/cygwin>). Для коррекции на множественные сравнения использовался пермутационный тест. Характер ассоциации, выявленных межгенных взаимодействий, оценивался с помощью показателя отношения шансов (OR) и его 95% доверительного интервала (95%CI) [27].

Функциональное значение исследуемых полиморфных локусов генов *MMP* изучалось с помощью программ HaploReg (v4.1) (<http://archive.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) (оценивались эпигенетические эффекты полиморфных локусов), GTExportal (<http://www.gtexportal.org/>) (изучалась связь полиморфизма генов с экспрессией генов (cis-eQTL)), PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/index.shtml>) (выявлялась связь с аминокислотными заменами в кодируемом полипептиде и оценивался их предикторный потенциал).

Результаты и их обсуждение. Результаты популяционно-генетического анализа полученного нами распределения генотипов *MMP* в исследуемых выборках мужчин, больных ПОУГ и контрольной группы, представлены в таблице 1. Следует отметить, что по всем рассмотренным локусам генов *MMP* наблюдаемая гетерозиготность (H_o) соответствует теоретически ожидаемой гетерозиготности (H_e) (наблюдаемое распределение генотипов

достоверно не отличается от ожидаемого распределения согласно равновесия Харди-Вайнберга) ($>0,05$).

С использованием биоинформатического подхода (программа APSampler) определены комбинации генетических вариантов полиморфных локусов генов *MMP*, вовлеченных в формирование ПОУГ у мужчин (табл. 2). Полученные нами данные свидетельствуют о статистических

значимых ассоциациях 16 моделей SNP×SNP взаимодействий генов *MMP* разного уровня (4 двухлокусных, 7 трехлокусных и 5 четырехлокусных моделей) с развитием ПОУГ у мужчин ($p_{perm}<0,05$). При этом, среди 16 статистически значимых моделей, связанных с формированием ПОУГ у мужчин, 6 моделей являются протективными и 10 моделей – факторы риска развития ПОУГ ($OR=1,80-9,26$).

Таблица 1

Анализ распределения полиморфных маркеров генов *MMP* среди мужчин, больных ПОУГ и в контрольной группе

Table 1

Analysis of the distribution of polymorphic markers of *MMP* genes in men with POAG and in the control group

Полиморфный локус	Показатели	Больные ПОУГ (n=236)	Группа контроля (n=176)
rs3918249 <i>MMP-9</i>	Генотипы*	98/110/32	65/78/33
	Ho/He (P_{HWE})	0,46/0,46 ($>0,05$)	0,44/0,48 ($>0,05$)
rs3787268 <i>MMP-9</i>	Генотипы*	163/72/9	110/55/9
	Ho/He (P_{HWE})	0,30/0,30 ($>0,05$)	0,32/0,33 ($>0,05$)
rs2250889 <i>MMP-9</i>	Генотипы*	189/48/6	147/24/3
	Ho/He (P_{HWE})	0,20/0,22 ($>0,05$)	0,14/0,16 ($>0,05$)
rs17577 <i>MMP-9</i>	Генотипы*	163/76/6	114/52/4
	Ho/He (P_{HWE})	0,31/0,29 ($>0,05$)	0,31/0,29 ($>0,05$)
rs17576 <i>MMP-9</i>	Генотипы*	100/107/31	59/88/26
	Ho/He (P_{HWE})	0,44/0,45 ($>0,05$)	0,50/0,48 ($>0,05$)
rs3918242 <i>MMP-9</i>	Генотипы*	167/65/6	126/42/6
	Ho/He (P_{HWE})	0,27/0,27 ($>0,05$)	0,24/0,26 ($>0,05$)
rs1799750 <i>MMP-1</i>	Генотипы*	42/123/73	45/81/48
	Ho/He (P_{HWE})	0,51/0,49 ($>0,05$)	0,46/0,49 ($>0,05$)
rs679620 <i>MMP-3</i>	Генотипы*	71/116/55	49/80/46
	Ho/He (P_{HWE})	0,47/0,49 ($>0,05$)	0,45/0,49 ($>0,05$)

Примечание: * – указано количество гомозигот по частому аллелю/гетерозигот/ гомозигот по редкому аллелю; Ho – наблюдаемая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность.

Note: * – the number of homozygotes for the frequent allele / heterozygotes / homozygotes for the rare allele is indicated; Ho – observed heterozygosity; He – the expected heterozygosity.

Обращает на себя внимание факт того, что в состав моделей межгенных взаимодействий, определяющих подверженность к ПОУГ у мужчин, входят все 8 изучаемых нами полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ: rs3918249, rs3787268, rs2250889, rs17577, rs17576, rs3918242 гена *MMP-9*, rs1799750 гена

MMP-1, rs679620 гена *MMP-3*. Так же следует отметить, что в состав наибольшего количества моделей ген-генных взаимодействий, ассоциированных с формированием ПОУГ, входят полиморфные локусы rs1799750 *MMP-1* (10 моделей) и rs2250889 *MMP-9* (8 моделей).

Установлено, что SNP×SNP взаимодействие rs2250889 *MMP-9* × rs17576 *MMP-9* является основой 6 моделей, а rs3918249 *MMP-9* × rs1799750 *MMP-1* входит в состав 5 «значимых» моделей, связанных с формированием ПОУГ у мужчин.

На следующем этапе нашей работы были изучены эпигенетические эффекты наиболее ПОУГ-значимых полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ (rs1799750 *MMP-1* и rs2250889 *MMP-9*). С использованием программы HaploReg (v4.1) установлено, что rs1799750, расположенный в интроне гена *MMP-1*, имеет выраженный регуляторный потенциал: он находится в области регуляторных мотивов ДНК, взаимодействующих с регуляторными белками CFOS и GATA2, регионе гиперчувствительности к ДНКазе-1 в пяти клеточных культурах и тканях (в том числе в H1 Derived Mesenchymal Stem Cells, Fibroblast Primary Cells и др.), регионе модифицированных гистонов (H3K4me1, H3K9ac), маркирующих энхансеры в шести различных культурах клеток, тканях и органах, находится в области сайтов связывания с 21 транскрипционным фактором (AP-1_disc8, CHX10, DMRT2, Dbx1, En-1_3, Ets_disc1, Evi-1_4, GATA_known1, HMG-IY_1, Hlx1, Hoxb4, Msx-1_2, Ncx_2, Nkx6-1_2, PLZF, Pax-4_2, Pax-6_3, Pou2f2_known4, Pou3f2_4, Pou3f4, Pou6f1_2). Наряду с этим, согласно данным, представленным в онлайн базе GTExportal, полиморфизм rs1799750 ассоциирован с уровнем экспрессии трех генов (*MMP1*, *MMP10*, *WTAPP1*) в различных органах и тканях ($p_{FDR} \leq 0,05$) (табл. 3).

Согласно нашим данным регуляторные эффекты полиморфного локуса rs2250889 гена *MMP-9* также значимы: в соответствии с базой данных HaploReg (v4.1) он находится в эволюционно консервативном регионе ДНК, локализован

в регионе модифицированных гистонов маркирующих промоторы (H3K4me3, H3K27ac) и энхансеры (H3K4me1, H3K9ac) в множестве различных культур клеток, тканях и органах (H1, H9 Derived Neuronal Progenitor Cultured Cells, H9 Derived Neuron Cultured Cells, hESC Derived CD56+ Ectoderm Cultured Cells, hESC Derived CD184+ Endoderm Cultured Cells, hESC Derived CD56+ Mesoderm Cultured Cells, H1 Derived Mesenchymal Stem Cells и др.), находится в области регуляторного мотива ДНК, взаимодействующего с регуляторным белком CTCF и расположен в регионе сайтов связывания с 2 транскрипционными факторами (NRSF_disc3 и NRSF_known2). Материалы, представленные в онлайн базе данных GTExportal, свидетельствуют о важном eQTL и sQTL значении полиморфизма rs2250889. Данный полиморфный локус ассоциирован с уровнем транскрипции гена *PLTP* в слизистой оболочке пищевода ($\beta=0,49$, $p=7,5e-13$, $p_{FDR} \leq 0,05$), коже ($\beta=0,42-0,45$, $p=6,2e-11 - 6,8e-10$, $p_{FDR} \leq 0,05$), гена *PCIF1* в крови ($\beta=-0,12$, $p=0,000065$, $p_{FDR} \leq 0,05$), гена *NEURL2* в большеберцовом нерве ($\beta=0,35$, $p=0,00012$, $p_{FDR} \leq 0,05$), а также с связан с уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *SLC12A5* в гипофизе (интрон ID:46021886:46023369:clu_29529, $\beta=1,10$, $p=4,7e-9$, $p_{FDR} \leq 0,05$). Наряду с этим полиморфизм rs2250889, расположенный в 10 экзоне гена *MMP-9*, определяет несинонимическую замену нуклеотида G на C в 1721 положении (c.1721G>C), что приводит к замене аминокислоты аргинин на аминокислоту пролин в 574 положении полипептида *MMP-9* (p.Arg574Pro) (<http://www.ensembl.org/>). Эта миссенс мутация, согласно базы данных PolyPhen-2, имеет предикторный класс «BENIGN» (score=0, чувствительность 1,00, специфичность – 0,00).

Таблица 2 (начало)

Частота комбинаций генетических вариантов *MMP* у мужчин больных ПОУГ и в контрольной группе

Beginning of Table 2

Frequency of combinations of genetic variants of *MMP* in men with POAG and in the control group

Полиморфизмы	Комбинации (генетические варианты)	Больные ПОУГ		Контрольная группа		P (P _{perm})	OR (95% CI)
		n/N	%	n/N	%		
Двухлокусные модели							
rs 679620 <i>MMP</i> -3× rs 1799750 <i>MMP</i> -1	C rs 679620 × D rs 1799750	144/236	61,01	79/173	45,66	0,001 (0,007)	1,86 (1,25-2,77)
rs 2250889 <i>MMP</i> -9 × rs 17576 <i>MMP</i> -9	CC rs 2250889 × G rs 17576	108/235	45,96	103/171	60,23	0,003 (0,012)	0,56 (0,38-0,84)
rs 2250889 <i>MMP</i> -9 × rs 17576 <i>MMP</i> -9	GC rs 2250889 × G rs 17576	28/235	11,97	7/171	4,09	0,004 (0,015)	3,17 (1,35-7,43)
rs 3918249 <i>MMP</i> -9 × rs 1799750 <i>MMP</i> -1	A rs 3918249 × D rs 1799750	172/233	73,82	106/174	60,92	0,004 (0,042)	1,80 (1,19-2,76)
Трехлокусные модели							
rs 3787268 <i>MMP</i> -9 × rs 3918249 <i>MMP</i> -9 × rs 1799750 <i>MMP</i> -1	G rs 3787268 × A rs 3918249 × D rs 1799750	171/233	73,39	102/172	59,30	0,018 (0,025)	0,34 (0,13-0,88)
rs 3787268 <i>MMP</i> -9 × rs 679620 <i>MMP</i> -3 × rs 1799750 <i>MMP</i> -1	A rs 3787268 × T rs 679620 × W rs 1799750	30/235	12,76	41/171	23,98	0,021 (0,029)	0,35 (0,13-0,91)
rs 3918249 <i>MMP</i> -9 × rs 1799750 <i>MMP</i> -1 × rs 17576 <i>MMP</i> -9	A rs 3918249 × D rs 1799750 × A rs 17576	164/229	71,61	99/171	57,89	0,032 (0,034)	0,46 (0,21-0,99)
rs 17577 <i>MMP</i> -9 × rs 2250889 <i>MMP</i> -9 × rs 1799750 <i>MMP</i> -1	A rs 17577 × G rs 2250889 × D rs 1799750	16/235	6,81	2/167	1,20	0,005 (0,034)	6,02 (1,37-26,58)
rs 17577 <i>MMP</i> -9 × rs 2250889 <i>MMP</i> -9 × rs 679620 <i>MMP</i> -3	A rs 17577 × G rs 2250889 × T rs 679620	16/238	6,72	2/167	1,20	0,005 (0,034)	5,95 (1.35-26.22)

Таблица 2 (окончание)

Частота комбинаций генетических вариантов *MMP* у мужчин больных ПОУГ и в контрольной группе

End of Table 2

Frequency of combinations of genetic variants of *MMP* in men with POAG and in the control group

Полиморфизмы	Комбинации (генетические варианты)	Больные ПОУГ		Контрольная группа		P (P _{perm})	OR (95% CI)
		n/N	%	n/N	%		
rs 3918249 <i>MMP</i> -9 × rs 2250889 <i>MMP</i> -9 × rs 17576 <i>MMP</i> -9	A rs 3918249 × G rs 2250889 × G rs 17576	24/230	10,43	6/171	3,51	0,006 (0,037)	3,20 (1,27-8,02)
rs 2250889 <i>MMP</i> -9 × rs 3918242 <i>MMP</i> -9 × rs 17576 <i>MMP</i> -9	G rs 2250889 × A rs 3918242 × G rs 17576	12/231	5,19	1/170	0,59	0,007 (0,050)	9,26 (1,19-71,92)
Четырехлокусные модели							
rs 3787268 <i>MMP</i> -9 × rs 3918249 <i>MMP</i> -9 × rs 679620 <i>MMP</i> -3 × rs 1799750 <i>MMP</i> -1	A rs 3787268 × G rs 3918249 × T rs 679620 × W rs 1799750	27/231	11,68	40/171	23,39	0,001 (0,007)	0,43 (0,25-0,74)
rs 3787268 <i>MMP</i> -9 × rs 679620 <i>MMP</i> -3 × rs 1799750 <i>MMP</i> -1 × rs 3918242 <i>MMP</i> -9	A rs 3787268 × T rs 679620 × W rs 1799750 × G rs 3918242	28/232	12,06	40/169	23,66	0,001 (0,007)	0,44 (0,26-0,75)
rs 17577 <i>MMP</i> -9 × rs 3787268 <i>MMP</i> -9 × rs 2250889 <i>MMP</i> -9 × rs 1799750 <i>MMP</i> -1	A rs 17577 × G rs 3787268 × G rs 2250889 × DW rs 1799750	11/234	4,70	0/165	0	0,003 (0,012)	5,73 (1,70-19,33)
rs 2250889 <i>MMP</i> -9 × rs 679620 <i>MMP</i> -3 × rs 3918242 <i>MMP</i> -9 × rs 17576 <i>MMP</i> -9	G rs 2250889 × G rs 679620 × A rs 3918242 × G rs 17576	10/231	4,33	0/169	0	0,004 (0,016)	5,88 (1,65-20,92)
rs 2250889 <i>MMP</i> -9 × rs 1799750 <i>MMP</i> -1 × rs 3918242 <i>MMP</i> -9 × rs 17576 <i>MMP</i> -9	G rs 2250889 × W rs 1799750 × A rs 3918242 × G rs 17576	9/230	3,91	0/230	0	0,008 (0,045)	5,85 (1,54-22,25)

Таблица 3

Полиморфизм rs1799750 и уровень экспрессии генов (cis-eQTL) в различных органах и тканях

Table 3

Rs1799750 polymorphism and gene expression level (cis-eQTL) in various organs and tissues

Экспрессируемый ген	Аллель (ref)	Алелль (alt)	β	p	Орган/ткань
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,66	9,6e-84	Cells - Cultured fibroblasts
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,52	1,3e-25	Thyroid
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,42	1,9e-25	Lung
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,58	5,8e-23	Heart - Atrial Appendage
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,45	1,7e-18	Adipose - Visceral (Omentum)
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,46	6,6e-15	Heart - Left Ventricle
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,36	2,2e-11	Nerve - Tibial
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,32	1,3e-8	Esophagus - Muscularis
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,35	1,5e-8	Artery - Aorta
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,28	2,4e-8	Adipose - Subcutaneous
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,22	3,8e-7	Artery - Tibial
<i>MMP10</i>	TC	T	-0,19	0,0000025	Lung
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,3	0,0000028	Esophagus - Gastroesophageal Junction
<i>MMP1</i>	TC	T	-0,28	0,0000075	Breast - Mammary Tissue
<i>WTAPPI</i>	TC	T	-0,15	0,00004	Testis

Примечание: использованы данные проекта Genotype-Tissue Expression (GTEx) (<http://www.gtexportal.org/>)

Note: data from the Genotype-Tissue Expression (Gtx) project was used (<http://www.gtexportal.org/>)

Таким образом, полиморфные локусы rs1799750 *MMP-1* и rs2250889 *MMP-9*, играющие наиболее существенную роль в формировании подверженности к ПОУГ у мужчин (входят в состав наибольшего количества моделей SNP×SNP взаимодействий, ассоциированных с развитием заболевания), имеют важное функциональное значение в организме (эпигенетические эффекты, eQTL, sQTL, несинонимическая замена). Полиморфизм rs1799750 *MMP-1* находится в области регуляторных мотивов ДНК, взаимодействующих с регуляторными белками CFOS и GATA2, регионе гиперчувствительности к ДНКазе-1 в пяти клеточных культурах и тканях, регионе модифицированных гистонов, маркирующих энхансеры в шести различных культурах клеток, тканях и органах, находится в области сайтов связывания с 21 транскрипционным фактором, ассоциирован с уровнем экспрессии трех генов (*MMP1*, *MMP10*, *WTAPP1*). Полиморфный локус rs2250889 определяет несинонимическую замену в гене *MMP-9* (p.Arg574Pro), локализован в эволюционно консервативном регионе ДНК, расположен в регионе модифицированных гистонов маркирующих промоторы и энхансеры в множестве различных культур клеток, тканях и органах, находится в области регуляторного мотива ДНК, взаимодействующего с регуляторным белком CTCF, расположен в регионе сайтов связывания с 2 транскрипционными факторами (NRSF_disc3 и NRSF_known2), ассоциирован с уровнем транскрипции 3 генов (*PLTP*, *PCIF1*, *NEURL2*) и уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *SLC12A5*.

Согласно литературным данным, матриксные металлопротеиназы представляют собой обширное семейство внеклеточных, цинк-содержащих протеиназ, отвечающих за разрушение компонентов внеклеточного вещества как при физиологических, а также при патологических состояниях [28, 29, 30]. регулируемые на разных уровнях, включая транскрипцию, активацию белка и взаимодействие с эндогенными ингибиторами. MMP имеют

большое значение в обмене белков соединительной ткани, в процессах развития межклеточного вещества в норме, а также при онкогенном перерождении клеток, remodelировании внеклеточного матрикса в процессе развития и роста различных тканей, включая ткани глаз [31]. Матриксная металлопротеиназа-1 (MMP-1), также известная как кишечиназная коллагеназа и коллагеназа I, синтезируется фибробластами, хондроцитами, макрофагами, кератиноцитами, эндотелиальными клетками и остеобластами [32].

Матриксная металлопротеиназа-9 (MMP-9 или желатиназа В) играет важную роль в процессах воспаления, remodelирования ткани, репарации, регуляции связанных факторов роста и обмена цитокинов. Активность MMP-9 регулируется TIMP-3 и различными цитокинами и факторами роста, включая интерлейкины, интерфероны, эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста нервов (NGF), основной фактор роста фибробластов (FGFb), фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор некроза опухоли α (TNF- α), трансформирующий фактор роста β (TGF- β) и остеопонтин [18, 19]. MMP-9 отвечает за лизис белков внеклеточного межклеточного вещества, а также активация различных факторов роста, таких как pro-TGF- β и pro-TNF- α [30].

В ряде ранее проведенных исследований установлено, что MMP-1 и MMP-9 были вовлечены в снижении устойчивости к оттоку внутриглазной жидкости глаза, особенно содержание MMP-9 было связано с процессом глаукомы. По сравнению со здоровыми глазами в глаукоматозных глазах концентрация MMP-9 была достоверно выше. Эти изменения были обнаружены в водянистой влаге, радужно-роговичный углу и теноновой капсуле у пациентов с различными видами глауком, в том числе, ПОУГ [13]. Роль матриксных металлопротеиназ в регуляции оттока ВГЖ исследовалась Rönkkö S. et al. (2007). Была изучена экспрессия MMP и тканевых ингибиторов (MMP-1, -2, -3, -9,

TIMP-1, -2, -3) у больных ПОУГ и эксфолиативной глаукомой (ЭГ). Концентрация MMP-1 в образцах с ПОУГ значительно превышало этот показатель при эксфолиативной глаукоме [33].

Авторы Manabe S et al. (2005) сообщают о том, что аномальная активация MMP-9 при помощи оксида азота NO вызывает внеклеточный сигнальный каскад, ведущий к апоптозу. У мышей с удаленным геном *MMP-9*, в той же степени, как и у животных, у которых *MMP-9* фармакологически был ингибирован, ретинальные клетки не погибают от апоптоза [34].

При изучении ассоциации полиморфизмов *MMP-9* с глаукомой в популяции Южного Китая установлено, что полиморфизм rs2250889 является фактором риска для развития первичной закрытоугольной глаукомы (ПЗУГ) (OR = 1,76, p = 0,004) [35], что полностью согласуется с полученными нами результатами о значимой роли данного полиморфизма в формировании ПОУГ у мужского населения России. В результате исследования, проведенного Micheal S. et al у 112 пациентов с ПОУГ, 82 пациентов с ПЗУГ и 118 здоровых людей в популяции Пакистана, выявлено, что фактором риска развития ПОУГ у женщин является полиморфизм *MMP-1* rs1799750 (-1607 1G / 2G) (p<0,001), в то время как этот полиморфизм у лиц мужского пола не ассоциирован с ПОУГ (p> 0,47) [25]. Mossböck G et al. исследовали полиморфизм *MMP-1* rs1799750 у пациентов с ПОУГ. В исследование были включены 322 пациента с ПОУГ, 202 пациентов с эксфолиативной глаукомой и 248 здоровых индивидуумов. Никаких существенных различий в распределении данного полиморфизма не было установлено между пациентами с ПОУГ и контрольной группой [36]. Следует отметить, что в нашем исследовании, показана значимая роль полиморфизма rs1799750 *MMP-1* в формировании ПОУГ у мужчин.

Заключение. Межгенные взаимодействия полиморфных локусов генов *MMP* ассоциированы с формированием первичной открытоугольной глаукомы у

мужчин. 16 моделей SNP×SNP взаимодействий генов *MMP* (4 двухлокусных, 7 трехлокусных и 5 четырехлокусных) определяют подверженность к развитию заболевания, из которых 10 моделей, ассоциированы с повышенным риском, а 6 моделей имеют протективную направленность. В состав наибольшего количества моделей ген-генных взаимодействий, связанных с развитием ПОУГ, входят полиморфные локусы rs1799750 *MMP-1* (10 моделей) и rs2250889 *MMP-9* (8 моделей). Данные полиморфные локусы (rs1799750 и rs2250889) имеют важное функциональное значение в организме (эпигенетические эффекты, eQTL, sQTL, несинонимическая замена).

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. A multiethnic genome-wide association study of primary open-angle glaucoma identifies novel risk loci / H. Choquet [et al.] // Nat Commun. 2018. Vol. 11, N 9. P. 2278. DOI: 10.1038/s41467-018-04555-4
2. Тикунова Е.В., Чурносков М.И. Генетические исследования при первичной открытоугольной глаукоме // Вестник офтальмологии. 2014. Т. 130, N 5. С. 96-99.
3. Metabolomics Profiling of Glaucoma Points to Mitochondrial Dysfunction, Senescence, and Polyamines Deficiency / S. Leruez [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. 2018. Vol. 59, N 11. P. 4355-4361. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.18-24938>
4. Нероева В.В. Офтальмология: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / под ред. В. В. Нероева. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 496 с. URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970448113.html> (дата обращения: 12.12.2019).
5. Relationship between the rate of change in lamina cribrosa depth and the rate of retinal nerve fiber layer thinning following glaucoma surgery / P. Krzyżanowska-Berkowska [et al.] // PLoS One. 2018. Vol. 13(11). Article ID e0206040. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206040>
6. Поиск новых маркеров в ранней диагностике первичной открытоугольной глаукомы / Н.И. Курышева [и др.] // Российский офтальмологический журнал. 2015. N 3. С. 23-29.

7. Altered Expression Levels of MMP1, MMP9, MMP12, TIMP1, and IL-1 β as a Risk Factor for the Elevated IOP and Optic Nerve Head Damage in the Primary Open-Angle Glaucoma Patients / L. Markiewicz [et al.] // Biomed Res Int. 2015. P. 812503. Article ID 812503. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/812503>
8. Gene polymorphisms of the MMP1, MMP9, MMP12, IL-1 β and TIMP1 and the risk of primary open-angle glaucoma / L. Markiewicz [et al.] // Acta Ophthalmol. 2013. Vol. 91(7). P. 516-523. DOI: <https://doi.org/10.1111/aos.12149>
9. Старикова Д.И., Чурносков М.И. Генетические исследования при первичной открытоугольной глаукоме // РМЖ. Клиническая офтальмология. 2017. Т. 17, N 1. С. 49-52.
10. Старикова Д.И., Чурносков М.И. Современные представления о молекулярных основах этиопатогенеза первичной открытоугольной глаукомы // Офтальмохирургия. 2017, N 3. С. 80-83.
11. Analysis combining correlated glaucoma traits identifies five new risk loci for open-angle glaucoma / P. Gharahkhani [et al.] // Sci Rep. 2018. Vol. 8, N 1. P. 3124. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20435-9>
12. Kim E.M., Hwang O. Role of matrix metalloproteinase-3 in neurodegeneration // J Neurochem. 2011. Vol. 116, N 1. P. 22-32. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07082.x>
13. Genome-wide association study identifies seven novel susceptibility loci for primary open-angle glaucoma / Y. Shiga [et al.] // Hum Mol Genet. 2018. Vol. 27, N 8. P. 1486-1496. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy053>
14. Rönkkö S. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patients with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma / S. Rönkkö [et al.] // Arch Clin Exp Ophthalmol. 2007. Vol. 245, N 5. P. 697-704. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00417-006-0440-1>
15. Исследование факторов регуляции экстраклеточного матрикса и биомеханических свойств корнеосклеральной оболочки при физиологическом старении и первичной открытоугольной глаукоме / М.У. Арапиев [и др.] // Национальный журнал Глаукома. 2015. Т. 14, N 4. С. 13-20.
16. MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms and homocysteine levels in primary open angle and primary closed angle glaucoma / S. Micheal [et al.] // Mol Vis. 2009. Vol. 15. P. 2268-2278.
17. Levels and activation of matrix metalloproteinases in aqueous humor are elevated in uveitis-related secondary glaucoma / M. Määtä [et al.] // Glaucoma. 2006. Vol. 15(3). P. 229-237. DOI: [10.1097/01.ijg.0000212229.57922.72](https://doi.org/10.1097/01.ijg.0000212229.57922.72)
18. Изучение ассоциаций генетических полиморфизмов факторов роста с развитием первичной открытоугольной глаукомы / М.Ю. Кириленко [и др.] // Вестник офтальмологии. 2017. Т. 133, N 3. С. 9-15.
19. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle glaucoma in the population of central Russia / E. Tikunova [et al.] // International Journal of Ophthalmology. 2017. Vol. 10(10). P. 1490-1494. DOI: [10.18240/ijo.2017.10.02](https://doi.org/10.18240/ijo.2017.10.02)
20. Тикунова Е.В., Чурносков М.И. Генетические исследования при первичной открытоугольной глаукоме // Вестник офтальмологии. 2014. N 5. С. 96-99.
21. Старикова Д.И., Чурносков М.И. Особенности течения и клинических проявлений первичной открытоугольной глаукомы у населения центрального региона Российской Федерации // Современные технологии в офтальмологии. 2018. N 4. С. 221-223.
22. Increased expression of matrix metalloproteinases in mononuclear blood cells of normal-tension glaucoma patients / O. Golubnitschaja [et al.] // J Glaucoma. 2004. Vol. 13(1). P. 66-72. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/00061198-200402000-00013>
23. Lack of association between the rs2664538 polymorphism in the MMP-9 gene and primary angle closure glaucoma in Singaporean subjects / T. Aung [et al.] // J Glaucoma. 2008. N 4. P. 257-258. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/IJG.0b013e31815c3aa5>
24. Gene polymorphisms of the MMP1, MMP9, MMP12, IL-1 β and TIMP1 and the risk of primary open-angle glaucoma / L. Markiewicz [et al.] // Acta Ophthalmol. 2013. Vol. 91(7). P. 516-523. DOI: <https://doi.org/10.1111/aos.12149>
25. Polymorphisms in matrix metalloproteinases MMP1 and MMP9 are associated with primary open-angle and angle closure glaucoma in a Pakistani population / S. Micheal [et al.] // Mol Vis. 2013. N 19. P. 441-447.
26. Association of genetic polymorphisms with age at menarche in Russian women / I. Ponomarenko [et al.] // GENE. 2019. Vol. 686. P. 228-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.042>

27. Пономаренко И.В. Использование метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях (обзор) // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5, N 1. С. 4-21. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-1

28. Wang X., Khalil R.A. Chapter Eight – Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease // *Advances in Pharmacology*. 2018. Vol. 81. P. 241-330. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.08.002>

29. Next generation matrix metalloproteinase inhibitors – Novel strategies bring new prospects / M. Levin [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. 2017. Vol. 1864, N 11(A). P. 1927-39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.009>

30. Zhao F., Fan Z., Huang X. Role of matrix metalloproteinase-9 gene polymorphisms in glaucoma: A hospital-based study in Chinese patients // *J Clin Lab Anal*. 2019. Vol. 00. P. e23105. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.23105>

31. Extracellular MMP-9-Based Assessment of Ocular Surface Inflammation in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma / A. Zaleska-Żmijewska [et al.] // *J Ophthalmol*. 2019. Vol. 3. P. 1240537. DOI: 10.1155/2019/1240537

32. Novel STAT binding elements mediate IL-6 regulation of MMP-1 and MMP-3 / S.J. Cutler [et al.] // *Sci Rep*. 2017. Vol. 7. P. 1-12. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-08581-y>

33. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patients with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma / S. Rönkkö [et al.] // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007. Vol. 245(5). P. 697-704. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00417-006-0440-1>

34. Manabe S., Gu Z., Lipton S.A. Activation of matrix metalloproteinase-9 via neuronal nitric oxide synthase contributes to NMDA-induced retinal ganglion cell death // *Invest. Ophthalmol. Vis Sci*. 2005. Vol. 46(12). P. 4747-4753. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.05-0128>

35. Association of the single nucleotide polymorphisms in the extracellular matrix metalloprotease-9 gene with PACG in southern China / Y. Cong [et al.] // *Mol. Vis*. 2009. Vol. 15. P. 1412-1417.

36. Role of functional single nucleotide polymorphisms of MMP1, MMP2, and MMP9 in

open angle glaucomas / G. Mossböck [et al.] // *Mol Vis*. 2010. Vol. 16. P. 1764-70.

References

1. Choquet H, Paylakhi S, Kneeland SC, et al. A multiethnic genome-wide association study of primary open-angle glaucoma identifies novel risk loci. *Nat Commun*. 2018 Jun 11;9(1):2278. DOI: 10.1038/s41467-018-04555

2. Tikunova EV, Churnosov MI. [Genetic studies in primary open-angle glaucoma]. *Bulletin of Ophthalmology*. 2014;130(5):96-99. Russian.

3. Leruez S, Marill A, Bresson T, et al. A Metabolomics Profiling of Glaucoma Points to Mitochondrial Dysfunction, Senescence, and Polyamines Deficiency / *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018 Sep 4;59(11):4355-4361. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.18-24938>

4. Neroeva VV. [Ophthalmology: Clinical Recommendations] [Internet]. M.: ГЭОТАР-Медиа; 2018 [cited 2019 Dec 12]. Available from: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970448113.html>. Russian.

5. Krzyżanowska-Berkowska P, Czajor K, Helemejko I, et al. Relationship between the rate of change in lamina cribrosa depth and the rate of retinal nerve fiber layer thinning following glaucoma surgery. *PLoS One*. 2018 Nov 6;13(11):e0206040. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206040>

6. Kuryшева NI, Parshunina OA, Arjevnikov TD, et al. [Search for new markers in the early diagnosis of primary open-angle glaucoma]. *Rossiyskiy oftal'mologicheskiy zhurnal*. 2015;3:23-29. Russian.

7. Markiewicz L, Pytel D, Mucha B, et al. Altered Expression Levels of MMP1, MMP9, MMP12, TIMP1, and IL-1β as a Risk Factor for the Elevated IOP and Optic Nerve Head Damage in the Primary Open-Angle Glaucoma Patients *Biomed Res Int*. 2015;2015:812503. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/812503>

8. Markiewicz L, Majsterek I, Przybyłowska K, et al. Gene polymorphisms of the MMP1, MMP9, MMP12, IL-1β and TIMP1 and the risk of primary open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol*. 2013 Nov;91(7):516-23. DOI: <https://doi.org/10.1111/aos.12149>

9. Starikova DI, Churnosov MI. [Genetic studies in primary open-angle glaucoma]. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal. Klinicheskaya oftal'mologiya*. 2017;17(1):49-52. Russian.

- 10.Starikova DI, Churnosov MI. [Modern views on the molecular basis of etiopathogenesis of primary open-angle glaucoma]. *Oftal'mokhirurgiya*. 2017;3:80-83. Russian.
- 11.Gharahkhani P, Burdon KP, Cooke Bailey JN, et al. Analysis combining correlated glaucoma traits identifies five new risk loci for open-angle glaucoma. *Sci Rep*. 2018 Feb 15;8(1):3124. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20435-9>.
- 12.Kim EM, Hwang O. Role of matrix metalloproteinase-3 in neurodegeneration. *J Neurochem*. 2011;116(1):22-32. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07082.x>
- 13.Shiga Y, Akiyama M, Nishiguchi KM, et al. Genome-wide association study identifies seven novel susceptibility loci for primary open-angle glaucoma. *Hum Mol Genet*. 2018 Apr 15;27(8):1486-1496. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy053>
- 14.Rönkkö S, Rekonen P, Kaarniranta K, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patients with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007;245(5):697-704. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00417-006-0440-1>
- 15.Arapiev MU, Lovpache DN, Slepova OS, et al. [Study of regulating factors of the extracellular matrix and biomechanical properties of corneal scleral membranes at physiological aging and primary open-angle glaucoma]. *Nacional'nyj zhurnal Glaukoma*. 2015;14(4):13-20. Russian.
- 16.Micheal S, Qamar R, Akhtar F, et al. MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms and homocysteine levels in primary open angle and primary closed angle glaucoma. *Mol Vis*. 2009;15:2268-2278.
- 17.Määtä M, Tervahartiala T, Vesti E, et al. Levels and activation of matrix metalloproteinases in aqueous humor are elevated in uveitis-related secondary glaucoma. *Glaucoma*. 2006;15(3):229-237. DOI: [10.1097/01.ijg.0000212229.57922.72](https://doi.org/10.1097/01.ijg.0000212229.57922.72)
- 18.Kirilenko MYu, Tikunova EV, Sirotina SS, et al. [The study of the associations of genetic polymorphisms of growth factors with the development of primary open-angle glaucoma]. *Vestnik oftal'mologii*. 2017;133(3):9-15. Russian.
- 19.Tikunova E, Ovtcharova V, Reshetnikov E, et al. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle glaucoma in the population of central Russia. *International Journal of Ophthalmology*. 2017;10(10):1490-1494. DOI: [10.18240/ijo.2017.10.02](https://doi.org/10.18240/ijo.2017.10.02)
- 20.Tikunova EV, Churnosov MI. [Genetic studies in primary open-angle glaucoma]. *Vestnik oftal'mologii*. 2014;130(5):96-99. Russian.
- 21.Starikova DI, Churnosov MI. [Features of the course and clinical manifestations of primary open-angle glaucoma in the population of the central region of the Russian Federation]. *Sovremennyye tekhnologii v oftal'mologii*. 2018;(4):221-223. Russian.
- 22.Golubnitschaja O, Yeghiazaryan K, Liu R, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases in mononuclear blood cells of normal-tension glaucoma patients. *J Glaucoma*. 2004;13(1):66-72. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/00061198-200402000-00013>
- 23.Aung T, Yong VH, Lim MC, et al. Lack of association between the rs2664538 polymorphism in the MMP-9 gene and primary angle closure glaucoma in Singaporean subjects. *J. Glaucoma*. 2008;4:257-258. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/IJG.0b013e31815c3aa5>
- 24.Markiewicz L, Majsterek I, Przybyłowska K, et al. Gene polymorphisms of the MMP1, MMP9, MMP12, IL-1 β and TIMP1 and the risk of primary open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol*. 2013 Nov;91(7):516-23. DOI: <https://doi.org/10.1111/aos.12149>
- 25.Micheal S, Yousaf S, Khan MI, et al. Polymorphisms in matrix metalloproteinases MMP1 and MMP9 are associated with primary open-angle and angle closure glaucoma in a Pakistani population. *Mol Vis*. 2013;19:441-7.
- 26.Ponomarenko I, Reshetnikov E, Altuchova O, et al. Association of genetic polymorphisms with age at menarche in Russian women. *GENE*. 2019 Feb 20;686:228-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.042>
- 27.Ponomarenko IV. [Using the method of Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) and its modifications for analysis of gene-gene and gene-environment interactions in genetic-epidemiological studies (review)]. *Research Results in Biomedicine*. 2019;5(1):4-21. Russian. DOI: [10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-1](https://doi.org/10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-1)
- 28.Wang X, Khalil RA. Chapter Eight – Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease. *Advances in Pharmacology*. 2018;81:241-330. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.08.002>
- 29.Levin M, Udi Y, Solomonov ISI, et al. Next generation matrix metalloproteinase inhibi-

tors – Novel strategies bring new prospects. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. 2017;1864(11(A)):1927-39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.009>

30. Zhao F, Fan Z, Huang X. Role of matrix metalloproteinase-9 gene polymorphisms in glaucoma: A hospital-based study in Chinese patients. *J Clin Lab Anal*. 2019 Nov 12;00:e23105. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.23105>

31. Zaleska-Żmijewska A, Strzemecka E, Wawrzyniak ZM, et al. Extracellular MMP-9-Based Assessment of Ocular Surface Inflammation in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *J Ophthalmol*. 2019 Apr 3;2019:1240537. DOI: 10.1155/2019/1240537

32. Cutler SJ, Doecke JD, Ghazawi I, et al. Novel STAT binding elements mediate IL-6 regulation of MMP-1 and MMP-3. *Sci Rep*. 2017; 7:1-12. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-08581-y>

33. Rönkkö S, Rekonen P, Kaarniranta K, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patients with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007;245(5):697-704. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00417-006-0440-1>

34. Manabe S, Gu Z, Lipton SA. Activation of matrix metalloproteinase-9 via neuronal nitric oxide synthase contributes to NMDA-induced retinal ganglion cell death. *Invest. Ophthalmol.*

Vis Sci. 2005;46(12):4747-53. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.05-0128>

35. Cong Y, Guo X, Liu X, et al. Association of the single nucleotide polymorphisms in the extracellular matrix metalloprotease-9 gene with PACG in southern China. *Mol. Vis*. 2009;15:1412-1417.

36. Mossböck G, Weger M, Faschinger C, et al. Role of functional single nucleotide polymorphisms of MMP1, MMP2, and MMP9 in open angle glaucomas. *Mol Vis*. 2010 Aug 28;16:1764-70.

Статья поступила в редакцию 13 октября 2019 г.
Поступила после доработки 23 декабря 2019 г.
Принята к печати 12 января 2020 г.

Received 13 October 2019

Revised 23 December 2019

Accepted 12 January 2020

Информация об авторе

Дина Ильсуровна Свинаярева, врач-офтальмолог, НП «Офтальмологический Центр «Поколение», E-mail: din77din@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7866-3494.

Information about the author

Dina I. Svinareva, Ophthalmologist, Ophthalmological Center «Generation», E-mail: din77din@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7866-3494.

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ PHARMACOLOGY, CLINICAL PHARMACOLOGY



УДК 618.3-06-08:577.112.385.2

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

О.Е. Анциферова¹,
В.В. Гуреев¹,
А.В. Гуреева²,
Е.В. Авдеева²,
Ю.А. Михайлова³,
Д.Б. Кузьмин⁴

Комплексная оценка коррекции очищенной
микронизированной флавоноидной фракцией
нарушений при АДМА-подобной преэклампсии
в эксперименте

- ¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»),
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация
- ² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет»,
ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация
- ³ Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа»,
ул. Некрасова, д. 8/9, г. Белгород, 308007, Российская Федерация
- ⁴ Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения
«Городская больница №2 г. Белгорода»,
ул. Губкина, д. 46, г. Белгород, 308036, Российская Федерация
Автор для переписки: В.В. Гуреев (produmen@yandex.ru)

Аннотация

Актуальность: Около 10% беременностей в мире сопровождается гипертензивными расстройствами, при этом от 2 до 8% приходится на преэклампсию. Одним из компонентов патогенеза преэклампсии является плацентарная ишемия. Выделяющиеся при ней гуморальные факторы обладают провоспалительным эффектом и могут способствовать развитию эндотелиальной дисфункции. Одним из возможных вариантов снижения эффектов этих цитокинов может явиться использование препаратов содержащих природные флавоноиды, одним из положительных моментов которых является снижение веноспецифического воспаления. **Цель исследования:** Исследовать эффективность использования очищенной микронизированной флавоноидной фракции при коррекции функциональных нарушений, возникающих при преэклампсии в эксперименте. **Материалы и методы:** Эксперимент выполнен на 100 белых крысах-самках линии Wistar массой 250-300 г. АДМА-подобный агент – (L-NAME) вводили внутривентриально в дозе 25 мг/кг/сут в с 14 по 20 сут. беременности. Очищенную микронизированную флавоноидную фракцию (диосмин+флавоноиды в пересчете на гесперидин) в дозировках 86 мг/кг и 260 мг/кг вводили перорально однократно в сутки с 14 по 20 сутки беременности. На 21 сутки беременности проводили функциональные пробы и лабора-

торные исследования. **Результаты:** Введение лабораторным животным очищенной микронизированной флавоноидной фракции приводит к выраженной коррекции патологических изменений при экспериментальной ADMA-подобной преэклампсии с наибольшим эффектом в большей дозе используемого препарата. Отмечалось достоверное снижение систолического и диастолического давления соответственно, улучшение микроциркуляции в плаценте, восстановление NO-синтезирующей функции эндотелия, уменьшении протеинурии. **Заключение:** Результаты проведенного исследования свидетельствуют о перспективности применения очищенной микронизированной флавоноидной фракции для коррекции морфофункциональных изменений при преэклампсии и обосновывают целесообразность дальнейших исследований в этом направлении.

Ключевые слова: очищенная микронизированная флавоноидная фракция; преэклампсия; эндотелиальная дисфункция; крысы; протеинурия; микроциркуляция

Для цитирования: Анциферова ОЕ, Гуреев ВВ, Гуреева АВ, и др. Комплексная оценка коррекции очищенной микронизированной флавоноидной фракцией нарушений при ADMA-подобной преэклампсии в эксперименте. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):78-93. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-7

Oksana E. Antsiferova¹,
Vladimir V. Gureev¹,
Anastasia V. Gureeva²,
Elena V. Avdeyeva²,
Yulia A. Mikhaylova³,
Dmitriy B. Kuzmin⁴

**Comprehensive assessment of using micronised purified
flavonoid fraction in the correction of disorders
associated with ADMA-like preeclampsia in experiment**

¹ Belgorod State National Research University,
85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

² Kursk State Medical University,
3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia

³ St. Joseph Belgorod Regional Clinical Hospital,
8/9 Nekrasova St., Belgorod, 308007, Russia

⁴ Belgorod Regional State City Hospital №2,
46 Gubkina St., Belgorod, 308036, Russia

Corresponding author: Vladimir V. Gureev (produmen@yandex.ru)

Abstract

Background: About 10% of pregnancies in the world are accompanied by hypertensive disorders, while from 2 to 8% are preeclampsia. One of the components of the pathogenesis of preeclampsia is placental ischemia. The humoral factors released during preeclampsia have a pro-inflammatory effect and can contribute to the development of endothelial dysfunction. One of the possible options for reducing the effects of these cytokines may be the use of drugs containing natural flavonoids, one of the positive aspects of which is the reduction of venospecific inflammation. **The aim of the study:** To study the effectiveness of using purified micronized flavonoid fraction (diosmin+flavonoids expressed as hesperidin) in the correction of functional

disorders that occur during preeclampsia in the experiment. **Materials and methods:** The experiment was performed on 100 white female rats of the Wistar line weighing 250-300 g. ADMA-like agent (L-NAME) was introduced intraperitoneally at a dose of 25 mg/kg/day from 14 to 20 days of gestation. The purified micronized flavonoid fraction (diosmin + flavonoids expressed as hesperidin) in dosages of 86 mg/kg and 260 mg/kg was administered orally once a day from 14 to 20 days of pregnancy. On the 21st day of pregnancy, functional tests and laboratory tests were performed.

Results: The administration of purified micronized flavonoid fraction to laboratory animals leads to a pronounced correction of pathological changes in experimental ADMA-like preeclampsia with the greatest effect in a higher dose of the drug used. A significant decrease in systolic and diastolic pressure was noted, respectively, improved microcirculation in the placenta, restoration of the NO-synthesizing function of the endothelium, and a decrease in proteinuria. **Conclusion:** The results of the study indicate the promise of using a purified micronized flavonoid fraction for the correction of functional changes in preeclampsia and substantiate the feasibility of further research in this direction.

Keywords: purified micronized flavonoid fraction; preeclampsia; endothelial dysfunction; rats; proteinuria; microcirculation

For citation: Antsiferova OE, Gureev VV, Gureeva AV, et al. Comprehensive assessment of using micronised purified flavonoid fraction in the correction of disorders associated with ADMA-like preeclampsia in experiment. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):78-93. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-7

Введение. Преэклампсия является одной из актуальных проблем современной медицины [1]. Основными моментами в патогенезе этого заболевания являются дисфункция эндотелия [2] и плацентарная ишемия. Выделяющиеся при ней гуморальные факторы обладают провоспалительным эффектом и могут способствовать развитию эндотелиальной дисфункции [3, 4]. В связи с этим, снижение выделения провоспалительных факторов ишемического генеза может явиться перспективным направлением для создания новых лекарственных препаратов для лечения и профилактики преэклампсии. Одним из возможных вариантов снижения эффектов этих цитокинов может явиться использование препаратов содержащих природные флавоноиды, одним из положительных моментов которых является снижение веноспецифического воспаления [5, 6].

К таким лекарственным препаратам относится очищенная микронизированная флавоноидная фракция. 90 % ее составляет диосмин и 10 % приходится на другие

флавоноиды (гесперидин, диосметин, линарин, изорхоифолин) [7].

Наиболее изученным среди них является диосмин. Он представляет собой биофлавоноидный гликозид (диосметин 7-рутинозид или 3', 5,7-тригидрокси-4'-метоксифлавоон-7-рамноглокозида) [8, 9]. В природе он содержится во многих растениях [10, 11], в том числе в citrusовых [12, 13], из которых был впервые выделен в 1925 году. В большинстве случаев он выделяется и используется вместе с гесперидином [9]. В кишечнике под действием ферментов микрофлоры диосмин гидролизуются в свою агликоновую форму – диосметин, который потом и всасывается [8, 14]. В тканях он быстро метаболизируется, а его метаболиты в основном выводятся с мочой [15]. Вторым по содержанию в составе очищенной микронизированной флавоноидной фракции является гесперидин. Он так же представляет собой флавоноидный гликозид и содержится в citrusовых [16, 17].

Традиционно очищенная микронизированная флавоноидная фракция в первую

очередь ассоциируется с терапией патологии венозной стенки и его венотонизирующими войствами [7]. Как лекарственный препарат для лечения венозной недостаточности и геморроя стал применяться с 60х годов 20 столетия [9]. Несмотря на большой стаж, применение этих флавоноидов при варикозной болезни не утратило свою актуальность [18, 19]. Можно сказать обратное. В настоящее время появляется все больше публикаций о положительных эффектах очищенной микронизированной флавоноидной фракции при исследованиях посвященных более узкой клинической ситуации при венозной недостаточности. У женщин с варикозным расширением вен таза введение исследуемого препарата дает положительный клинический результат [20]. Описанные флавоноиды оказывают положительный эффект при варикозной экземе [21], снижают уровень маркеров оксидативного стресса при хронической венозной недостаточности [22], опубликованы данные о положительных эффектах при консервативном лечении геморроя на различных стадиях [23, 24] и при его комбинированной терапии [25].

Не маловажное значение в клинических эффектах флавоноидов играет их способность улучшать дренажную функцию тканей. При их применении уменьшается посттравматический отек верхних конечностей [26,], наблюдается положительная динамика при лимфидеме у онкологических больных [27], при синдроме Рейно [28], при варикозной болезни [29].

В последнее время в литературе стали появляться данные о положительных эффектах описываемых флавоноидов при сахарном диабете. Диасмин проявляет защитное действие на развитие кардиомиопатии у крыс с стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом [9] и предотвращает патологические изменения хрусталика у этих животных [30]. Он способен ускорять заживление диабетической язвы [31] и проявлять нейропротективный эффект при экспериментальном сахарном диабете [32]. Диасмин повышает устойчивость клеток сетчатки глаза при повышен-

ной концентрации глюкозы [33]. Способность диасмина оказывать нефропротективные эффекты при экспериментальном сахарном диабете, так же свидетельствуют о его перспективности при лечении этого заболевания [34]. Снижение гипергликемии диасмином при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете объясняется его активирующим действием на имидазолиновые рецепторы и выделение β -эндорфина [35, 36].

Другим нарушением метаболизма, но часто ассоциируемым с сахарным диабетом и заболеваниями сердечно-сосудистой системы является метаболический синдром. Было показано, что введение диасмина животным с экспериментальным метаболическим синдромом происходило улучшение ряда функциональных и биохимических показателей [37]. У животных с подобным нарушением метаболических процессов диосмин предотвращал развитие нефропатии посредством снижения оксидативного стресса [38].

Диосмин обладает, кроме перечисленных эффектов, еще большим спектром протективных свойств. Он способен оказывать благоприятное действие на слизистую желудка и кишечника, проявляя антиульцирогенное действие [39, 40], оказывать положительный эффект при синдроме гиперстимуляции яичников [41], ускорять рана заживление [42], проявлять нейропротективные [43, 44] и болеутоляющие эффекты при различной патологии [45, 46], уменьшать поражение печени [17, 47] в различных условиях т.д. Однако, с учетом проводимого исследования, целесообразным видится более подробное освещение эндотелиопротективной активности и ангиопротективных свойств, не касаясь в основном аспекте патологии венозной стенки.

Первое упоминание о применении детралекса относится к 1972-1973 годам. Он позиционируется как препарат для лечения варикоза у беременных [48], так и перспективный препарат при различных акушерско-гинекологических патологиях [49]. Несмотря на это, в последующие го-

ды имеются единичные исследования посвященные применению детралекса у беременных, но и они в подавляющем большинстве при патологии венозной стенки. Вместе с тем, опираясь на не многочисленные публикации, можно сказать, что имеются данные о безопасности детралекса у беременных [50] и положительном эффекте при применении диасмина при преждевременных родах [51], положительном влиянии его на агрегационную способность тромбоцитов и нейропротективном эффекте у плода при преэклампсии [52]. Первая публикация с включением широкомасштабных данных о применении диасмина у беременных посвященная безопасности появилась только 2016 году [53]. В нем говорится о его относительной безопасности для матери и плода с анализом данных за несколько лет. Еще одной публикацией, свидетельствующей о безопасности флавоноидов, являются рекомендации экспертной группы Польского гинекологического общества по применению Детрамакса при беременности [54]. По данным ЕМА за 2015 год периодические отчеты об обновлениях безопасности подтверждает безопасность для диосмина (PSUSA/00001106/202501). В доступной литературе нет данных о токсическом действии гесперидина. По данным ЕМА за 2015 подтверждают безопасность для диосмина с гесперидином (PSUSA/00001107/202501). Так же нет сообщений о побочных эффектах препаратов, в которые входит гесперидин.

Таким образом, с учетом современного представления о патогенезе преэклампсии (ишемия плаценты, эндотелиальная дисфункция, оксидативный стресс), биологических свойств очищенной микро-низированной флавоноидной фракции (эндотелиопротективная активность, антиоксидантная активность, положительные эффекты при ишемии-реперфузии, противовоспалительная активность), отсутствии данных о токсических эффектах при беременности, изучение данного препарата является перспективным в аспекте поиска новых лекарственных средств для профи-

лактики и терапии преэклампсии. Эти обстоятельства и послужили предпосылкой для нашего исследования.

Цель исследования. Исследовать эффективность использования препарата, содержащего природные флавоноиды, при нарушениях, возникающих при АДМА-подобной преэклампсии.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось в НИИ фармакологии живых систем ФГАОУ ВО НИУ БелГУ. Проведение эксперимента выполнялось в соответствии с Приказом Минздрава России от 01.04.2016 N199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS N170.

Эксперимент выполнен на 100 белых крысах-самках линии Wistar массой 250-300 г. Моделирование экспериментальной преэклампсии и оценка эффективности коррекции возникающих патологических изменений проводилось по ранее опубликованной методике [55, 56].

Детралекс в дозировке 86 мг/кг и 260 мг/кг вводили перорально через зонд 1р/день с 14 по 20 сутки беременности животными 3 и 4 групп.

Для всех данных была применена описательная статистика: данные проверены на нормальность распределения. Тип распределения определялся критерием Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). Межгрупповые различия анализировались с использованием t-критерия Стьюдента или U-критерия Манна-Уитни, в зависимости от типа распределения. Расчеты выполнены с помощью статистических программ Microsoft Excel 7.0.

Результаты исследования. Моделирование преэклампсии у животных сопровождалось повышением артериального давления, нарушением функции эндотелия, снижением микроциркуляции в плаценте (табл.1).

Кроме этого, наблюдалось повышение протеинурии и подавление NO-синтезирующей функции эндотелия (табл. 2).

Таблица 1

Влияние Детралекса® на АД, КЭД и микроциркуляцию в плаценте при ADMA-подобной преэклампсии

Table 1

Detralex® effect on AD, CED and placental microcirculation with ADMA-like preeclampsia

Группа \ Показатель	САД, мм.рт.ст.	ДАД, мм.рт.ст.	КЭД, усл. ед.	Микроциркуляция, ПЕд
Интakтные	123,4±3,54 ^y	83,8±5,47 ^y	1,21±0,13 ^y	472,6±22,44 ^y
Беременные + L-NAME	193,6±6,28*	150,8±80*	2,89±0,25*	215,6±9,29*
L-NAME + Детралекс® 86мг/кг/сут	181,6 ± 6,19*	131,5 ± 3,55 ^y	2,21 ± 0,13 ^y	318,8±14,27 ^y
L-NAME + Детралекс® 260мг/кг/сут	169,3 ± 5,4 ^y	125,7 ± 4,91 ^y	1,79 ± 0,11 ^y	394,0 ± 9,87 ^y

Примечание: САД, ДАД – систолическое и диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.); КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции (у.е.); ПЕд – перфузионные единицы; * - $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; ^y – $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля L-NAME

Note: SBP, DBP systolic and diastolic blood pressure (mmHg); CED – coefficient of endothelial dysfunction (c.u.); PU – perfusion units; * – $p < 0.05$ compared to the intact animal group; ^y – $p < 0.05$ compared to the L-NAME group.

Таблица 2

Влияние Детралекса® на диурез, протеинурию и уровень NO при ADMA-подобной преэклампсии

Table 2

Detralex® effect on diuresis, proteinuria and NO levels in ADMA-like preeclampsia

Группа \ Показатель	Объем мочи, мл/100 г/сут	Протеинурия, г/л	Уровень NO, (мкмоль /Дл)
Интakтные	5,40 ± 0,22	0,85 ± 0,07 ^y	2,2±0,06 ^y
Беременные + L-NAME	5,63 ± 0,21	2,34 ± 0,14*	1,27±0,01*
L-NAME + Детралекс® 86 мг/кг/сут	5,09 ± 0,22	1,71 ± 0,09 ^y	1,56±0,04 ^y
L-NAME + Детралекс® 260 мг/кг/сут	5,07 ± 0,20	1,19 ± 0,08 ^y	1,79±0,03 ^y

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; ^y – $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля L-NAME

Notes: * – $p < 0.05$ compared to the intact animal group; ^y – $p < 0.05$ compared to the L-NAME group.

Введение Детралекса® в дозировках 86 мг/кг и 260 мг/кг с 14 до 20 сутки приводило к снижению артериального давления в большей дозе, улучшению функции эндотелия, повышению микроциркуляции в плаценте (табл. 1). Кроме этого, происходило повышение активности NO-синтезирующей функции эндотелия и снижение протеинурии (табл. 2).

При микроскопическом изучении гистологических препаратов у контрольных животных с моделированием преэклампсии были выявлены деструктивно-дистрофические изменения в плаценте.

В плодной части плаценты в ворсинках наблюдался интерстициальный отек, результатом которого являлось сдавление кровеносных сосудов и кровоизлияние в строму ворсин, а так же приводящее к уве-

личению размеров ворсин. Отечные и увеличенные в размерах якорные и терминальные ворсинки приводят к уменьшению площади межворсинчатых пространств, заполненных материнской кровью. В большом количестве в соединительной ткани ворсин визуализируются увеличенные в диаметре кровеносные сосуды (ангиоматоз), с явлениями тромбоза и отложением фибриновых нитей в полости кровеносных сосудов. В толще плодной части плаценты визуализируются очаги ишемии и некроза. В строме большинства ворсинок определяется круглоклеточная инфильтрация лимфоцитами. В некоторых срезах плаценты выявлены локальные очаги скопления нейтрофилов и лимфоцитов. Клетки Кашенко-Гофбауэра крупных размеров, локализируются по всей площади плодной части плаценты. Следует отметить, что между терминальных ворсин встречаются, так же, крупные децидуальные клетки с темно базофильной цитоплазмой. При этом, количество синцитиальных узелков и синцитиальных точек, свидетельствующих о зрелости плаценты очень низкое.

Относительно материнской части плаценты, а именно визуализируемой на стеклах децидуальной оболочки, следует отметить, что в гигантоклеточном трофобласте ярко выражены дистрофические изменения. Наблюдаются кистозно расширенные полости, заполненные фибрином. Определяются оптически пустые децидуальные клетки на фоне клеток с абсолютно сохранными структурами. Следует также отметить, что в толще материнской части плаценты визуализируется большое количество расширенных, с явлениями ангиоматоза и гиалиноза, кровенаполненных кровеносных сосудов. Непосредственно в месте прилегания децидуальной оболочки к тканям матки наблюдаются очаги некроза, инфильтрации. Следует также отметить, что в толще материнской части плаценты визуализируется большое количество расширенных, с явлениями ангиоматоза и гиалиноза, кровенаполненных кровеносных сосудов.

При проведении морфометрических исследований отмечается уменьшение концентрации клеточного пула в материнской и плодной частях плаценты и уменьшение диаметра ворсин (табл. 3).

Таблица 3

Влияние Детралекса® на морфологические изменения при ADMA-подобной преэклампсии

Table 3

Detralex® effect on morphological changes in ADMA-like preeclampsia

Группа	Плотность децидуальных клеток, / 0,25 мм ²	Плотность клеток в плодной части плаценты, / 0,25 мм ²	Диаметр ворсинок, x10 ⁻³ мкм
Интакт	118,3±2,14*	235,8±2,75*	32,40±0,41*
L-NAME	23,1±0,33 ^y	80,7±2,57 ^y	17,19±0,26 ^y
L-NAME + Детралекс® 6мг/кг/сут	87,4±0,84* ^y	133,2±1,20* ^y	22,92±0,17* ^y
L-NAME + Детралекс® 260мг/кг/сут	104,8±0,87* ^y	151,3±1,69* ^y	29,90±0,16* ^y

Примечание: * – p<0,05 в сравнении с группой интактных животных; y – p<0,05 в сравнении с группой контроля L-NAME

Notes: * – p<0.05 compared to the intact animal group; ^y – p<0.05 compared to the L-NAME group.

При введении детралекса наблюдалась выраженная положительная динамика у животных с экспериментальной преэклампсией по сравнению с группой «нелеченный» животных. Наибольший эффект наблюдался в группе с введением иссле-

ламписией по сравнению с группой «нелеченный» животных. Наибольший эффект наблюдался в группе с введением иссле-

дуемого препарата в дозе 260 мг/кг. В области створчатых ворсин располагается большое количество кровенаполненных сосудов. Явления отека стромы ворсинок не выражены. Хорошо определяются промежуточные и терминальные ворсины. Все ворсины окружены слоем симпластотрофобласта. В местах его отсутствия визуализируются отложения фибриноида. В поле зрения большое количество синцитиальных почеч и узелков.

Структуры фетоплацентарного барьера представлены в полном объеме. В строме ворсин определяются клетки Кащенко-Гофбауэра. Лакуны с материнской кровью не сужены, кровенаполнены. В материнской части плаценты в гигантоклеточном трофобласте продолжают сохраняться дистрофические изменения. Черепицеобразные пласты децидуальных клеток со стороны якорных ворсин покрыты фибриноидом. В толще этих пластов визуализируются локальные участки, образованные оптически пустыми децидуальными клетками с темно базофильными ядрами. В непосредственной близости к таким зонам определяются слившиеся симпластические структуры – клетки Кащенко-Гофбауэра с крупными базофильными ядрами.

Проведенная морфометрия свидетельствует о повышении плотности клеточного пула в материнской и плодной частях плаценты, а так же об увеличении диаметра ворсин.

Обсуждение результатов. Положительные эндотелиопротективные эффекты исследуемого препарата можно объяснить снижением эффектов провоспалительных цитокинов [5]. При этом происходит уменьшение их ингибирующего действия на eNOS, снижение содержания продуктов перекисного окисления и повышение биодоступности NO. Это приводит к восстановлению регуляторных механизмов сосудистого тонуса как системного, так и местного.

Согласно литературным данным, диосмин и гисперидин обладают выраженными противовоспалительными и антиоксидантными свойствами [8, 57]. Про-

тивовоспалительный эффект связываю со способностью диасмина снижать выработку провоспалительных цитокинов: IL-6, IL-1 β , TNF- α и др. [9, 42, 58]. Кроме этого диасмин способен снижать индуцированную выработку NO путем ингибирования iNOS [8, 42]. Отчасти эти эффекты могут быть опосредованы за счет снижения оксидативного стресса. Так при повреждении различных органов акриламидом диасмин и гисперидин снижали активность глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы [42, 17]. Кроме этого происходило предотвращение перекисного окисления липидов и повышение активности антиоксидантной системы [17, 59].

Первое упоминание о способности оказывать эндотелиопротективное действие относится к 1991 году [60]. У спонтанно гипертензивных крыс введение флавоноидов приводило к улучшению сосудодилатирующих возможностей, соотношение интима/медиа и снижению протеинурии, но эффекты были умеренными по выраженности [61]. Подобный эффект наблюдался у крыс при моделировании L-NAME индуцированной гипертензии [62]. При тромбозе глубоких вен травматического происхождения диасмин угнетает апоптоз эндотелиальных клеток [63]. Эндотелиопротективные эффекты проявляются как при лечении варикозной болезни [64, 65] так и при коррекции артериальной патологии [23]. Особое внимание заслуживают данные о протективных эффектах диасмина при ишемически-реперфузионных повреждениях [66, 67], особенно мелких сосудов [68]. К молекулярным механизмам посредством которых реализуются эндотелиопротективные эффекты можно отнести: подавление синтеза провоспалительных гуморальных факторов, снижение выработки молекул клеточной адгезии, модулирующее действие на проницаемость сосудистой стенки, благоприятное воздействие на соотношение прооксидантных и антиоксидантных факторов [7].

Заключение. Введение животным Детралекса® в дозировках 86 мг/кг и

260 мг/кг в сутки приводит к выраженной коррекции патологических изменений при экспериментальной АДМА-подобной преэклампсии с наибольшим эффектом в большей дозе используемого препарата. Отмечалось достоверное снижение систолического и диастолического артериального давления, улучшение микроциркуляции в плаценте, восстановление NO-синтезирующей функции эндотелия, уменьшении протеинурии. Полученные данные экспериментально обосновывают перспективность использования Детралекса® как эндотелиопротектора при преэклампсии и актуальность дальнейших исследований в этом направлении.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Ghulmiyyah L., Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia // *Semin Perinatol.* 2012. Vol. 36(1). P. 56-9. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2011.09.011>
2. Complex Analysis of Total and Fetal DNA and Cytokines in Blood Plasma of Pregnant Women with Preeclampsia / A.M. Krasnyi [et al.] // *Bull Exp Biol Med.* 2018. Vol. 164. P. 721-725. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-018-4066-1>
3. Das U.N. Cytokines, angiogenic, and antiangiogenic factors and bioactive lipids in preeclampsia. *Nutrition.* 2015. Vol. 31(9). P. 1083-95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.03.013>
4. Hypoxia-independent up regulation of placental hypoxia inducible factor 1 alpha gene expression contributes to the pathogenesis of preeclampsia / T. Iriyama [et al.] // *Hypertension* 2015. Vol. 65(6). P. 1307-1315. DOI: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05314>
5. Воронков А.В., Гамзелева О.Ю. Обзор современных флеботропных препаратов на основе флавоноидов как перспективных эндотелиопротекторов при лечении хронических заболеваний вен // *Стационарозамещающие технологии: Амбулаторная хирургия.* 2019. N 1-2. С. 27-33. DOI: <https://doi.org/10.21518/1995-1477-2019-1-2-27-33>
6. Evaluation of Pharmacological Correction of L-NAME-induced Endothelial Dysfunction, Platelet Aggregation and Venous Tone With Diosmin "Detralex 1000 mg" / Y. Lukyanova [et al.] // *Research Results in Pharmacology* 2018. Vol. 4(4). P. 1-7. DOI: <https://doi.org/10.3897/rrpharmacology.4.31748>
7. Mansilha A., Sousa J. Pathophysiological Mechanisms of Chronic Venous Disease and Implications for Venoactive Drug Therapy // *Int J Mol Sci.* 2018. Vol. 19(6). pii: E1669. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19061669>
8. A review on pharmacological and analytical aspects of diosmetin: a concise report / K. Patel [et al.] // *Chin J Integr Med.* 2013. Vol. 19(10). P. 792-800. DOI: 10.1007/s11655-013-1595-3
9. The Potential Protective Effects of Diosmin on Streptozotocin-Induced Diabetic Cardiomyopathy in Rats / T.M. Ali [et al.] // *Am J Med Sci.* 2020. Vol. 359(1). P. 32-41. DOI: 10.1016/j.amjms.2019.10.005
10. HPLC characterization, acute and sub-acute toxicity evaluation of bark extract of *Rhizophora mucronata* in Swiss Albino mice / J. Chitra [et al.] // *Heliyon.* 2019. Vol. 6(1). P. e03108. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e03108
11. Polyphenol characterisation of *Phoenix dactylifera* L. (date) seeds using HPLC-mass spectrometry and its bioaccessibility using simulated in-vitro digestion/Caco-2 culture model / S. Hilary [et al.] // *Food Chem.* 2020. Vol. 311. P. 125969. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125969
12. Klimek-Szczykutowicz M., Szopa A., Ekiert H. Citrus limon (Lemon) Phenomenon-A Review of the Chemistry, Pharmacological Properties, Applications in the Modern Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries, and Biotechnological Studies // *Plants (Basel).* 2020. Vol. 9(1). P. E119. DOI: 10.3390/plants9010119
13. Ultrasound-Assisted Extraction Optimization of Phenolic Compounds from Citrus latifolia Waste for Chitosan Bioactive Nanoparticles Development / N. Medina-Torres [et al.] // *Molecules.* 2019. Vol. 24(19). P. E3541. DOI: 10.3390/molecules24193541
14. Currò D. The role of gut microbiota in the modulation of drug action: a focus on some clinically significant issues // *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2018. Vol. 11(2). P. 171-183. DOI: 10.1080/17512433.2018.1414598
15. Profiling and comparison of the metabolites of diosmetin and diosmin in rat urine, plasma and feces using UHPLC-LTQ-Orbitrap MSn / X. Chen [et al.] // *J Chromatogr B Analyt Technol*

Biomed Life Sci. 2019. Vol. 1124. P. 58-71. DOI: 10.1016/j.jchroomb.2019.05.030

16. Inhibition of autophagy via activation of PI3K/Akt/mTOR pathway contributes to the protection of hesperidin against myocardial ischemia/reperfusion injury / X. Li [et al.] // International Journal of Molecular Medicine. 2018. Vol. 42(4). P. 1917-1924. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3794>

17. Protective effects of hesperidin and diosmin against acrylamide-induced liver, kidney, and brain oxidative damage in rats / A.E. Elhelaly [et al.] // Environ Sci Pollut Res Int. 2019. Vol. 26(34). P. 35151-35162. DOI: 10.1007/s11356-019-06660-3

18. Slíva J. Diosmin - still an important modality in the treatment of venous insufficiency // Vnitr Lek. 2019. Vol. 65(7-8). P. 524-526.

19. Lichota A., Gwozdziński L., Gwozdziński K. Therapeutic potential of natural compounds in inflammation and chronic venous insufficiency // Eur J Med Chem. 2019. Vol. 176. P. 68-91. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.04.075

20. Akhmetzianov R.V., Bredikhin R.A. Clinical efficacy of Detralex in treatment of women with pelvic varicose veins // Angiol Sosud Khir. 2018. Vol. 24(2). P. 93-99.

21. Rodnyansky D.V., Fokin A.A. Diosmin-containing phlebotropic drugs in varicose eczema // Angiol Sosud Khir. 2019. Vol. 25(3). P. 88-92. DOI: 10.33529/ANGIO2019303

22. Influence of Diosmin Treatment on the Level of Oxidative Stress Markers in Patients with Chronic Venous Insufficiency / V. Feldo [et al.] // Oxid Med Cell Longev. 2018. Vol. 2018. Article ID 2561705. DOI: 10.1155/2018/2561705

23. Zagriadskiĭ E.A., Bogomazov A.M., Golovko E.B. Conservative Treatment of Hemorrhoids: Results of an Observational Multicenter Study // Adv Ther. 2018. Vol. 35(11). P. 1979-1992. DOI: 10.1007/s12325-018-0794-x

24. Flavonoid mixture (diosmin, troxerutin, rutin, hesperidin, quercetin) in the treatment of I-III degree hemorrhoidal disease: a double-blind multicenter prospective comparative study / I. Corsale [et al.] // Int J Colorectal Dis. 2018. Vol. 33(11). P. 1595-1600. DOI: 10.1007/s00384-018-3102-y

25. Bashankaev B.N., Wexner S.D., Arkharov A.V. Common sense of diosmin administration in combined treatment of hemorrhoids // Khirurgiia (Mosk). 2018. Vol. 8. Vyp. 2. P. 83-89. DOI: 10.17116/hirurgia201808283

26. Effectiveness and safety of a mixture of diosmin, coumarin and arbutin (Linfadren®) in addition to conventional treatment in the management of patients with post-trauma/surgery persistent hand edema: a randomized controlled trial / A. Cacchio [et al.] // Clin Rehabil. 2019. Vol. 33(5). P. 904-912. DOI: 10.1177/0269215519829797

27. Effectiveness and safety of a product containing diosmin, coumarin, and arbutin (Linfadren®) in addition to complex decongestive therapy on management of breast cancer-related lymphedema / A. Cacchio [et al.] // Support Care Cancer. 2019. Vol. 27(4). P. 1471-1480. DOI: 10.1007/s00520-018-4514-5

28. The effects of diosmin and hesperidin on capillary blood flow of upper limbs in patients with secondary Raynaud's syndrome / A.M. Zudin [et al.] // Khirurgiia (Mosk). 2017. Vol. 5. P. 60-66. DOI: 10.17116/hirurgia2017560-66

29. Effect of Diosmin Administration in Patients with Chronic Venous Disorders on Selected Factors Affecting Angiogenesis / M. Feldo [et al.] // Molecules. 2019. Vol. 24(18). P. E3316. DOI: 10.3390/molecules24183316

30. Wojnar W., Kaczmarczyk-Sedlak I., Zych M. Diosmin ameliorates the effects of oxidative stress in lenses of streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. Pharmacol Rep. 2017. Vol. 69(5). P. 995-1000. DOI: 10.1016/j.pharep.2017.04.005

31. Diosmin Nanocrystal-Loaded Wafers for Treatment of Diabetic Ulcer: In Vitro and In Vivo Evaluation / N.M. Atia [et al.] // J Pharm Sci. 2019. Vol. 108(5). P. 1857-1871. DOI: 10.1016/j.xphs.2018.12.019

32. Protective effect of diosmin against diabetic neuropathy in experimental rats / D. Jain [et al.] // J Integr Med. 2014. Vol. 12(1). P. 35-41. DOI: 10.1016/S2095-4964(14)60001-7

33. The Benefits of the Citrus Flavonoid Diosmin on Human Retinal Pigment Epithelial Cells under High-Glucose Conditions / W.Y. Liu [et al.] // Molecules. 2017. Vol. 22(12). P. E2251. DOI: 10.3390/molecules22122251

34. Diosmin Modulates the NF-κB Signal Transduction Pathways and Downregulation of Various Oxidative Stress Markers in Alloxan-Induced Diabetic Nephropathy / S. Ahmed [et al.] // Inflammation. 2016. Vol. 39(5). P. 1783-97. DOI: 10.1007/s10753-016-0413-4

35. Diosmin, a Citrus Nutrient, Activates Imidazoline Receptors to Alleviate Blood Glucose and Lipids in Type 1-Like Diabetic Rats /

C.C. Hsu [et al.] // *Nutrients*. 2017. Vol. 9(7). P. E684. DOI: 10.3390/nu9070684

36. Antihyperglycaemic action of diosmin, a citrus flavonoid, is induced through endogenous β -endorphin in type I-like diabetic rats / C.C. Hsu [et al.] // *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2017. Vol. 44(5). P. 549-555. DOI: 10.1111/1440-1681.12739

37. El-Fawal R., El Fayoumi H.M., Mahmoud M.F. Effects of diosmin and crocin on metabolic syndrome-associated cardio-vascular complications in rats // *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2019. Vol. 392(12). P. 1523-1536. DOI: 10.1007/s00210-019-01700-8

38. El-Fawal R., El Fayoumi H.M., Mahmoud M.F. Diosmin and crocin alleviate nephropathy in metabolic syndrome rat model: Effect on oxidative stress and low grade inflammation // *Biomed Pharmacother*. 2018. Vol. 102. P. 930-937. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.03.162

39. In vitro-in vivo evaluation of chitosan-PLGA nanoparticles for potentiated gastric retention and anti-ulcer activity of diosmin / W.E. Abd ElHady [et al.] // *Int J Nanomedicine*. 2019. Vol. 14. P. 7191-7213. DOI: 10.2147/IJN.S213836

40. Shalkami A.S., Hassan M., Bakr A.G. Anti-inflammatory, antioxidant and anti-apoptotic activity of diosmin in acetic acid-induced ulcerative colitis // *Hum Exp Toxicol*. 2018. Vol. 7(1). P. 78-86. DOI: 10.1177/0960327117694075

41. Diosmin for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome [Electronic] / T. Li [et al.] // *Int J Gynaecol Obstet*. 2020. URL: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ijgo.13100> (дата обращения: 20.01.2020) DOI: 10.1002/ijgo.13100

42. Effect of Bioactive Phytochemicals from *Phlomis viscosa* Poiret on Wound Healing / L. Yarmolinsky [et al.] // *Plants (Basel)*. 2019. Vol. 8(12). P. E609. DOI: 10.3390/plants8120609

43. Shabani S., Mirshekar M.A. Diosmin is neuroprotective in a rat model of scopolamine-induced cognitive impairment // *Biomed Pharmacother*. 2018. Vol. 108. P. 1376-1383. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.127

44. Diosmin improved cognitive deficit and amplified brain electrical activity in the rat model of traumatic brain injury / M.A. Mirshekar [et al.] // *Biomed Pharmacother*. 2017. Vol. 93. P. 1220-1229. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.07.014

45. A Randomized Controlled Trial Evaluating the Effects of Diosmin in the Treat-

ment of Radicular Pain / Y. Wang [et al.] // *Biomed Res Int*. 2017. Vol. 2017. Article ID 6875968. DOI: 10.1155/2017/6875968

46. Central and peripheral antihyperalgesic effects of diosmin in a neuropathic pain model in rats / A.I. Carballo-Villalobos [et al.] // *Biomed Pharmacother*. 2018. Vol. 97. P. 310-320. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.077

47. Targeting Keap-1/Nrf-2 pathway and cytoglobin as a potential protective mechanism of diosmin and pentoxifylline against cholestatic liver cirrhosis / F.E.M. Ali [et al.] // *Life Sci*. 2018. Vol. 207. P. 50-60. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.05.048

48. Gelle P., Crepin G., Delahousse G. Varices in pregnancy. Use of Daflon // *Lille Med*. 1972. Vol. 17(7). P. 1466-8.

49. The interest and prospects of Daflon treatment in obstetrical and gynaecological practice / P. Muller [et al.] // *Rev Fr Gynecol Obstet*. 1973. Vol. 68(5). P. 345-9.

50. Buckshee K., Takkar D., Aggarwal N. Micronized flavonoid therapy in internal hemorrhoids of pregnancy // *Int J Gynaecol Obstet*. 1997. Vol. 57(2). P. 145-51.

51. Using phlebodia in pregnant women during preterm delivery / N. Milchev [et al.] // *Akush Ginekol (Sofia)*. 2008. Vol. 47(5). P. 7-9.

52. Lakhno I.V. Pathogenetic peculiarities of fetal distress in pregnant women with preeclampsia // *Georgian Med News*. 2013. Vol. 223. P. 11-6.

53. First epidemiological data for venotonics in pregnancy from the EFEMERIS database / I. Lacroix [et al.] // *Phlebology*. 2016. Vol. 31(5). P. 344-8. DOI: 10.1177/0268355515589679

54. Polish Gynecological Society. Recommendations of the Polish Gynecological Society expert panel on the use of Detramax in pregnancy // *Ginekol Pol*. 2015. Vol. 86(12). P. 962-5.

55. Комплексная оценка коррекции триметазидином морфофункциональных нарушений при АДМА-подобной преэклампсии / О.Е. Анциферова [и др.] // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии* 2019. Т. 18, N 1. С. 103-108.

56. Gureev V. New approaches of morfofunktsional pharmacological correction of violations of cardiovascular system in experimental Preeclampsia // *Research Results in Pharmacology*. 2016. Vol. 2(3). P. 11-27. DOI: <https://doi.org/10.18413/2500-235X-2016-2-3-11-27>

57. Protective role of hesperidin against γ -radiation-induced oxidative stress and apoptosis in rat testis / N.Z. Shaban [et al.] // Journal of Biological Research-Thessaloniki. 2017. Vol. 24. P. 5. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40709-017-0059-x>

58. Molecular mechanisms of the effects of the ethanolic extract of *Muntingia calabura* Linn. fruit on lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory mediators in macrophages / J.T. Lin [et al.] // Food Funct. 2017. Vol. 8(3). P. 1245-1253. DOI: 10.1039/c6fo01735e

59. Berkoz M. Diosmin suppresses the proinflammatory mediators in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 macrophages via NF- κ B and MAPKs signal pathways // Gen Physiol Biophys. 2019. Vol. 38(4). P. 315-324. DOI: 10.4149/gpb_2019010

60. A comparative study of the protective effect of different phlebotonic agents on endothelial cells in hypoxia / C. Michiels [et al.] // Phlebologie. 1991. Vol. 44(3). P. 779-86.

61. Moderate Effect of Flavonoids on Vascular and Renal Function in Spontaneously Hypertensive Rats / M.D. Paredes [et al.] // Nutrients. 2018. Vol. 10(8). P. E1107. DOI: 10.3390/nu10081107

62. Beneficial Effects of Different Flavonoids on Vascular and Renal Function in L-NAME Hypertensive Rats / M.D. Paredes [et al.] // Nutrients. 2018. Vol. 10(4). P. E484. DOI: 10.3390/nu10040484

63. Ma Y., Tan F., Yu S. Diosmin inhibits apoptosis of vascular endothelial cells in rats with traumatic deep vein thrombosis through JAK-STAT signaling pathway [Electronic] // Panminerva Med. 2019. URL: <https://www.minervamedica.it/en/journals/panminerva-medica/article.php?cod=R41Y9999N00A19092403> (дата обращения: 20.01.2020) DOI: 10.23736/S0031-0808.19.03718-2

64. Endotheliotropic effects of venotonic drugs in treatment of patients with varicose veins / R.E. Kalinin [et al.] // Angiol Sosud Khir. 2018. Vol. 24(4). P. 72-74.

65. Gurfinkel' I.I., Sasonko M.L., Talov N.A. Correction of blood microcirculation parameters and endothelial function in chronic venous insufficiency of lower limbs // Angiol Sosud Khir. 2017. Vol. 23(2). P. 89-95.

66. Diosmin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury through activating JAK2/STAT3 signal pathway in mice / X. Liu [et

al.] // Neuroscience. 2014. Vol. 268. P. 318-27. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.03.032

67. The effect of diosmin on pancreatic injury induced by hepatic ischemia reperfusion in rats / S.S. Kilicoglu [et al.] // Bratisl Lek Listy. 2013. Vol. 114(3). P. 119-24.

68. Effects of Citrus Flavonoids Against Microvascular Damage Induced by Hypoperfusion and Reperfusion in Rat Pial Circulation / T. Mastantuono [et al.] // Microcirculation. 2015. Vol. 22(5). P. 378-90. DOI: 10.1111/micc.12207

References

1. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. Semin Perinatol. 2012 Feb;36(1):56-9. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2011.09.011>

2. Krasnyi AM, Gracheva MI, Sadekova AA, et al. Complex Analysis of Total and Fetal DNA and Cytokines in Blood Plasma of Pregnant Women with Preeclampsia. Bull Exp Biol Med. 2018 Apr 16;164:721-725. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-018-4066-1>

3. Das UN. Cytokines, angiogenic, and antiangiogenic factors and bioactive lipids in preeclampsia. Nutrition. 2015 Sep;31(9):1083-95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.03.013>

4. Iriyama T, Wang W, Parchim NF, et al. Hypoxia-independent up regulation of placental hypoxia inducible factor 1 alpha gene expression contributes to the pathogenesis of preeclampsia. Hypertension 2015 Apr 6;65(6):1307-1315. DOI: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05314>

5. Voronkov AV, Gamzeleva OY. [Review of modern phlebotrophic preparations based on flavonoids as perspective endothelioprotectors in the treatment of chronic diseases of the veins]. Statsionarozameshchayushchiye tekhnologii: Ambulatornaya khirurgiya. 2019;(1-2):27-33. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21518/1995-1477-2019-1-2-27-33>

6. Lukyanova Y, Kolesnichenko P, Gureev V, et al. Evaluation of Pharmacological Correction of L-NAME-induced Endothelial Dysfunction, Platelet Aggregation and Venous Tone With Diosmin "Detralex 1000 mg". Research Results in Pharmacology. 2018;4(4):1-7. DOI: <https://doi.org/10.3897/rrpharmacology.4.31748>

7. Mansilha A, Sousa J. Pathophysiological Mechanisms of Chronic Venous Disease and Implications for Venoactive Drug Therapy. Int J Mol

Sci. 2018 Jun 5;19(6):E1669. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19061669>

8. Patel K, Gadewar M, Tahilyani V, et al. A review on pharmacological and analytical aspects of diosmetin: a concise report. *Chin J Integr Med.* 2013 Oct;19(10):792-800. DOI: 10.1007/s11655-013-1595-3

9. Ali TM, Abo-Salem OM, Esawy BH, et al. The Potential Protective Effects of Diosmin on Streptozotocin-Induced Diabetic Cardiomyopathy in Rats. *Am J Med Sci.* 2020 Jan;359(1):32-41. DOI: 10.1016/j.amjms.2019.10.005

10. Chitra J, Yacoob SAM, Kumar SS, et al. HPLC characterization, acute and sub-acute toxicity evaluation of bark extract of *Rhizophora mucronata* in Swiss Albino mice. *Heliyon.* 2019 Dec 31;6(1):e03108. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e03108

11. Hilary S, Tomás-Barberán FA, Martínez-Blázquez JA, et al. Polyphenol characterisation of *Phoenix dactylifera* L. (date) seeds using HPLC-mass spectrometry and its bioaccessibility using simulated in-vitro digestion/Caco-2 culture model. *Food Chem.* 2020 May 1;311:125969. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125969

12. Klimek-Szczykutowicz M, Szopa A, Ekiert H. Citrus limon (Lemon) Phenomenon-A Review of the Chemistry, Pharmacological Properties, Applications in the Modern Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries, and Biotechnological Studies. *Plants (Basel).* 2020 Jan 17;9(1):E119. DOI: 10.3390/plants9010119

13. Medina-Torres N, Espinosa-Andrews H, Trombotto S, et al. Ultrasound-Assisted Extraction Optimization of Phenolic Compounds from *Citrus latifolia* Waste for Chitosan Bioactive Nanoparticles Development. *Molecules.* 2019 Sep 30;24(19):E3541. DOI: 10.3390/molecules24193541

14. Currò D. The role of gut microbiota in the modulation of drug action: a focus on some clinically significant issues. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2018 Feb;11(2):171-183. DOI: 10.1080/17512433.2018.1414598

15. Chen X, Xu L, Guo S, et al. Profiling and comparison of the metabolites of diosmetin and diosmin in rat urine, plasma and feces using UHPLC-LTQ-Orbitrap MSn. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2019 Aug 15;1124:58-71. DOI: 10.1016/j.jchromb.2019.05.030

16. Li X, Hu X, Wang J, et al. Inhibition of autophagy via activation of PI3K/Akt/mTOR pathway contributes to the protection of hesperi-

din against myocardial ischemia/reperfusion injury. *International Journal of Molecular Medicine.* 2018;42(4):1917-1924. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3794>

17. Elhelaly AE, AlBasher G, Alfarraj S, et al. Protective effects of hesperidin and diosmin against acrylamide-induced liver, kidney, and brain oxidative damage in rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019 Dec;26(34):35151-35162. DOI: 10.1007/s11356-019-06660-3

18. Sliva J. Diosmin – still an important modality in the treatment of venous insufficiency. *Vnitr Lek.* 2019 Jan 1;65(7-8):524-526.

19. Lichota A, Gwozdziński L, Gwozdziński K. Therapeutic potential of natural compounds in inflammation and chronic venous insufficiency. *Eur J Med Chem.* 2019 Aug 15;176:68-91. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.04.075

20. Akhmetzianov RV, Bredikhin RA. Clinical efficacy of Detralex in treatment of women with pelvic varicose veins. *Angiol Sosud Khir.* 2018 Jan 1;24(2):93-99.

21. Rodnyansky DV, Fokin AA. Diosmin-containing phlebotropic drugs in varicose eczema. *Angiol Sosud Khir.* 2019;25(3):88-92. DOI: 10.33529/ANGI02019303

22. Feldo M, Woźniak M, Wójciak-Kosior M, et al. Influence of Diosmin Treatment on the Level of Oxidative Stress Markers in Patients with Chronic Venous Insufficiency. *Oxid Med Cell Longev.* 2018 Aug 28;2018:2561705. DOI: 10.1155/2018/2561705

23. Zagriadskiĭ EA, Bogomazov AM, Golovko EB. Conservative Treatment of Hemorrhoids: Results of an Observational Multicenter Study. *Adv Ther.* 2018 Nov;35(11):1979-1992. DOI: 10.1007/s12325-018-0794-x

24. Corsale I, Carrieri P, Martellucci J, et al. Flavonoid mixture (diosmin, troxerutin, rutin, hesperidin, quercetin) in the treatment of I-III degree hemorrhoidal disease: a double-blind multicenter prospective comparative study. *Int J Colorectal Dis.* 2018 Nov;33(11):1595-1600. DOI: 10.1007/s00384-018-3102-y

25. Bashankaev BN, Wexner SD, Arkharov AV. Common sense of diosmin administration in combined treatment of hemorrhoids. *Khirurgiia (Mosk).* 2018 Jan 1;(8. Vyp. 2):83-89. DOI: 10.17116/hirurgia201808283

26. Cacchio A, Di Carlo G, Vincenza C, et al. Effectiveness and safety of a mixture of diosmin, coumarin and arbutin (Linfadren®) in addition to conventional treatment in the management

of patients with post-trauma/surgery persistent hand edema: a randomized controlled trial. *Clin Rehabil.* 2019 May;33(5):904-912. DOI: 10.1177/0269215519829797

27. Cacchio A, Prencipe R, Bertone M, et al. Effectiveness and safety of a product containing diosmin, coumarin, and arbutin (Linfadren®) in addition to complex decongestive therapy on management of breast cancer-related lymphedema. *Support Care Cancer.* 2019 Apr;27(4):1471-1480. DOI: 10.1007/s00520-018-4514-5

28. Zudin AM, Gritsenko AG, Hadzhishvili IT. The effects of diosmin and hesperidin on capillary blood flow of upper limbs in patients with secondary Raynaud's syndrome. *Khirurgiia (Mosk).* 2017;5:60-66. DOI: 10.17116/hirurgia2017560-66

29. Feldo M, Wójciak-Kosior M, Sowa I, et al. Effect of Diosmin Administration in Patients with Chronic Venous Disorders on Selected Factors Affecting Angiogenesis. *Molecules.* 2019 Sep 12;24(18):E3316. DOI: 10.3390/molecules24183316

30. Wojnar W, Kaczmarczyk-Sedlak I, Zych M. Diosmin ameliorates the effects of oxidative stress in lenses of streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Pharmacol Rep.* 2017 Oct;69(5):995-1000. DOI: 10.1016/j.pharep.2017.04.005

31. Atia NM, Hazzah HA, Gaafar PME, et al. Diosmin Nanocrystal-Loaded Wafers for Treatment of Diabetic Ulcer: In Vitro and In Vivo Evaluation. *J Pharm Sci.* 2019 May;108(5):1857-1871. DOI: 10.1016/j.xphs.2018.12.019

32. Jain D, Bansal MK, Dalvi R, et al. Protective effect of diosmin against diabetic neuropathy in experimental rats. *J Integr Med.* 2014 Jan;12(1):35-41. DOI: 10.1016/S2095-4964(14)60001-7

33. Liu WY, Liou SS, Hong TY, et al. The Benefits of the Citrus Flavonoid Diosmin on Human Retinal Pigment Epithelial Cells under High-Glucose Conditions. *Molecules.* 2017 Dec 18;22(12):E2251. DOI: 10.3390/molecules22122251

34. Ahmed S, Mundhe N, Borgohain M, et al. Diosmin Modulates the NF- κ B Signal Transduction Pathways and Downregulation of Various Oxidative Stress Markers in Alloxan-Induced Diabetic Nephropathy. *Inflammation.* 2016 Oct;39(5):1783-97. DOI: 10.1007/s10753-016-0413-4

35. Hsu CC, Lin MH, Cheng JT, et al. Diosmin, a Citrus Nutrient, Activates Imidazoline Receptors to Alleviate Blood Glucose and Lipids

in Type 1-Like Diabetic Rats. *Nutrients.* 2017 Jun 30;9(7):E684. DOI: 10.3390/nu9070684

36. Hsu CC, Lin MH, Cheng JT, et al. Anti-hyperglycaemic action of diosmin, a citrus flavonoid, is induced through endogenous β -endorphin in type I-like diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017 May;44(5):549-555. DOI: 10.1111/1440-1681.12739

37. El-Fawal R, El Fayoumi HM, Mahmoud MF. Effects of diosmin and crocin on metabolic syndrome-associated cardio-vascular complications in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2019 Dec;392(12):1523-1536. DOI: 10.1007/s00210-019-01700-8

38. El-Fawal R, El Fayoumi HM, Mahmoud MF. Diosmin and crocin alleviate nephropathy in metabolic syndrome rat model: Effect on oxidative stress and low grade inflammation. *Biomed Pharmacother.* 2018 Jun;102:930-937. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.03.162

39. Abd ElHady WE, Mohamed EA, Soliman OAE, et al. In vitro-in vivo evaluation of chitosan-PLGA nanoparticles for potentiated gastric retention and anti-ulcer activity of diosmin. *Int J Nanomedicine.* 2019 Sep 4;14:7191-7213. DOI: 10.2147/IJN.S213836

40. Shalkami AS, Hassan M, Bakr AG. Anti-inflammatory, antioxidant and anti-apoptotic activity of diosmin in acetic acid-induced ulcerative colitis. *Hum Exp Toxicol.* 2018 Jan;37(1):78-86. DOI: 10.1177/0960327117694075

41. Li T, Zhu W, Liu G, et al. Diosmin for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Int J Gynaecol Obstet* [Internet]. 2020 Jan 10 [cited 2020 January 20]. Available from: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ijgo.13100> DOI: 10.1002/ijgo.13100

42. Yarmolinsky L, Budovsky A, Yarmolinsky L, et al. Effect of Bioactive Phytochemicals from *Phlomis viscosa* Poir on Wound Healing. *Plants (Basel).* 2019 Dec 16;8(12):E609. DOI: 10.3390/plants8120609

43. Shabani S, Mirshekar MA. Diosmin is neuroprotective in a rat model of scopolamine-induced cognitive impairment. *Biomed Pharmacother.* 2018 Dec;108:1376-1383. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.127

44. Mirshekar MA, Fanaei H, Keikhaei F, et al. Diosmin improved cognitive deficit and amplified brain electrical activity in the rat model of traumatic brain injury. *Biomed Pharmacother.* 2017 Sep;93:1220-1229. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.07.014

45. Wang Y, Fang X, Ye L, et al. A Randomized Controlled Trial Evaluating the Effects of Diosmin in the Treatment of Radicular Pain. *Biomed Res Int.* 2017;2017:6875968. DOI: 10.1155/2017/6875968
46. Carballo-Villalobos AI, González-Trujano ME, Pellicer F, et al. Central and peripheral anti-hyperalgesic effects of diosmin in a neuropathic pain model in rats. *Biomed Pharmacother.* 2018 Jan;97:310-320. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.077
47. Ali FEM, Bakr AG, Abo-Youssef AM, et al. Targeting Keap-1/Nrf-2 pathway and cytoglobin as a potential protective mechanism of diosmin and pentoxifylline against cholestatic liver cirrhosis. *Life Sci.* 2018 Aug 15;207:50-60. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.05.048
48. Gelle P, Crepin G, Delahousse G. Varices in pregnancy. Use of Daflon. *Lille Med.* 1972 Nov;17(7):1466-8.
49. Muller P, Wolff F, Schick RA, et al. The interest and prospects of Daflon treatment in obstetrical and gynaecological practice. *Rev Fr Gynecol Obstet.* 1973 May;68(5):345-9.
50. Buckshee K, Takkar D, Aggarwal N. Micronized flavonoid therapy in internal hemorrhoids of pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet.* 1997 May;57(2):145-51.
51. Milchev N, Batashki I, Markova D, et al. Using phlebodia in pregnant women during preterm delivery. *Akush Ginekol (Sofia).* 2008;47(5):7-9.
52. Lakhno IV. Pathogenetic peculiarities of fetal distress in pregnant women with preeclampsia. *Georgian Med News.* 2013 Oct;223:11-6.
53. Lacroix I, Beau AB, Hurault-Delarue C, et al. First epidemiological data for venotonics in pregnancy from the EFEMERIS database. *Phlebology.* 2016 Jun;31(5):344-8. DOI: 10.1177/0268355515589679
54. Polish Gynecological Society. Recommendations of the Polish Gynecological Society expert panel on the use of Detramax in pregnancy. *Ginekol Pol.* 2015 Dec;86(12):962-5.
55. Antsiferova OE, Yurakova AV, Lokteva TI, et al. [Comprehensive assessment of the correction of morphofunctional disorders in ADMA preeclampsia by trimetazidine]. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii.* 2019;18(1):103-108. Russian.
56. Gureev V. New approaches of morphofunctional pharmacological correction of violations of cardiovascular system in experimental Preeclampsia. *Research Results in Pharmacology.* 2016;2(3):11-27. DOI: <https://doi.org/10.18413/2500-235X-2016-2-3-11-27>
57. Shaban NZ, Zahran AMA, El-Rashidy FH, et al. Protective role of hesperidin against γ -radiation-induced oxidative stress and apoptosis in rat testis. *Journal of Biological Research-Thessaloniki.* 2017;24:5. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40709-017-0059-x>
58. Lin JT, Chang YY, Chen YC, et al. Molecular mechanisms of the effects of the ethanolic extract of *Muntingia calabura* Linn. fruit on lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory mediators in macrophages. *Food Funct.* 2017 Mar 22;8(3):1245-1253. DOI: 10.1039/c6fo01735e
59. Berkocz M. Diosmin suppresses the pro-inflammatory mediators in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 macrophages via NF- κ B and MAPKs signal pathways. *Gen Physiol Biophys.* 2019 Jul;38(4):315-324. DOI: 10.4149/gpb_2019010
60. Michiels C, Arnould T, Houbion A, et al. A comparative study of the protective effect of different phlebotonic agents on endothelial cells in hypoxia. *Phlebologie.* 1991 Jul-Oct;44(3):779-86.
61. Paredes MD, Romecín P, Atucha NM, et al. Moderate Effect of Flavonoids on Vascular and Renal Function in Spontaneously Hypertensive Rats. *Nutrients.* 2018 Aug 16;10(8):E1107. DOI: 10.3390/nu10081107
62. Paredes MD, Romecín P, Atucha NM, et al. Beneficial Effects of Different Flavonoids on Vascular and Renal Function in L-NAME Hypertensive Rats. *Nutrients.* 2018 Apr 13;10(4):E484. DOI: 10.3390/nu10040484
63. Ma Y, Tan F, Yu S. Diosmin inhibits apoptosis of vascular endothelial cells in rats with traumatic deep vein thrombosis through JAK-STAT signaling pathway. *Panminerva Med [Internet].* 2019 Sep 24 [cited 2020 January 20]. Available from: <https://www.minervamedica.it/en/journals/panminerva-medica/article.php?cod=R41Y9999N00A19092403> DOI: 10.23736/S0031-0808.19.03718-2
64. Kalinin RE, Suchkov IA, Kamaev AA, et al. Endotheliotropic effects of venotonic drugs in treatment of patients with varicose veins. *Angiol Sosud Khir.* 2018 Jan 1;24(4):72-74.
65. Gurfinkel' II, Sasonko ML, Talov NA. Correction of blood microcirculation parameters and endothelial function in chronic venous insufficiency of lower limbs. *Angiol Sosud Khir.* 2017 Jan 1;23(2):89-95.
66. Liu X, Zhang X, Zhang J, et al. Diosmin protects against cerebral ischemia/reperfusion in-

jury through activating JAK2/STAT3 signal pathway in mice. *Neuroscience*. 2014 May 30;268:318-27. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.03.032

67. Kilicoglu SS, Tanrikulu Y, Kismet K, et al. The effect of diosmin on pancreatic injury induced by hepatic ischemia reperfusion in rats. *Bratisl Lek Listy*. 2013 Jan 1;114(3):119-24.

68. Mastantuono T, Battiloro L, Sabatino L, et al. Effects of Citrus Flavonoids Against Microvascular Damage Induced by Hypoperfusion and Reperfusion in Rat Pial Circulation. *Microcirculation*. 2015 Jul;22(5):378-90. DOI: 10.1111/micc.12207

Статья поступила в редакцию 15 октября 2019 г.
Поступила после доработки 10 декабря 2019 г.
Принята к печати 25 декабря 2019 г.

Received 15 October 2019
Revised 10 December 2019
Accepted 25 December 2019

Информация об авторах

Оксана Евгеньевна Анциферова, аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: AnciferovaO@ya.ru, ORCID: 0000-0002-9456-9569.

Владимир Владимирович Гуреев, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: produmen@yandex.ru ORCID: 0000-0003-1433-1225.

Анастасия Владимировна Гуреева, студентка 3-го курса, лечебный факультет, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: nastasyi.207@gmail.com, ORCID: 0000-00031719-7316.

Елена Владимировна Авдеева, доктор биологических наук, профессор кафедры нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: avdeyeva_ev@mail.ru.

Юлия Александровна Михайлова, врач-кардиолог, отделение сосудистой хирургии, ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», E-mail: myil75@mail.ru, ORCID: 0000-0002-1103-6266.

Дмитрий Борисович Кузьмин, врач-уролог, ОГБУЗ «Городская больница №2 г. Белгорода», E-mail: dmitriy.kuzmin.79@bk.ru, ORCID: 0000-0002-0257-6340.

Information about the authors

Oksana E. Antsiferova, Post-graduate Student of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, E-mail: AnciferovaO@ya.ru, ORCID: 0000-0002-9456-9569.

Vladimir V. Gureev, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, E-mail: produmen@yandex.ru ORCID: 0000-0003-1433-1225.

Anastasia V. Gureeva, 3rd-year Student, Medical Faculty, Kursk State Medical University, E-mail: nastasyi.207@gmail.com, ORCID: 0000-00031719-7316.

Elena V. Avdeeva, Doctor of Biological Science, Professor of the Department of Normal Physiology, Kursk State Medical University, E-mail: avdeyeva_ev@mail.ru.

Yulia A. Mikhailova, Cardiologist, Department of Vascular Surgery, St. Joseph Belgorod Regional Clinical Hospital, E-mail: myil75@mail.ru, ORCID: 0000-0002-1103-6266.

Dmitriy B. Kuzmin, Urologist, Belgorod Regional State City Hospital №2, E-mail: dmitriy.kuzmin.79@bk.ru, ORCID: 0000-0002-0257-6340.



УДК 618.3-008.6-08-039.71

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-8

О.В. Северинова¹,
Г.А. Лазарева¹,
Л.А. Жилинкова²,
А.В. Гуреева¹

Фармакологические эффекты комбинированного введения низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и метилдопы при ADMA-подобной преэклампсии

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация

² Государственное образовательное автономное учреждение высшего образования Курской области «Курская академия государственной и муниципальной службы», ул. Станционная, д. 9, г. Курск, 305044, Российская Федерация

Автор для переписки: О.В. Северинова (frendic@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Одной из ведущих причин, приводящих к серьёзным осложнениям, длительной инвалидности и летальному исходу у матерей и младенцев, являются гипертензивные нарушения, а в частности преэклампсия, на долю которой приходится от 2 до 8 % от общего количества беременностей в мире. В структуре перинатальной смертности гипертензивные расстройства во время беременности составляют до 25% от общего количества случаев, а также занимают главенствующие места в структуре причин материнской смертности.

Цель исследования: Изучить эффективность низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и её комбинации с метилдолой на функциональные параметры, а также на росто-весовые показатели плодов крыс с ADMA – подобной преэклампсией. **Материалы и методы:** Исследование выполнено на 100 самках крыс линии Wistar, массой 250-300 гр. В эксперименте воспроизводили ADMA-подобную модель преэклампсии. Для оценки возникающих морфофункциональных нарушений использовали следующие параметры: артериальное давление, коэффициент эндотелиальной дисфункции, микроциркуляцию в плаценте, протеинурию, содержание жидкости в большом сальнике, концентрацию конечных метаболитов в плазме крови, морфометрические показатели плодов.

Результаты: При оценке морфофункциональных нарушений у животных с ADMA-подобной преэклампсией, в ходе проведенного исследования установлено положительное влияние низкой дозы ацетилсалициловой кислоты в комбинации с метилдолой. **Заключение:** Комбинированное введение малой дозы ацетилсалициловой кислоты и метилдопы оказывает выраженную протективную активность при коррекции морфофункциональных нарушений у животных с ADMA-подобной преэклампсией и является перспективным направлением в лечении гипертензивных нарушений во время беременности.

Ключевые слова: ацетилсалициловая кислота; метилдопа; микроциркуляция; ишемические нарушения в плаценте

Для цитирования: Северинова ОВ, Лазарева ГА, Жилинкова ЛА, и др. Фармакологические эффекты комбинированного введения низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и метилдопы при ADMA-подобной преэклампсии. Науч-

ные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):94-106. DOI:
10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-8

Olga V. Severinova¹,
Galina A. Lazareva¹,
Lyudmila A. Zhilinkova²,
Anastasia V. Gureeva¹

**Pharmacological effects of the combined administration
of a small dose of Acetylsalicylic acid and methyldopa
in ADMA-like preeclampsia**

¹ Kursk State Medical University,

3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia

² Kursk Academy of State and Municipal Service,

9 Stantsionnaya St., Kursk, 305044, Russia

Corresponding author: Olga V. Severinova (frendic@mail.ru)

Abstract

Background: Hypertensive disorders, in particular preeclampsia, which accounts for 2 to 8% of the total number of pregnancies in the world, are one of the leading causes of serious complications, prolonged disability and death in mothers and babies. In the structure of perinatal mortality, hypertensive disorders during pregnancy account for up to 25% of the total number of cases, and also occupy the leading places in the structure of causes of maternal mortality. **The aim of the study:** to study the protective activity of a small dose of acetylsalicylic acid and its combination with methyldopa in the correction of ADMA-like preeclampsia. **Materials and methods:** The study was performed on 150 female Wistar rats weighing 250-300 g. An ADMA-like model of preeclampsia was reproduced in the experiment. The following parameters were used to assess emerging morphofunctional disorders like blood pressure, coefficient of endothelial dysfunction, microcirculation in the placenta, proteinuria, fluid content in the greater omentum, concentration of final metabolites in blood plasma, fetal morphometric parameters. **Results:** When assessing morphofunctional disorders in animals with ADMA-like preeclampsia, the study has revealed a positive effect of a small dose of acetylsalicylic acid in combination with methyldopa. **Conclusion:** The combined administration of a small dose of acetylsalicylic acid and methyldopa has a pronounced protective activity in the correction of morphofunctional disorders in animals with ADMA-like preeclampsia and is a promising direction in the treatment of hypertensive disorders during pregnancy.

Keywords: acetylsalicylic acid; methyldopa; microcirculation; ischemic disorders in the placenta

For citation: Severinova OV, Lazareva GA, Zhilinkova LA, et al. Pharmacological effects of the combined administration of a small dose of Acetylsalicylic acid and methyldopa in ADMA-like preeclampsia. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):94-106. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-8

Введение. Гипертензивные расстройства во время беременности до сих пор остаются одной из наиболее частых причин материнской и перинатальной смертности по всему миру. По примерным оценкам, от 2 до 8% беременностей по

всему миру осложняются преэклампсией [1, 2, 3]. В структуре перинатальной смертности гипертензивные расстройства во время беременности составляют до 25% от общего количества случаев, а также занимают главенствующие места в структу-

ре причин материнской смертности [1]. В последние годы возрастает количество исследований, указывающих на то, что основную роль в развитии преэклампсии играет нарушение функционального состояния эндотелия сосудов, что влечет за собой развитие генерализованного спазма, повышение цифр артериального давления и, как следствие ишемические нарушения в органах [4]. Эндотелий является мощным эндокринным органом, участвующим в регуляции тонуса сосудов и поддержании их нормального строения, контроле реологических свойств крови и процессов местного воспаления. В норме антикоагулянтная и антитромботическая активность эндотелия преобладают над прокоагулянтными свойствами, однако в условиях повреждения данный баланс смещается в сторону прокоагуляции [5]. В настоящее время возрастает количество данных, свидетельствующих о том, что изменения ангиогенных факторов и коагулопатии ответственны за клинические проявления данного состояния. Преэклампсия является системным заболеванием, которое характеризуется интенсивным воспалительным ответом, эндотелиальным поражением, агрегацией тромбоцитов, активацией системы свертывания и повышенным генерализованным сосудистым спазмом [6]. Генерализованный спазм сосудов, вызванный активацией эндотелия, приводит к коварному и прогрессирующему процессу, ведущему к полиорганной недостаточности. Система коагуляции активируется путем контакта тромбоцитов с поврежденным эндотелием, что приводит к увеличению расходования, а также к образованию тромбоцитов в костном мозге [7]. Молодые тромбоциты, выброшенные в кровоток, имеют более высокую склонность к агрегации. Контакт тромбоцитов с поврежденным эндотелием может представлять собой начальную стадию коагуляционного каскада, которая приводит к увеличению потребления тромбоцитов в маточно-плацентарном русле с последующим уменьшением количества циркулирующих тромбоцитов на первой фазе процесса. Впоследствии мо-

жет наблюдаться компенсаторное увеличение производства тромбоцитов костным мозгом [8]. В литературе есть данные, которые указывают на то, что при гипертензии у беременных время выработки тромбоцитов значительно сокращается по сравнению с нормально протекающей беременностью [8, 9]. Спазм сосудов облегчает адгезию тромбоцитов, обычно, при повреждении сосуда субстратом для адгезии активированных тромбоцитов является субэндотелиальная поверхность, а именно коллаген, в котором и происходит необратимая агрегация тромбоцитов. При этом активированные тромбоциты используются локально и практически не поступают в системный кровоток [9]. При развитии преэклампсии этот процесс происходит в других условиях и приобретает генерализованный характер. Процесс взаимодействия тромбоцитов и эндотелиоцитов в патогенезе развития преэклампсии еще требует дальнейшего изучения, но объединение таковых в отдельное звено уже в рамках гемостаза подчеркивает их тесную связь. Механизм запуска сосудистотромбоцитарного звена гемостаза при повреждении сосуда заключается в многостадийной активации тромбоцитов при взаимодействии с субэндотелиальными клетками [10].

Использование низких доз аспирина рекомендуется женщинам, имеющим факторы риска развития преэклампсии, для снижения заболеваемости и смертности, связанных с данным осложнением [11-14]. Благоприятное влияние аспирина на течение преэклампсии, объясняется влиянием ацетилсалициловой кислоты на активность тромбоцитов. Ингибируя синтез тромбоксана A_2 , аспирин уменьшает активацию тромбоцитов [15].

Понимание фармакокинетических и фармакодинамических особенностей данного препарата позволяет использовать низкие дозы АСК в профилактических целях, как средство, обладающее антитромботическим эффектом [13].

Профилактический эффект от приема низких доз ацетилсалициловой кислоты у

беременных с нарушениями в тромбоцитарном звене гемостаза связан с тем, что ацетилсалициловая кислота повышает уровень простагландинов снижая при этом уровень тромбоксана – протромботического фактора тромбоцитов в следствие чего нормализуются функциональные свойства тромбоцитов, а также функциональное состояние эндотелия сосудов. При преэклампсии дисфункция эндотелия, а также нарушения в системе гемостаза формируются еще на доклинической стадии течения данного осложнения. Основными провоцирующими звеньями иммунновоспалительного каскада выступают тромбоциты и эндотелиальные клетки, которые провоцируют воспалительную реакцию и гемокоагуляцию на микроциркуляторном уровне. С точки зрения механизмов формирования преэклампсии и плацентарной недостаточности патогенетически обоснованным можно считать прием низких доз АСК у беременных высокого риска с профилактической целью [16, 17, 18].

Первичная профилактика преэклампсии является предметом споров и активных научных исследований, в рамках которых особое внимание уделяется применению противовоспалительных препаратов и питательных микроэлементов, в том числе кальция, витамина D и витаминных антиоксидантов С и Е. Единственным безусловно эффективным методом лечения преэклампсии является прерывание беременности / рождение плода и последа, хотя у некоторых женщин с преэклампсией может наблюдаться временное ухудшение в послеродовом периоде. Оказание помощи женщинам с преэклампсией имеет целью минимизацию дальнейших осложнений, связанных с беременностью, предотвращение необоснованного преждевременного родоразрешения и повышение числа благоприятных исходов у матерей и младенцев [19]. Современные методы лечения и профилактики преэклампсии направлены в первую очередь на коррекцию, непосредственно, доминирующего синдрома и с недостаточным уровнем учета патогенетической составляющей. Вместе с тем нужно

отметить, что в современной литературе имеются сведения об экспериментальных работах, посвященных различным подходам коррекции, моделируемой преэклампсии. В качестве патофизиологически обоснованных подходов в них используются способы направленные на: коррекцию ишемии плаценты с использованием препаратов улучшающих глубину плацентации и кровотоков в спиральных артериях матки, а так же использование дистанционного ишемического preconditionирования и фармакологического preconditionирования, как активаторов процессов естественной цитопротекции, улучшение нарушенной функции эндотелия и восстановление активности eNOS, коррекция системы гемостаза, устранение проявлений «Окислительного стресса», коррекция баланса цитокинов и других гуморальных факторов.

Цель исследования. Изучить эффективность низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и её комбинации с метилдопом на функциональные параметры, а также на росто-весовые показатели плодов крыс с ADMA – подобной преэклампсией.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на 100 самках крыс линии Wistar, массой 250-300 гр. В эксперименте воспроизводили ADMA-подобную модель преэклампсии путем введения неселективного блокатора NOS N-нитро-L-аргинин-метилового эфира (L-NAME) 25 мг/кг/сут внутрибрюшинно с 14-х по 20-е сутки беременности.

Группы беременных животных были получены путем подсаживания к самкам (3 животных) самцов (2 животных) на сутки, затем животных рассаживали. Факт наличия беременности устанавливали на 10-14 сутки путем пальпации передней брюшной стенки в условиях медикаментозного сна. Затем беременные крысы были рандомизированы на 5 групп: 1 группа контрольная – интактные (животные с физиологически протекающей беременностью), 2 группа контрольная – животные с ADMA-подобной преэклампсией, которым вводили неселективный блокатор NOS N-нитро-

L-аргинин-метилового эфира (L-NAME) (25 мг/кг/сут) внутривбрюшинно с 14-х по 20-е сутки беременности), 3 группа – L-NAME + метилдопа, который вводили в дозе 0,043 г/кг 2 раза в сутки перорально с 14-х по 20-е сутки беременности, 4 группа L-NAME + ацетилсалициловая кислота в дозе 10 мг/кг/сут перорально с 14-х по 20-е сутки беременности; 5 группа – L-NAME + ацетилсалициловая кислота в дозе 10 мг/кг/сут + метилдопа в дозе 0,043 г/кг/сут х 2 р/сут с 14-х по 20-е сутки беременности путь введения – перорально. На 21 сутки гестации экспериментальное животное наркотизировали путем внутри-

брюшинной инъекции хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг массы тела, после чего проводились функциональные тесты.

Результаты и их обсуждение. При введении низкой дозы ацетилсалициловой кислоты животным с ADMA-подобной преэклампсией было выявлено статистически значимое ($p < 0,05$) снижение уровня артериального давления по отношению к группе «нелеченых» животных, однако, при введении комбинации низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и метилдопы данный показатель практически достигал уровня животных с физиологически протекающей беременностью (табл. 1).

Таблица 1

Результаты коррекции ADMA-подобной преэклампсии низкой дозой ацетилсалициловой кислоты и в комбинации с метилдолой у крыс ($M \pm m$; $N=10$)

Table 1

Results of ADMA-like preeclampsia correction with a small dose of acetylsalicylic acid and in combination with methyldopa in rats ($M \pm m$; $N=10$)

Показатель Группа животных	САД (мм. рт.ст)	ДАД (мм. рт.ст)	КЭД (усл. ед.)	Микроциркуляция (ПЕд.)
Интактные животные	127,6 $\pm$ 1,5 ^y	91,9 $\pm$ 5,63 ^y	1,32 $\pm$ 0,8 ^y	487,9 $\pm$ 22,56 ^y
L-NAME	200,5 $\pm$ 6,32 [*]	151 $\pm$ 5,69 [*]	3,13 $\pm$ 0,21 [*]	210,2 $\pm$ 11,18 [*]
L-NAME+ Метлдопа 0,043г/кг х 2р/сут	138,8 $\pm$ 3,27 ^{*y}	99,4 $\pm$ 4,36 ^y	2,53 $\pm$ 0,18 ^{*y}	275,3 $\pm$ 15,71 ^{*y}
L-NAME+АСК 10мг/кг/сут	192,3 $\pm$ 7,62 [*]	146,5 $\pm$ 4,19 [*]	1,78 $\pm$ 0,11 ^{*y}	414 $\pm$ 14,7 ^{*y}
L-NAME + АСК 10мг/кг/сут + Метилдопа 0.043г/кг х 2р/сут	131,0 $\pm$ 2,0 ^y	92,4 $\pm$ 2,8 ^y	1,51 $\pm$ 0,1 ^y	469,8 $\pm$ 15,44 ^y

Примечание: САД, ДАД – систолическое и диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.); КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции (усл.ед.); ПЕд – перфузионные единицы; АСК - ацетилсалициловая кислота; * – $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; ^y – $p < 0,05$ в сравнении с группой L-NAME; ^{*y} – $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных и группой L-NAME

Note: САД, ДАД – systolic and diastolic blood pressure (mm Hg); КЭД – endothelial dysfunction coefficient (conv.); ПЕд – perfusion units; АСК – acetylsalicylic acid; * – $p < 0.05$ compared to the intact animal group; ^y – $p < 0.05$ compared to the L-name group; ^{*y} – $p < 0.05$ compared to the intact animal group and compared to the L-name group

При оценке результатов показателей функционального состояния эндотелия сосудов было выявлено статистически зна-

чимое ($p < 0,05$) улучшение показателей коэффициента эндотелиальной дисфункции животных с ADMA-подобной преэкламп-

сией, которым вводились низкие дозы ацетилсалициловой кислоты по отношению к группе «нелеченых» животных. При введении метилдопы в качестве монотерапии значимого протективного эффекта на состояние эндотелия не выявлено. При введении комбинации низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и метилдопы коэффициент эндотелиальной дисфункции практически достигал уровня интактных животных (табл. 1).

При оценке уровня концентрации конечных метаболитов оксида азота в плазме

у крыс с ADMA – подобной преэклампсией было выявлено статистически значимое ($p<0,05$) по отношению к группе «нелеченых» животных увеличение показателей у групп животных с ADMA-подобной преэклампсией, которым вводились низкие дозы ацетилсалициловой кислоты в комбинации с метилдой, в то время как при использовании исследуемых фармакологических агентов в качестве монотерапии данный показатель был менее выражен (табл. 2).

Таблица 2

Оценка функциональных параметров у крыс с ADMA-подобной преэклампсией при введении низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и её комбинации с метилдой ($M\pm m$; $N=10$)

Table 2

Evaluation of functional parameters in rats with ADMA-like preeclampsia after administration of a low dose of acetylsalicylic acid and its combination with methyldopa ($M\pm m$; $N=10$)

Показатель Группа животных	NO (ммоль/л)	Протеинурия (г/л)	Отек большого сальника (%)
Интактные животные	$2,28\pm 0,05^y$	$0,23\pm 0,051^y$	$44,39\pm 1,62^y$
L-NAME	$1,3\pm 0,02^*$	$2,2\pm 0,177^*$	$55,02\pm 1,74^*$
L-NAME+ Метилдопа 0,043г/кг х 2р/сут	$1,54\pm 0,04^{*y}$	$1,22\pm 0,103^{*y}$	$49,43\pm 1,64^{*y}$
L-NAME+АСК 10мг/кг/сут	$1,75\pm 0,03^{*y}$	$0,86\pm 0,147^{*y}$	$49,33\pm 1,94^y$
L-NAME + АСК 10мг/кг/сут + Метилдопа 0.043г/кг х 2р/сут	$2,12\pm 0,03^y$	$0,33\pm 0,09^y$	$44,32\pm 2,1^y$

Примечание: NO – уровень оксида азота (ммоль/л); * – $p<0,05$ в сравнении с группой интактных животных; y – $p<0,05$ в сравнении с группой L-NAME; *y – $p<0,05$ в сравнении с группой интактных животных и группой L-NAME

Note: NO – nitric oxide level ($\mu\text{mol/l}$); * – $p<0.05$ compared to the intact animal group; y – $p<0.05$ compared to the L-name group; *y – $p<0.05$ compared to the intact animal group and compared to the L-name group

Введение низкой дозы ацетилсалициловой кислоты, как и метилдопы животным с экспериментальной преэклампсией оказывало статистически значимое ($p<0,05$) снижение концентрации белка в моче у экспериментальных животных, однако комбинированное введение исследуемых фармакологических агентов снижало протеинурию практически до уровня жи-

вотных с физиологически протекающей беременностью (табл. 2).

Исследование содержания жидкости в тканях большого сальника у животных с экспериментальной преэклампсией выявлено статистически значимое ($p<0,05$) снижение данного показателя при сочетанном введении низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и метилдопы в сравне-

нии с группой «нелеченных» животных и достижением его уровня интактных животных (табл. 2).

Исследование результатов коррекции росто-весовых показателей у плодов при экспериментальной преэклампсии показало повышение массы тела плодов в

группе с сочетанным введением ацетилсалициловой кислоты и метилдопы (табл. 3). При этом нужно отметить, что соотношение роста и массы плода приближалось к уровню статистически не отличимого от уровня интактных животных.

Таблица 3

Влияние низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и её комбинации с метилдопой на росто-весовые показатели плодов при ADMA-подобной преэклампсии у крыс ($M \pm m$; $n=10$)

Table 3

Effect of a low dose of acetylsalicylic acid and its combination with methyldopa on fetal growth and weight indices in ADMA-like preeclampsia in rats ($M \pm m$; $n=10$)

Показатель Группа животных	Масса плодов, г	Рост плодов, мм	Росто-весовое соотношение плодов, мм/г
Интактные животные	$1,56 \pm 0,03^y$	$23,00 \pm 0,47$	$14,77 \pm 0,15^y$
L-NAME	$1,44 \pm 0,03^*$	$23,3 \pm 0,45$	$16,22 \pm 0,13^*$
L-NAME+ Метлдопа 0,043г/кг х 2р/сут	$1,53 \pm 0,03^y$	$24,05 \pm 0,41$	$15,74 \pm 0,16^{y*}$
L-NAME+АСК 50мг/кг/сут	$1,54 \pm 0,03^y$	$23,75 \pm 0,48$	$15,47 \pm 0,13^{*y}$
L-NAME + АСК 50мг/кг/сут + Метилдопа 0.043г/кг х 2р/сут	$1,6 \pm 0,04^y$	$23,65 \pm 0,54$	$17,86 \pm 0,11^y$

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; y – $p < 0,05$ в сравнении с группой L-NAME; *y – $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных и группой L-NAME

Note: * – $p < 0.05$ compared to the intact animal group; y – $p < 0.05$ compared to the L-name group; *y – $p < 0.05$ compared to the intact animal group and compared to the L-name group

Изучение микропрепаратов плаценты в группе **контрольных животных** с моделированием гестоза были выявлены хорошо выраженные признаки деструктивно-дистрофических изменений плаценты.

При микроскопическом изучении материнской части или базальной зоны плаценты было выявлено снижение плотности клеток трофобласта, расширение и запустевание лакун с материнской кровью, большое морфологическое разнообразие децидуальных клеток. На границе базальной зоны и децидуальной оболочки визуализируются значительные по протяженно-

сти участки круглоклеточной инфильтрации и локальные очаги некроза, а также, расширенные, кровенаполненные с явлениями тромбоза и отложением фибриновых нитей кровеносные сосуды. Очаги кровоизлияний в окружающие ткани плаценты. В поле зрения определяются оптически пустые децидуальные клетки на фоне клеток с абсолютно сохранными структурами. Следует отметить, что толщина губчатой части плаценты, по отношению к лабиринтному отделу несколько увеличена (рис. 1).

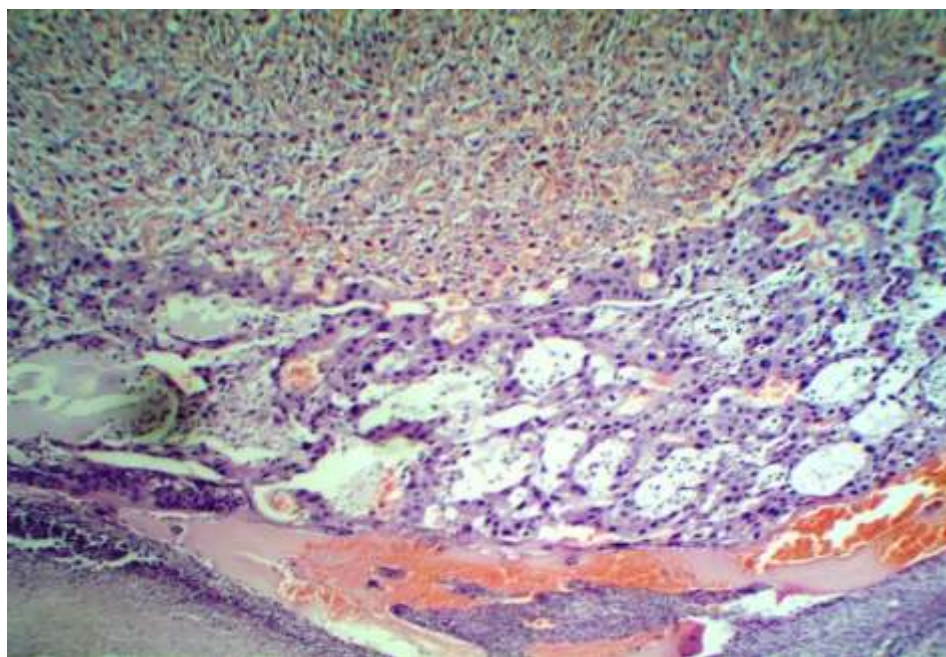


Рис. 1. Микрофотография плаценты на 21-е сутки гестации у контрольных животных с моделированием гестоза. Наблюдается расширение и запустевание лакун с материнской кровью, большое морфологическое разнообразие децидуальных клеток. Визуализируются значительные по протяженности участки круглоклеточной инфильтрации и локальные очаги некроза. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

Fig. 1. A micrograph of the placenta on the 21st day of gestation in control animals with modeling of gestosis. There is an expansion and desolation of lacunae with maternal blood, a large morphological diversity of decidual cells. Significantly long sections of squamous cell infiltration and local foci of necrosis are visualized. Hematoxylin and eosin stain. SW x200.

Фармакологическая коррекция выявленных морфологических изменений структур плаценты на 21-е сутки гестации низкой дозой ацетилсалициловой кислоты в комбинации с метилдопой имела положительную динамику. На микропрепаратах хорошо визуализируются плодовая и материнская части плаценты. Со стороны материнской части определяется децидуальная оболочка, состоящая из светлых удлинённых клеток. Основную площадь

материнской части плаценты составляет трофоспонгиум, представленный базофильными отростчатыми клетками и гликогенными островками. Плотность децидуальных клеток несколько снижена. В поле зрения определяются расширенные лакуны с материнской кровью. По его периферии определяются участки круглоклеточной инфильтрации, очагов некроза нет (рис. 2).

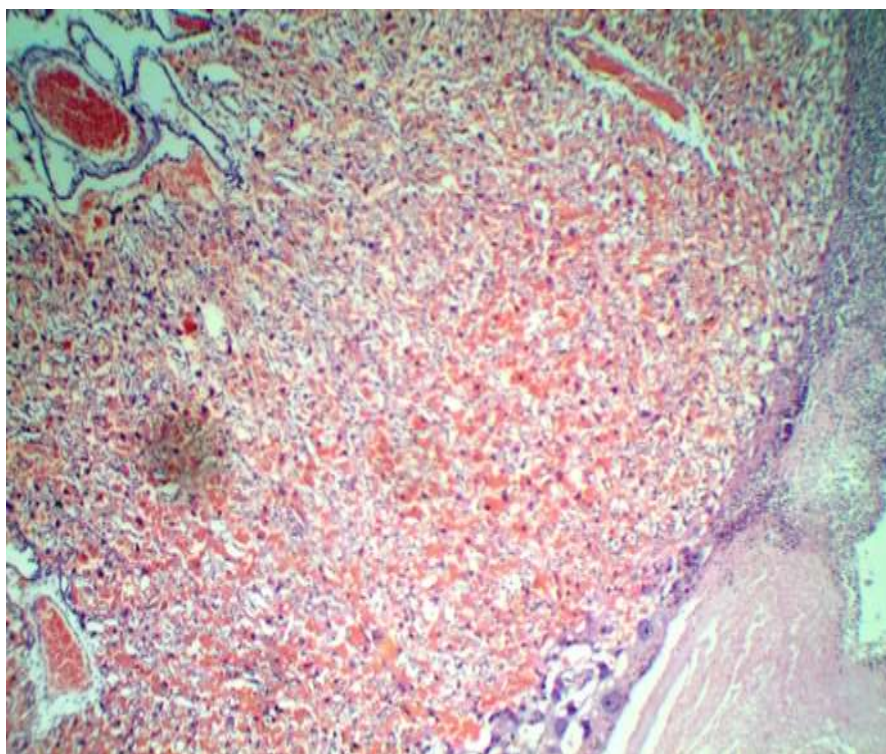


Рис. 2. Микрофотография среза плаценты на 21-е сутки гестации после введения низкой дозы ацетилсалициловой кислоты в комбинации с метилдопой. В поле зрения определяются расширенные лакуны с материнской кровью. По его периферии определяются участки кругло-клеточной инфильтрации. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

Fig. 2. A micrograph of a placenta section on the 21st day of gestation after administration of a low dose of acetylsalicylic acid in combination with methyldopa. In the field of vision, expanded lacunae with maternal blood are determined. Sections of squamous cell infiltration are determined along its periphery. Hematoxylin and eosin stain. SW x200.

При изучении лабиринтного отдела плаценты отмечено, что основная площадь среза приходится на ворсинки с плодовыми капиллярами и межворсинчатое пространство с материнской кровью. На поверхности плодной части плаценты хорошо визуализируется сросшийся с хориальной пластинкой амниотический эпителий. В эмбриональной соединительной ткани ворсин отека стромы нет. Стажа эритроцитов и тромбоза в материнских лакунах а так же, уменьшения их числа и числа плодовых капилляров не выявлено. Тонкие лабиринтные каналы расположены плотно.

Плодовые сосуды расширены, кровенаполнены, заполняют практически всю строму ворсины, снижая, таким образом, толщину гематоплацентарного барьера. Плотность ворсин на единицу площади среза высокая. Все ворсины окружены слоем трофобластического эпителия, который в большинстве участков представлен только слоем симпластотрофобласта. В поле зрения выявлено значительное количество синцитиальных узелков, свидетельствующих о достаточной степени зрелости плаценты (рис. 3).

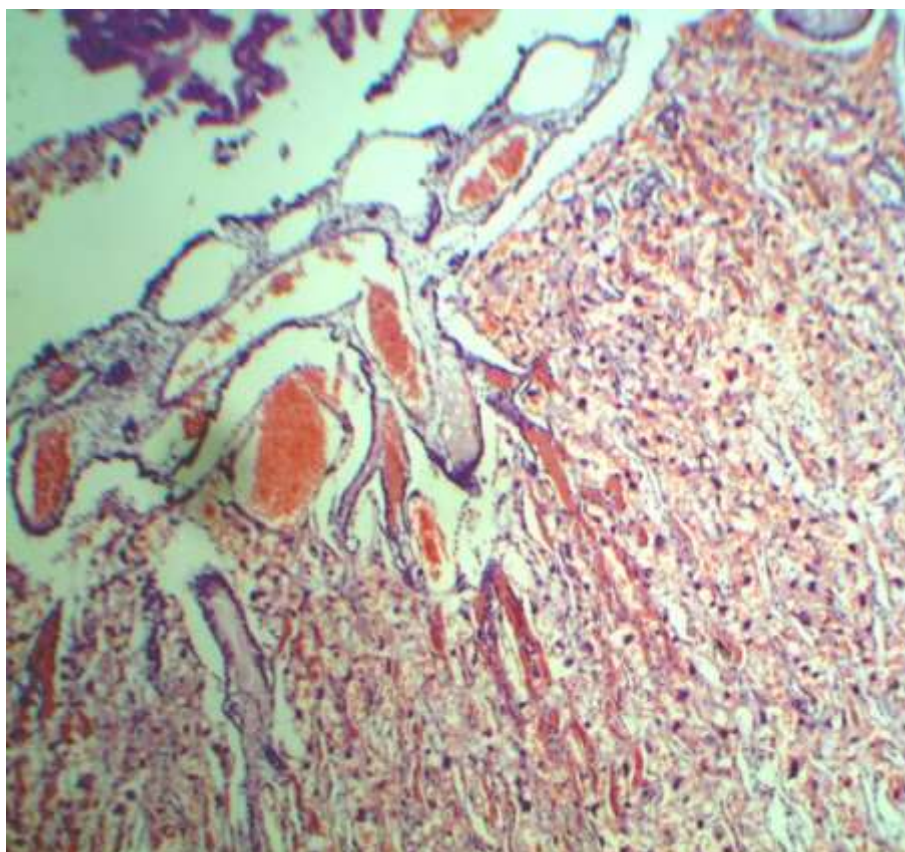


Рис. 3. Микрофотография среза лабиринтного отдела плаценты на 21-е сутки гестации после введения низкой дозы ацетилсалициловой кислоты в комбинации с метилдопой. Тонкие лабиринтные каналы расположены плотно. Плодовые сосуды расширены, кровенаполнены.

В поле зрения большое количество синцитиальных узелков. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

Fig. 3. A micrograph of a section of the labyrinth of the placenta on the 21st day of gestation after administration of a low dose of acetylsalicylic acid in combination with methyldopa. Thin labyrinth channels are located densely. The fetal vessels are dilated, blood-filled. There is a large number of syncytial nodules in the field of view. Hematoxylin and eosin stain. SW x200.

Подводя итог всему вышеописанному, можно утверждать, что результаты проведенных серий экспериментов свидетельствуют о выраженной протективной активности низкой дозы ацетилсалициловой кислоты в комбинации с метилдопой при коррекции морфофункциональных нарушений у животных с ADMA-подобной преэклампсией.

Заключение. Выбранная нами модель преэклампсии несмотря на то, что вызывается вазоактивным ADMA-подобным веществом, имеет и ишемический компонент. При проведении данного исследования ишемия плаценты была выбрана в качестве мишени для поиска новых лекарственных препаратов с целью

профилактики и лечения преэклампсии, так как нарушение кровообращения мелких артериальных сосудов приводит к нарушению регуляции артериального давления и микроциркуляции в тканях, что ведет к нарушению функции органов и систем, а в некоторых случаях и к полиорганной недостаточности. На сегодняшний день доказан тот факт, что низкие дозы ацетилсалициловой кислоты способствуют улучшению глубины плацентации, микроциркуляции в плаценте и усилению кровотока в спиральных маточных артериях. Таким образом, механизмы положительных эффектов ацетилсалициловой кислоты включают улучшение микроциркуляции в тканях, снижение тромботических явлений

и оптимизацию неоваскулогенеза в плаценте. Это приводит к уменьшению ишемических явлений в плаценте и восстановлению функции эндотелия, которые играют важную роль в современном представлении о патогенетических механизмах развития преэклампсии. Современные знания о патогенезе преэклампсии и накопленный экспериментальный опыт, обосновывают обозримые перспективы для создания лекарственных препаратов для лечения и профилактики гипертензивных расстройств во время беременности.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Статистика преэклампсии и эклампсии / Т.К. Гребенник [и др.] // Мать и дитя: материалы VIII Регионального научного форума. Сочи, 2015. С. 163-164.
2. Yakushev V.I., Pokrovskii M.V. Cardiovascular effects of an arginase II selective inhibitor // Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology. 2016. Vol. 2(3). P. 28-46. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-28-45
3. Arginase inhibition restores peroxynitrite-induced endothelial dysfunction via L-Arginine-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation / M.C. Nguyen [et al.] // Med J. 2016. Vol. 57(6). P. 1329-1338. DOI: <https://doi.org/10.3349/ymj.2016.57.6.1329>
4. Gureev V.V. New approaches of morphofunctional pharmacological correction of violations of cardiovascular system in experimental preeclampsia // Research Results in Pharmacology. 2016. Vol. 2(3). P. 11-27. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-11-27
5. L-NAME-induced Preeclampsia: correction of functional disorders of the hemostasis system with Resveratrol and Nicorandil / E.G. Stupakova [et al.] // Research Results in Pharmacology. 2019. Vol. 5(2). P. 1-12. DOI: <https://doi.org/10.3897/rpharmacology.5.35316>
6. Ramos J.G.L., Sass N., Costa S.H.M. Preeclampsia // Rev Bras Ginecol Obstet. 2017. Vol. 39(9). P. 496-512. DOI: 10.1055/s-0037-1604471
7. Platelet count and platelet indices in women with preeclampsia / M.A. AlSheeha [et al.] // Vasc Health Risk Manag. 2016. Vol. 12. P. 477-480. DOI: 10.2147/VHRM.S120944
8. Maternal extracellular vesicles and platelets promote preeclampsia via inflammasome activation in trophoblasts / S. Kohli [et al.] // Blood. 2016. Vol. 128(17). P. 2153-2164. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-705434>
9. Platelets in pregnancy / P. Juan [et al.] // J Prenat Med. 2011. Vol. 5(4). P. 90-92.
10. Лысенков С.П., Мясникова В.В., Пономарев В.В. Неотложные состояния и анестезия в акушерстве // Клиническая патофизиология и фармакотерапия. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2004. 600 с.
11. LeFevre ML. Low-dose aspirin use for the prevention of morbidity and mortality from preeclampsia: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement // Ann Intern Med. 2014. Vol. 161(11). P. 819-826. DOI: 10.7326/M14-1884
12. Käehne L.V., Lundin I.C.R. Treatment with low-dose acetylsalicylic acid can reduce risk of pre-eclampsia in high-risk pregnant women // Ugeskr Laeger. 2017. Vol. 179(14). pii: V07160511.
13. Sarma A., Scott N.S. Aspirin Use in Women: Current Perspectives and Future Directions // Curr. Atheroscler. Rep. 2016. Vol. 18(12). P. 74. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11883-016-0630-1>
14. Should we recommend universal aspirin for all pregnant women? / F. Mone [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. 2017. Vol. 216(2). P. 141. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.09.086>
15. The impact of platelet functions and inflammatory status on the severity of preeclampsia / S. Sahin [et al.] // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. 2015. Vol. 28(6). P. 643-648. DOI: <https://doi.org/10.3109/14767058.2014.927860>
16. Медведев Б.И., Сюндюкова Е.Г., Сашенков С.Л. Возможности профилактики преэклампсии // Современные проблемы науки и образования. 2017. N 2. С. 83.
17. Эффективность профилактики преэклампсии и плацентарной недостаточности / И.С. Липатов [и др.] // Вестник медицинского института "РЕАВИЗ": реабилитация, врач и здоровье. 2016. N 2(22). С. 78-87.
18. Ацетилсалициловая кислота в профилактике преэклампсии и ассоциированных акушерских и перинатальных осложнений / З.С. Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология. 2018. Vol. 8. С. 8-12. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.8.12-18>

19.Рекомендации ВОЗ по профилактике и лечению преэклампсии и эклампсии. Всемирная организация здравоохранения, 2014 г.

References

1. Grebennik TK, Ryabinkina IN, Pavlovich SV, et al. [Statistics of preeclampsia and eclampsia]. In: [Mother and child]. Proceedings of the VIII Regional scientific forum. Sochi; 2015:163-164. Russian.
2. Yakushev VI, Pokrovskii MV. Cardiovascular effects of an arginase II selective inhibitor. Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology. 2016;2(3):28-46. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-28-45
3. Nguyen MC, Park JT, Jeon YG, et al. Arginase inhibition restores peroxynitrite-induced endothelial dysfunction via L-Arginine-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation. Med J. 2016 Nov;57(6):1329-1338. DOI: <https://doi.org/10.3349/ymj.2016.57.6.1329>
4. Gureev VV. New approaches of morphofunctional pharmacological correction of violations of cardiovascular system in experimental preeclampsia. Research Results in Pharmacology. 2016;2(3):11-27. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-11-27
5. Stupakova EG, Lazareva GA, Gureev VV, et al. L-NAME-induced Preeclampsia: correction of functional disorders of the hemostasis system with Resveratrol and Nicorandil. Research Results in Pharmacology. 2019;5(2):1-12. DOI: <https://doi.org/10.3897/rpharmacology.5.35316>
6. Ramos JGL, Sass N, Costa SHM. Preeclampsia. Rev Bras Ginecol Obstet. 2017 Sep;39(9):496-512. DOI: 10.1055/s-0037-1604471
7. AlSheeha MA, Alaboudi RS, Alghasham MA, et al. Platelet count and platelet indices in women with preeclampsia. Vasc Health Risk Manag. 2016 Nov 21;12:477-480. DOI: 10.2147/VHRM.S120944
8. Kohli S, Ranjan S, Hoffmann J, et al. Maternal extracellular vesicles and platelets promote preeclampsia via inflammasome activation in trophoblasts. Blood. 2016 Oct 27;128(17):2153-2164. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-705434>
9. Juan P, Stefano G, Antonella S, et al. Platelets in pregnancy. J Prenat Med. 2011 Oct-Dec;5(4):90-92.
10. Lysenkov SP, Myasnikova VV, Ponomarev VV. [Emergency conditions and anesthesia in obstetrics. Clinical pathophysiology and pharmacotherapy]. SPb.: ALBI-SPb; 2004. Russian.
11. LeFevre ML. Low-dose aspirin use for the prevention of morbidity and mortality from preeclampsia: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. Ann Intern Med. 2014 Dec 2;161(11):819-26. DOI: 10.7326/M14-1884
12. Käehne LV, Lundin ICR. Treatment with low-dose acetylsalicylic acid can reduce risk of pre-eclampsia in high-risk pregnant women. Ugeskr Laeger. 2017 Apr 3;179(14):V07160511.
13. Sarma A, Scott NS. Aspirin Use in Women: Current Perspectives and Future Directions. Curr. Atheroscler. Rep. 2016;18(12):74. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11883-016-0630-1>
14. Mone F, Mulcahy C, McParland P, et al. TShould we recommend universal aspirin for all pregnant women? Am. J. Obstet. Gynecol. 2017 Feb;216(2):141. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.09.086>
15. Sahin S, Ozakpinar OB, Eroglu M, et al. The impact of platelet functions and inflammatory status on the severity of preeclampsia. J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. 2015;28(6):643-648. DOI: <https://doi.org/10.3109/14767058.2014.927860>
16. Medvedev BI, Syundyukova EG, Sashenkov SL. [Preeclampsia Prevention Options]. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2017;2:83. Russian.
17. Lipatov IS, Tezikov YuV, Prikhodko AV, et al. [The effectiveness of the prevention of preeclampsia and placental insufficiency. Bulletin of the medical institute "REAVIZ": rehabilitation, doctor and health]. Vestnik meditsinskogo instituta "REAVIZ": reabilitatsiya, vrach i zdorov'ye. 2016;2(22):78-87. Russian.
18. Khodzhaeva ZS, Kholin AM, Chulkov VS, et al. [Acetylsalicylic acid in the prevention of preeclampsia and associated obstetric and perinatal complications]. Akusherstvo i ginekologiya. 2018;8:8-12. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.8.12-18>
19. [WHO recommendations for the prevention and treatment of preeclampsia and eclampsia]. World Health Organization; 2014. Russian.

Статья поступила в редакцию 28 октября 2019 г.
Поступила после доработки 11 января 2020 г.
Принята к печати 16 января 2020 г.

Received 28 October 2019
Revised 11 January 2020
Accepted 16 January 2020

Информация об авторах

Ольга Владимировна Северинова, аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: frendic@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3873-0773.

Галина Анатольевна Лазарева, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: akush.fpo@gmail.com, ORCID:0000-0002-1225-8039.

Людмила Анатольевна Жилинкова, кандидат технических наук, доцент кафедры философии, социально-правовых и естественнонаучных дисциплин, ГОАУ ВО Курской области «Курская академия государственной и муниципальной службы», E-mail: l_zhilinkova@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0443-7130.

Анастасия Владимировна Гуреева, студентка 3-го курса, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: nastasyi.207@gmail.com, ORCID: 0000-00031719-7316.

Information about the authors

Olga. V. Severinova, Post-graduate Student of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Kursk State Medical University, E-mail: frendic@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3873-0773.

Galina A. Lazareva, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynaecology, Kursk State Medical University, E-mail: akush.fpo@gmail.com, ORCID: 0000-0002-1225-8039.

Lyudmila A. Zhilinkova, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor, Department of Philosophy, Social-Legal and Natural Sciences, Kursk Academy of State and Municipal Service, E-mail: l_zhilinkova@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0443-7130.

Anastasia V. Gureeva, 3rd-year Student, Kursk State Medical University, E-mail: nastasyi.207@gmail.com, ORCID: 0000-00031719-7316.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА CLINICAL MEDICINE



УДК 618.39-021.3

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-9

В.В. Енькова^{1,2},
О.В. Хоперская¹,
Е.В. Енькова¹,
А.А. Олина²,
Л.А. Новикова¹

Особенности видового состава и функциональной активности тучных клеток в децидуальной ткани пациенток с неразвивающейся беременностью и синдромом поликистозных яичников

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»,
ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»,
Менделеевская линия, д. 3, г. Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация
Автор для переписки: О.В. Хоперская (smv250587@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Среди проблем акушерства и гинекологии главенствующие позиции занимают вопросы бесплодия, невынашивания беременности, рождения доношенных здоровых детей. Синдром поликистозных яичников – заболевание, одним из клинических проявлений которого является бесплодие, влекущее за собой при наступлении спонтанной беременности у метаболически нескомпенсированных пациенток тяжелые осложнения гестации, что вносит значительный вклад в структуру перинатальной заболеваемости, а порой, и смертности. **Цель исследования:** Целью исследования являлось изучение видового состава и функциональной активности тучных клеток в децидуальной ткани пациенток с синдромом поликистозных яичников и неразвивающейся беременностью, сравнение полученных данных с таковыми от пациенток с неразвивающейся беременностью без сопутствующих метаболических нарушений и при физиологическом течении беременности. **Материалы и методы:** Всего обследовано 60 пациенток. Иммуногистохимическая идентификация триптазы и химазы тучных клеток в образцах децидуальной ткани пациенток была проведена при помощи мышиных моноклональных антител к триптазе и химазе. Для визуализации протеаз при множественном иммуномаркировании были применены вторичные антитела для триптазы (Goat Anti-Rabbit Ig H&L, конъюгированные с Alexa Fluor-488) и химазы (Goat-Anti-Mouse Ig H&L, конъюгированные с Cy3). **Результаты:** Количество тучных клеток в децидуальной ткани пациенток с неразвивающейся беременностью и синдромом поликистозных яичников в 4,4 раза выше, чем при физиологической беременности и в 1,38 раз – при неразвивающейся беременности и отсутствии метаболических нарушений. Протеазный профиль тучных клеток сдвинут в сторону экспрессии химазы.

Сравнивая функциональная активность изучаемых клеток при неразвивающейся беременности в обеих группах свидетельствует об отсутствии влияния синдрома поликистозных яичников на степень дегрануляции тучных клеток. **Заключение:** Изменение количественного и качественного состава тучных клеток подтверждает их участие в патогенетических механизмах формирования неразвивающейся беременности на фоне неблагоприятных метаболических нарушений, характерных для синдрома поликистозных яичников.

Ключевые слова: синдром поликистозных яичников; тучные клетки; децидуальная ткань; неразвивающаяся беременность

Для цитирования: Енькова ВВ, Хоперская ОВ, Енькова ЕВ, и др. Особенности видового состава и функциональной активности тучных клеток в децидуальной ткани пациенток с неразвивающейся беременностью и синдромом поликистозных яичников. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):107-117. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-9

Valeria V. Enkova^{1,2},
Olga V. Khoperskaya¹,
Elena V. Enkova¹,
Anna A. Olina²,
Lyubov A. Novikova¹

Features of the species composition and functional activity of mast cells in the decidual tissue of patients with undeveloped pregnancy and polycystic ovary syndrome

¹ Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko,
10 Studencheskaya St., Voronezh, 394036, Russia

² Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott,
3 Mendeleev Line, St. Petersburg, 199034, Russia

Corresponding author: Olga V. Khoperskaya (smv250587@mail.ru)

Abstract

Background: Infertility, miscarriage, birth of full-term healthy children take dominant positions among the problems of obstetrics and gynecology. Polycystic ovary syndrome is a disease one of the clinical manifestations of which is infertility, severe complications of gestation of spontaneous pregnancy in metabolically uncompensated patients, which makes a significant contribution to the structure of perinatal morbidity, and sometimes mortality. **The aim of the study:** The aim of the study was to study the species composition and functional activity of mast cells in decidual tissue of patients with polycystic ovary syndrome and missed abortion, to compare the data obtained with those from patients with missed abortion without metabolic disorders and during the physiological course of pregnancy. **Materials and methods:** A total of 60 patients were examined. Immunohistochemical identification of mast cell tryptase and chymase in decidual tissue samples of patients was performed using mouse monoclonal antibodies to tryptase and chymase. Secondary antibodies for tryptase (Goat Anti-Rabbit Ig H&L conjugated with Alexa Fluor-488) and chemase (Goat-Anti-Mouse Ig H&L conjugated with Cy3) were used to visualize proteases in multiple immunomarking. **Results:** The number of mast cells in the decidual tissue of patients with missed abortion and POS is 4,4 times higher than in physiological pregnancy and 1,38 times higher in undeveloped pregnancy and the absence of metabolic disorders. The protease profile of mast cells is shifted towards chemase expression. The comparable functional activity of the studied cells in

missed abortion in both groups indicates the absence of the influence of polycystic ovary syndrome on the degree of mast cell degranulation. **Conclusion:** The changes in the quantitative and qualitative composition of mast cells confirms their participation in the pathogenetic mechanisms of the formation of missed abortion on a background of metabolic disorders typical for polycystic ovary syndrome.

Keywords: polycystic ovary syndrome; mast cells; decidual tissue; missed abortion

For citation: Enkova VV, Khoperskaya OV, Enkova EV, et al. Features of the species composition and functional activity of mast cells in the decidual tissue of patients with undeveloped pregnancy and polycystic ovary syndrome. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):107-117. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-9

Введение. Согласно современным представлениям, СПЯ (синдром поликистозных яичников) является полигенным эндокринным заболеванием, реализация которого происходит при участии внешних факторов. Основными проявлениями СПЯ являются гиперандрогения, менструальная и/или овуляторная дисфункция и поликистозная морфология яичников [1, 2]. В связи с демографической ситуацией, сложившейся в последние годы не только в нашей стране, но и в мире, особый интерес представляет влияние столь широко представленного патологического состояния (общепопуляционная частота встречаемости СПЯ составляет, по данным разных авторов, от 6-9% до 19,9%) на репродуктивную функцию женщин детородного возраста [2, 3]. Патогенетические механизмы бесплодия и невынашивания беременности, несмотря на большое количество публикаций по данной проблеме и высокий индекс цитирований, что свидетельствует об остром интересе к изучаемой теме, остаются до конца не установленными. Основной акцент современных исследований сводится к факту ановуляции, тогда как очень незначительное количество работ посвящено специфическим изменениям эндометрия, происходящим при СПЯ. Несмотря на имеющиеся данные о том, что частота невынашивания беременности, возникшей на фоне метаболических нарушений при СПЯ как спонтанно, так и при индукции, не отличается от общепопуляционной, многие исследователи пришли к противоположным выводам [4-7].

Несомненно влияние СПЯ на течение беременности. Установлена прямая связь с гипертензивными расстройствами во время беременности, гестационным сахарным диабетом, преэклампсией, риском преждевременных родов, повышением частоты оперативного родоразрешения и неблагоприятными перинатальными исходами, такими как низкие баллы по шкале Апгар, высокая заболеваемость и перинатальная смертность, ЗВУР или, наоборот, макросомия плода, аутизм, гиперреактивность и формирование фенотипа СПЯ у потомства [8, 9, 10]. Ввиду того, что морфологическим субстратом для формирования вышеуказанных осложнений является плацента, а на ранних этапах развития беременности – взаимоотношения между хориальной и децидуальной тканью, научный интерес представляет изучение морфофункциональных изменений, происходящих именно в децидуальной ткани пациенток, страдающих СПЯ. К сожалению, исследования подобного рода немногочисленны. Имеются единичные работы, посвященные изменениям в эндометрии при СПЯ. Взаимосвязь метаболических изменений, происходящих при СПЯ, и невынашивания беременности подтверждена в экспериментальной модели на животных [11]. Публикаций, оценивающих популяцию тучных клеток в децидуальной ткани при СПЯ, не найдено.

Согласно данным ряда исследователей, особенностями морфофункциональных изменений эндометрия при СПЯ являются нарушения циклических измене-

ний, провоспалительный цитокиновый профиль, изменение экспрессии рецепторов к половым гормонам, ведущее к прогестеронрезистентности и задержке децидуальной перестройки, что не может не отразиться на процессах имплантации и цитотрофобластической инвазии, а в последствии – и на функциональном состоянии плаценты [12, 13]. Увеличение провоспалительных цитокинов на фоне снижения числа НК-клеток в эндометрии при СПЯ также показано в исследовании Piltonen T.T. et al. [14].

Тучные клетки – гранулоциты, играющие ключевую роль в воспалительных и иммунологических реакциях. Установлен факт участия тучных клеток в физиологических циклических изменениях в эндометрии (изменение цитоархитектоники, ремоделирование спиральных артерий), а также в формировании и поддержании беременности, в связи с чем интересна их оценка в децидуальной ткани на ранних сроках беременности как при физиологическом, так и при осложненном ее течении [15, 16].

Триптаза и химаза тучных клеток – полифункциональные иммунологически активные протеазы, способные вызывать и поддерживать воспалительный процесс, а также обладать противовоспалительным эффектом в зависимости от ситуации, стимулировать пролиферацию и дифференцировку клеток, обеспечивая заживление, регенерацию тканей после повреждения, регулировать ангиогенез и структурную перестройку тканей. Роль тучных клеток и их протеаз в генезе патологических состояний, возникающих во время беременности, до сих пор недостаточно ясна.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие 60 беременных женщин, сопоставимых по возрасту, срок гестации которых варьировал от 7 до 11 недель. Длительность пребывания погибшего плодного яйца в полости матки не превышала 7 дней, что было подтверждено результатами ультразвуко-

вых исследований. Пациенты были разделены нами на три группы по 20 человек: группа I – пациентки с СПЯ и неразвивающейся беременностью, II группа – здоровые пациентки с неразвивающейся беременностью и группа контроля – здоровые женщины, обратившиеся для прерывания беременности.

Гистологический материал был собран после эвакуации продуктов зачатия, фиксирован в 10% формалине, доставлен в НИИ ЭБМ в течение суток. Объект исследования – децидуальная ткань.

Детекция тучных клеток была осуществлена путем иммуногистохимической идентификации характерных протеаз. Для определения триптазы использовали кроличьи моноклональные антитела (Anti-Mast Cell Tryptase antibody, AbCam, #ab151757, разведение 1:1000), химазы – мышинные (Anti-Mast Cell Chymase antibody, AbCam, #ab2377, разведение 1:500). Козьи антимышинные и антикроличьи антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (AmpliStain™ anti-Mouse 1-Step Horseradish Peroxidase, SDT, и AmpliStain™ anti-Rabbit 1-Step Horseradish Peroxidase, SDT GmbH, Baesweiler, Germany) были применены как вторичные антитела согласно инструкции [17, 18]. Ядра клеток были окрашены гематоксилином Майера.

Аналогичные первичные антитела были использованы и для множественного иммуномаркирования. Для детекции химазы и трипаты использовали вторичные антитела: Goat Anti-Rabbit Ig H&L, конъюгированные с Alexa Fluor-488 (#ab150077) (разведение 1:500) и Goat-Anti-Mouse Ig H&L, конъюгированные с Cy3 (#ab97035) (разведение 1:500) соответственно. Визуализацию проводили, используя фильтры. Ядра клеток были окрашены неинтеркалирующим красителем DAPI (5 мкг/мл PBS, 15 сек). В качестве монтажной среды применяли Vectashield (Vector Laboratories, Burlingame, США).

Полученные срезы были оценены на аппаратно-программном комплексе для биологических исследований ZEISS Axio Imager.A2 (Carl Zeiss Microscopy, Германия). Документация изображений производилась камерой Camera AxioCam 506 color. Тучные клетки в децидуальной ткани определяли на полях зрения 700x500 мкм при 20-кратном увеличении. Для объективизации данных для каждого измерения проводили оценку 20 полей зрения в каждом образце. Обработку полученных

данных проводили с использованием программного обеспечения ZEN 2.3 (blue edition, Carl Zeiss, Germany). Достоверность различий в случае нормального распределения данных определялась с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Был произведен подсчет тучных клеток с экспрессией различных протеаз в децидуальной ткани пациенток изучаемых групп. Результаты отражены в таблице 1.

Таблица 1

**Содержание тучных клеток в децидуальной ткани
(по результатам иммуногистохимического окрашивания, на поле зрения)**

Table 1

**The content of mast cells in the decidual tissue (according to the results
of immunohistochemical staining, in the field of vision)**

	Триптаза	Химаза	Триптаза + химаза
I группа	9,48±0,76*	3,59±0,45*	2,69±0,34*
II группа	7,64±0,64*	2,21±0,34*	1,50±2,80*
Группа контроля	2,98±0,76	0,34±0,62	0,27±0,95

Примечание: * $p < 0.05$ по сравнению с контролем

Note: * $p < 0.05$ compared to control

Согласно полученным данным, содержание тучных клеток и количество их контактов друг с другом в децидуальной ткани пациенток первой и второй групп было выше в разы в сравнении с биоматериалом, собранным после прерывания нормально развивавшейся беременности, установлено большее число химаза-позитивных клеток и клеток с одновременной экспрессией химазы и триптазы. При этом при неразвивающейся беремен-

ности, возникшей на фоне СПЯ, общее число тучных клеток возросло в 4,4 раза, тогда как при неразвивающейся беременности без СПЯ – только в 3,2 (рис. 1).

В группе контроля количество тучных клеток, экспрессирующих химазу составило 9,47%, тогда как в первой группе – 22,78%, во второй – 19,47%, а клеток с одновременной экспрессией обеих протеаз – 7,52% в группе контроля, 17,06% – в первой группе и 13,22% – во второй (рис. 2).

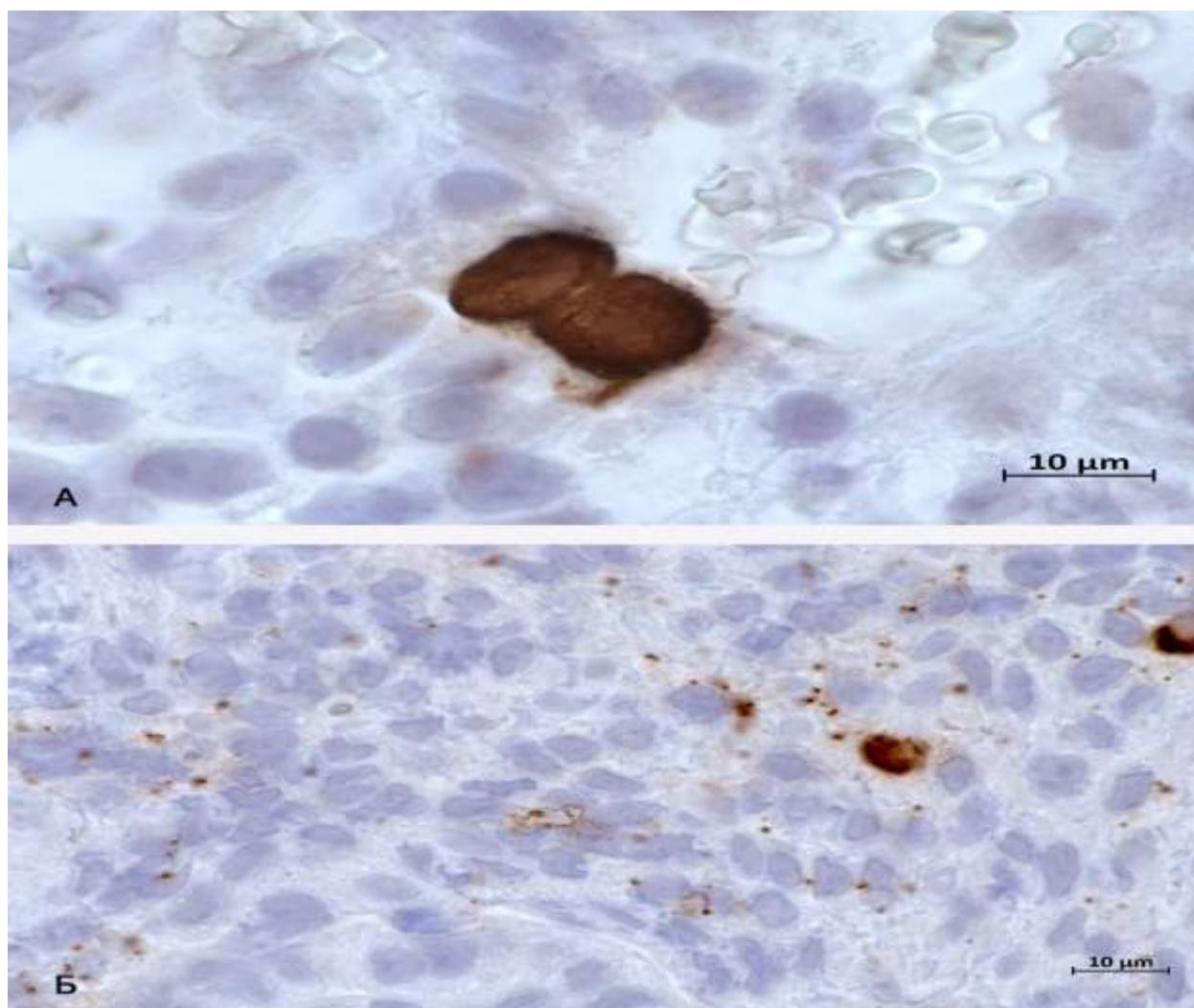


Рис. 1. Децидуальная ткань пациентки с неразвивающейся беременностью, развившейся на фоне СПЯ
Триптаза-позитивные тучные клетки. А – контакт тучных клеток, дегрануляция;
Б – активное высвобождение клетками гранул, содержащих триптазу, во внеклеточный матрикс децидуальной ткани.

Fig. 1. The decidual tissue of a patient with an undeveloped pregnancy that developed against the background of a POS
Tryptase-positive mast cells. A – contact of mast cells, degranulation; B – active release by cells of granules containing tryptase into the extracellular matrix of decidual tissue.

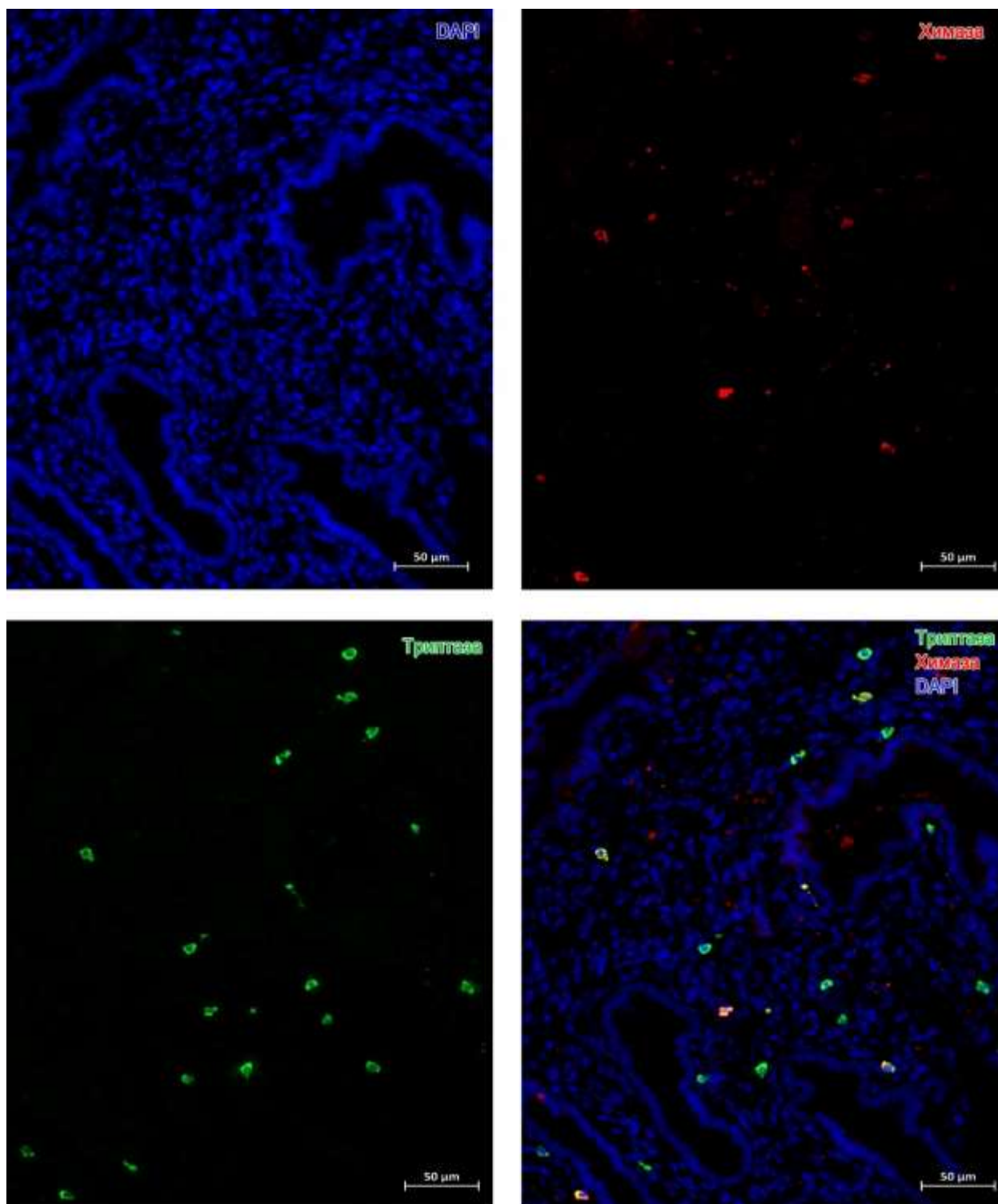


Рис. 2. Децидуальная ткань пациентки первой группы.
Множественное иммуномаркирование. Усиление экспрессии химазы.

Fig. 2. The decidual tissue of the patient of the first group.
Multiple immunomarking. Increased expression of chymase.

Количество тучных клеток, экспрессирующих химазу у пациенток I группы в сравнении со II было на 3,3% выше, а клеток с двойной экспрессией – на 3,8%.

Сдвиг протеазного профиля в сторону экспрессии химазы у пациенток с неразвивающейся беременностью и СПЯ, возможно, отражает влияние метаболических особен-

ностей, присущих СПЯ, на качественный состав тучных клеток.

Наряду с изменением количественного и качественного соотношения исследу-

емых клеток также выявлено изменение их функциональной активности при неразвивающейся беременности (табл. 2).

Таблица 2

**Интенсивность секреции протеаз тучными клетками
(по результатам иммуногистохимического окрашивания, на поле зрения)**

Table 2

**The intensity of protease secretion by mast cells (according to the results
of immunohistochemical staining, in the field of vision)**

	Секреторный статус	I группа	II группа	Группа контроля
Триптаза-позитивные	Недегранулированные	49,80%	51,30%	79,60%
	Дегранулированные	50,20%	48,70%	20,40%
Химаза-позитивные	Недегранулированные	65,50%	69,60%	87,40%
	Дегранулированные	35,50%	36,40%	12,60%

Примечание: $p < 0.05$ по сравнению с контролем

Note: $p < 0.05$ compared to control

Достоверных различий в степени дегрануляции при наличии и отсутствии СПЯ не установлено, что позволяет сделать заключение об отсутствии влияния метаболических расстройств, присутствующих при СПЯ на функциональную активность тучных клеток. В то же время, возросшее количество тучных клеток при одинаково высокой функциональной активности, как и при неразвивающейся беременности без сопутствующего СПЯ, в итоге приводит к большему высвобождению секреторных гранул, часто расположенных на большом расстоянии от дегранулировавших клеток, у пациенток первой группы. Количество секреторных гранул в цитоплазме было значительно выше у пациенток с неразвивающейся беременностью вне зависимости от наличия СПЯ, что в сочетании с активной дегрануляцией указывает на усиленный биогенез протеаз при неразвивающейся беременности.

В исследованиях, посвященным изучению тучных клеток при неразвивающейся беременности, проведенных ранее, мы связывали повышенную способность к дегрануляции с аномальной ангиогенной активностью, вызванной недостаточной перфузией. На фоне метаболических нарушений, присущих СПЯ мы ожидали возрас-

тание числа дегранулировавших клеток, но вопреки нашим ожиданиям, активность дегрануляции в I и II группах была сопоставима и максимальна (по данным ранее проведенных исследований) [19, 20]. Возможно, способность тучных клеток к дегрануляции имеет пределы и ограничена, что требует подтверждения.

Избыточная экспрессия химазы, наряду с увеличением функциональной активности клеток, была показана нами при неразвивающейся беременности и явлениях децидуита, что позволило предположить участие химазы в процессах воспаления и фиброобразования [20]. Уточнение патогенетических механизмов взаимосвязи СПЯ и повышенной экспрессии химазы тучными клетками требует дальнейшего изучения.

Заключение. Установлено участие тучных клеток в патогенетических механизмах формирования неразвивающейся беременности на фоне СПЯ: их число в 4,4 раза выше, чем в децидуальной ткани пациенток с физиологической беременностью и в 1,38 раз – при неразвивающейся беременности и отсутствии метаболических нарушений. Протеазный профиль тучных клеток при изучаемом заболевании сдвинут в сторону экспрессии химазы, ко-

личество клеток с одновременной экспрессией обеих протеаз выше на 3,8% в сравнении с группой II. Функциональная активность тучных клеток при неразвивающейся беременности как при наличии, так и при отсутствии СПЯ сопоставима и максимальна, что при учете численного превосходства клеток при неразвивающейся беременности и СПКЯ, свидетельствует о большем высвобождении биологически активных веществ в децидуальной ткани пациенток I группы.

Список литературы

1. Микляева И.А., Данилова И.К. Актуальные вопросы синдрома поликистозных яичников у женщин репродуктивного возраста // Молодой ученый. 2018. N 24. С. 285-289.
2. Клинические рекомендации: Синдром поликистоза яичников в репродуктивном возрасте (протокол лечения) / ред. совет: Л.В. Адамян [и др.]. Москва, 2015. 22 с.
3. Prevalence, phenotype and cardiometabolic risk of polycystic ovary syndrome under different diagnostic criteria / B.O. Yildiz [et al.] // J. Hum. Reprod. 2012. N 27. P. 67-73. DOI: 10.1093/humrep/des232
4. Пустотина О.А., Ахмедова Э.А. Прегавивидарная подготовка женщин с невынашиванием беременности в анамнезе // Медицинский совет. 2016. N 4. С. 130-136. DOI: 10.21518/2079-701X-2016-4-130-136
5. Coagulation Biomarkers in Women with Recurrent Miscarriage and Polycystic Ovarian Syndrome: Systematic Review and Meta-Analysis / M.B. Cavalcante [et al.] // Geburtshilfe Frauenheilkd. 2019. Vol. 79(7). P. 697-704. DOI: 10.1055/a-0884-3212
6. Association of testosterone and anti-müllerian hormone with time to pregnancy and pregnancy loss in fecund women attempting pregnancy / L.A. Sjaarda [et al.] // Fertil. Steril. 2018. Vol. 109(3). P. 540-548. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.11.014
7. Атякшин Д.А., Бурцева А.С., Алексеева Н.Т. Триптаза как полифункциональный компонент секрета тучных клеток // Журнал анатомии и гистопатологии. 2017. Т. 6, N 1. С. 121-132.
8. Insulin resistance does not affect early embryo development but lowers implantation rate in in vitro maturation-in vitro fertilization-embryo transfer cycle / E.M. Chang [et al.] // Clin. Endocrinol. 2013. Vol. 79(1). P. 93-99. DOI: 10.1111/cen.12099
9. Consensus on womens health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop / B.C. Fauser [et al.] // Group. Fertil Steril. 2012. Vol. 97(1). P. 28-38. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.09.024
10. Pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro fertilization / L. Sterling // Fertil. Steril. 2016. Vol. 105(3). P. 91-97. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.11.019
11. Mice endometrium receptivity in early pregnancy is impaired by maternal hyperinsulinemia / R. Li [et al.] // Mol. Med. Rep. 2017. Vol. 15(5). P. 2503-2510. DOI: 10.3892/mmr.2017.6322
12. Яковлев П.П., Коган И.Ю. Эндометрий и синдром поликистозных яичников // Журнал акушерства и женских болезней. 2018. Т. 67, N 4. С. 60-66. DOI: 10.17816/JOWD67460-66
13. Delayed endometrial decidualisation in polycystic ovary syndrome. the role of AR-MAGEA11 / K. Younas [et al.] // J. Mol. Med. (Berl). 2019. Vol. 97(9). P. 1315-1327. DOI: 10.1007/s00109-019-01809-6
14. Endometrial stromal fibroblasts from women with polycystic ovary syndrome have impaired progesterone-mediated decidualization, aberrant cytokine profiles and promote enhanced immune cell migration in vitro / T.T. Piltonen [et al.] // Hum. Reprod. 2015. Vol. 30(5). P. 1203-1215. DOI: 10.1093/humrep/dev055
15. Transfer of regulatory T cells into abortion-prone mice promotes the expansion of uterine mast cells and normalizes early pregnancy angiogenesis / K. Woidacki [et al.] // Scientific Reports. 2015. N 5. Art. 13938. DOI: 10.1038/srep13938
16. Characterization of mast cell populations using different methods for their identification / D. Atiakshin [et al.] // Histochemistry and Cell Biology. 2017. Vol. 147(6). P. 683-694. DOI: 10.1007/s00418-017-1547-7
17. Buchwalow I.B., Böcker W. Immunohistochemistry: basics and methods. Springer, 2010. 268 p.
18. Радзинский В.Е., Оразмурадов А.А. Беременность ранних сроков. От прегавивидарной подготовки к здоровой гестации. Москва: Редакция журнала StatusPraesens, 2018. 800 с.

19. Гайская О.В. Клинико-диагностическое значение специфических маркеров при угрожающем выкидыше у беременных в первом триместре : дис. ... канд. мед. наук. Воронеж, 2018. 109 с.

20. Хоперская О.В. Клинико-лабораторные и патоморфологические особенности неразвивающейся беременности : дис. ... канд. мед. наук. Воронеж, 2018. 138 с.

References

1. Miklyaeva IA, Danilova IK. [Topical issues of polycystic ovary syndrome in women of reproductive age]. Molodoy uchenyy. 2018;24:285-289. Russian.

2. Adamyan LV, Andreeva EN, Gasparyan SV, et al. editors. Clinical recommendations: polycystic ovarian syndrome in reproductive age (treatment protocol). Moscow; 2015. Russian.

3. Yildiz BO, Bozdag G, Yapici Z, et al. Prevalence, phenotype and cardiometabolic risk of polycystic ovary syndrome under different diagnostic criteria. J. Hum. Reprod. 2012;27:67-73. DOI: 10.1093/humrep/des232

4. Pustotina OA, Akhmedova EA. Pregravid preparation of women with a history of miscarriage. Medical Council. 2016;4:130-136. Russian. DOI: 10.21518/2079-701X-2016-4-130-136

5. Cavalcante MB, Sarno M, Cavalcante CT, et al. Coagulation Biomarkers in Women with Recurrent Miscarriage and Polycystic Ovarian Syndrome: Systematic Review and Meta-Analysis. Geburtshilfe Frauenheilkd. 2019;79(7):697-704. DOI: 10.1055/a-0884-3212

6. Lindsey AS, Sunni LM, Daniel LK, et al. Association of testosterone and antimüllerian hormone with time to pregnancy and pregnancy loss in fecund women attempting pregnancy. Fertil. Steril. 2018;109(3):540-548. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.11.014

7. Atyakshin DA, Burtseva AS, Alekseeva NT. Tryptase as a multifunctional component of mast cell secretion. Journal of anatomy and histopathology. 2017;6(1):121-132. Russian.

8. Chang EM, Han JE, Seok HH, et al. Insulin resistance does not affect early embryo development but lowers implantation rate in in vitro maturation-in vitro fertilization-embryo transfer cycle. Clin. Endocrinol. 2013;79(1):93-99. DOI: 10.1111/cen.12099

9. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, et al. Consensus on womens health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus

Workshop. Group. Fertil Steril. 2012;97(1):28-38. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.09.024

10. Sterling L, Liu J, Okun N, et al. Pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro fertilization. Fertil. Steril. 2016;105(3):91-97. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.11.019

11. Runqin L, Juan W, Junlin H, et al. Mice endometrium receptivity in early pregnancy is impaired by maternal hyperinsulinemia. Mol. Med. Rep. 2017;15(5):2503-2510. DOI: 10.3892/mmr.2017.6322

12. Yakovlev PP, Kogan IY. [Endometrium and polycystic ovary syndrome]. Journal of obstetrics and women's diseases. 2018;67(4):60-66. Russian. DOI: 10.17816/JOWD67460-66

13. Younas K, Quintela M, Thomas S, et al. Delayed endometrial decidualisation in polycystic ovary syndrome. the role of AR-MAGEA11. J. Mol. Med. (Berl). 2019;97(9):1315-1327. DOI: 10.1007/s00109-019-01809-6

14. Piltonen TT, Chen JC, Khatun M, et al. Endometrial stromal fibroblasts from women with polycystic ovary syndrome have impaired progesterone-mediated decidualization, aberrant cytokine profiles and promote enhanced immune cell migration in vitro. Hum. Reprod. 2015;30(5):1203-1215. DOI: 10.1093/humrep/dev055

15. Woidacki K, Meyer N, Schumacher A, et al. Transfer of regulatory T cells into abortion-prone mice promotes the expansion of uterine mast cells and normalizes early pregnancy angiogenesis. Scientific Reports. 2015;5:13938. DOI: 10.1038/srep13938

16. Atiakshin D, Buchwalow I, Samoilova V, et al. Characterization of mast cell populations using different methods for their identification. Histochemistry and Cell Biology. 2017;147(6):683-694. Doi: 10.1007/s00418-017-1547-7. Russian.

17. Buchwalow IB, Boecker W. Immunohistochemistry: basics and methods. Springer; 2010.

18. Radzinsky VE, Orazmuradov AA. [Pregnancy of early terms. From pregravid preparation to healthy gestation]. Moscow: Redaktsiya zhurnala StatusPraesens; 2018. Russian.

19. Gaiskaya OV. [Clinical and diagnostic significance of specific markers in threatened miscarriage in pregnant women in the first trimester] [dissertation]. Voronezh (Russia): Voronezh state medical University named after N.N. Burdenko; 2018. Russian.

20. Khoperskaya O. [Clinical, laboratory, and pathologic features of non-developing pregnancy] [dissertation]. Voronezh (Russia): Voronezh state medical University named after N.N. Burdenko; 2018. Russian.

Статья поступила в редакцию 12 сентября 2019 г.
Поступила после доработки 15 ноября 2019 г.
Принята к печати 01 декабря 2019 г.

Received 12 September 2019
Revised 15 November 2019
Accepted 01 December 2019

Сведения об авторах:

Валерия Вадимовна Енькова, аспирант третьего года обучения по направлению подготовки 31.06.01 Клиническая медицина, образовательная программа: Кожные и венерические болезни, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко», врач акушер-гинеколог, E-mail: enkova_lera@mail.ru, ORCID: 0000-0002-3383-5755.

Ольга Викторовна Хоперская, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии №2, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко», врач акушер-гинеколог БУЗ ВО «ВГКБ №3», E-mail: smv250587@mail.ru, ORCID: 0000-0003-41998156.

Елена Владимировна Енькова, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии №2, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко», E-mail: enkova@bk.ru, ORCID: 0000-00018885-1587.

Анна Александровна Олина, доктор медицинских наук, профессор, первый заместитель директора ГБНУ «НИИ акушерства, гинеколо-

гии и репродуктологии им. Д.О. Отта», E-mail: olina29@mail.ru, ORCID: 0000-0001-9101-7569.

Любовь Анатольевна Новикова, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой дерматовенерологии, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко», E-mail: muzkvkd@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7775-858X.

Information about the authors

Valeria V. Enkova, 3rd-year Post-graduate Student of Training Programme 31.06.01 Clinical Medicine, Educational Program: Skin and Venereal Diseases, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Obstetrician-Gynecologist, E-mail: enkova_lera@mail.ru, ORCID: 0000-0002-3383-5755.

Olga V. Khoperskaya, Candidate of Medical Sciences, Assistance Lecturer of the Department of Obstetrics and Gynecology № 2, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Obstetrician-Gynecologist, Voronezh City Clinical Hospital №3, E-mail: smv250587@mail.ru, ORCID: 0000-0003-41998156.

Elena V. Enkova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology №2, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, E-mail: enkova@bk.ru, ORCID: 0000-00018885-1587.

Anna A. Olina, Doctor of Medical Sciences, Professor, First Deputy Director, Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, E-mail: olina29@mail.ru, ORCID: 0000-0001-9101-7569.

Lyubov A. Novikova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Dermato-venereology, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, E-mail: muzkvkd@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7775-858X.



УДК 617.735-053.88 + 351.14(082.24)

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-10

Д.А. Коняев

**Взаимосвязь показателей интерлейкинового профиля
и оксидантной системы крови у пожилых больных
возрастной макулярной дегенерацией с поздней стадией**

Тамбовский филиал Федерального государственного автономного учреждения
межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза
имени академика С.Н. Фёдорова»,
ул. Рассказовское шоссе, д.1, г. Тамбов, 392000, Российская Федерация
Автор для переписки: Д.А. Коняев (vitalaxen@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: В пожилом возрасте возрастная макулярная дегенерация имеет высокую распространённость и часто вызывает снижение и полную потерю зрения. Однако иммунологические механизмы развития данной патологии и их связь с изменениями оксидантной системы у пожилых больных остаются недостаточно изученными. **Цель исследования:** Анализ взаимосвязей показателей интерлейкинового профиля и оксидантной системы сыворотки крови у пожилых больных возрастной макулярной дегенерацией с поздней стадией (AREDS-4). **Материалы и методы:** Уровень сывороточных интерлейкинов и показатели оксидантной системы изучены у 57 больных в возрасте 60-74 года с возрастной макулярной дегенерацией 4-й стадии. Контролем служили 52 человека аналогичного возраста без указанной выше патологии. Содержание интерлейкинов определяли на проточном цитометре BD FACS Canto 2, а перекисное окисление липидов – на спектрофотометре СФ-16. **Результаты:** Установлено достоверное повышение анализируемых сывороточных интерлейкинов и в большей степени IL-1 β , IL-8 группы больных с возрастной макулярной дегенерацией в сравнении с возрастным контролем. Содержание противовоспалительных интерлейкинов и интерферонов- α , γ достоверно снизилось у пациентов с рассматриваемым заболеванием, уровень продуктов перекисного окисления липидов статистически значимо повысился. Между противовоспалительными интерлейкинами и показателями оксидантной системы выявлены обратные корреляционные связи, с изменением противовоспалительных интерлейкинов и показателей свободнорадикального окисления имеются обратные связи. **Заключение:** В результате проведенного исследования установлены особенности интерлейкинового профиля и оксидантной системы сыворотки крови у пожилых больных возрастной макулярной дегенерацией с поздней стадией, учет которых позволит рационализировать диагностику и патогенетическую терапию при возрастной макулярной дегенерации у пожилых.

Ключевые слова: интерлейкины крови; оксидантная система; возрастная макулярная дегенерация; пожилые

Для цитирования: Коняев ДА. Взаимосвязь показателей интерлейкинового профиля и оксидантной системы крови у пожилых больных возрастной макулярной дегенерацией с поздней стадией. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):118-125. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-10

Dmitry A. Konyaev

Interrelation of interleukin profile and the blood oxidant system in elderly patients with late-stage age-related macular degeneration

Academician S.N. Fedorov Eye Microsurgery Complex, Tambov Branch,
1 Rasskazovskoe Highway, Tambov, 392000, Russia
Corresponding author: Dmitry A. Konyaev (vitalaxen@mail.ru)

Abstract

Background: In the elderly, age-related macular degeneration has a high prevalence and often causes a decrease and complete loss of vision. However, immunological mechanisms of development of this pathology and their relationship with changes in the oxidant system in elderly patients remain insufficiently studied. **The aim of the study:** To analyze the relationship between interleukin profile and the serum oxidant system in elderly patients with late-stage age-related macular degeneration (AREDS-4). **Materials and methods:** Serum interleukin levels and the oxidant system parameters were studied in 57 patients aged 60-74 years with stage 4 age-related macular degeneration. The control group included 52 people of the same age without the above pathology. The content of interleukins was determined on the flow cytometer BD FACS Canto 2, and lipid peroxidation-on the spectrophotometer SF-16. **Results:** There was a significant increase in the analyzed serum interleukins and, to a greater extent, IL-1 β , IL-8 in the group of patients with age-related macular degeneration in comparison with the age control. The content of anti-inflammatory interleukins and interferons- α , γ significantly decreased in patients with this disease, the level of lipid peroxidation products significantly increased. Inverse correlations were found between anti-inflammatory interleukins and indicators of the oxidant system. There are inverse correlations with changes in anti-inflammatory interleukins and indicators of free radical oxidation. **Conclusion:** As a result of the study, the features of the interleukin profile and the oxidative system of blood serum in elderly patients with advanced macular degeneration with advanced stage have been established that will enable to rationalize the diagnosis and pathogenetic therapy for age-related macular degeneration in the elderly.

Keywords: blood interleukins; oxidant system; age-related macular degeneration; elderly

For citation: Konyaev DA. Interrelation of interleukin profile and the blood oxidant system in elderly patients with late-stage age-related macular degeneration. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):118-125. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-10

Введение. В пожилом возрасте возрастная макулярная дегенерация (ВМД) считается распространённой патологией и ведущей причиной в структуре патологии органа зрения и слепоты [1-5]. По данным Всемирной организации здравоохранения количество больных ВМД в мире стремительно возрастает и по прогнозам к 2020 г. уровень заболеваемости ВМД

увеличится на треть [6, 7]. ВМД является наиболее распространённым заболеванием в США, где число пациентов составляет около 3 миллионов [8]. В Китае высокая заболеваемость ВМД служит основной причиной инвалидности [5]. В Швеции среди жителей в возрасте 40 лет и ставшие в течение исследуемого периода выявлено 707 341 случаев заболеваний глаза и 20,9%

приходилось на ВМД, что соответствует второму месту после катаракты [9]. Среди финского населения ВМД обнаружена в 13,8% случаев у населения старше 30 лет [10]. У пожилых людей в Непале ВМД достигает 38,4% [11, 12]. В России заболеваемость ВМД составляет более 150 случаев на 10 000 населения. Проведенное нами ранее исследование выявило повышение частоты ВМД в Тамбовской области с 1,38 случаев в 2010 г. до 2,28 случаев на 10 000 населения в 2015 г. [13]. В связи с увеличением доли пожилых в структуре общества негативная тенденция в уровне ВМД сохранится, что, безусловно указывает на приоритетность исследования гериатрических аспектов ВМД [2].

Актуальным направлением в изучении ВМД, наряду с генетическими факторами, атеросклерозом и др., называется анализ патогенетических механизмов на уровне иммунных процессов. Только в последние годы показана важная роль нарушений иммунологических реакций в возникновении и генезе ВМД, выполненных преимущественно в экспериментальных условиях [14, 15]. Местные и системные нарушения интерлейкинового профиля изучены в основном на ранних стадиях ВМД. Вместе с тем исследования интерлейкинов, как важнейшего звена иммунорегуляции, при ВМД немногочисленны [3] и практически не проводились у пациентов пожилого возраста (60-75 лет) с поздней стадией заболевания – AREDS 4 (Age-Related Eye Disease Study). В научных публикациях также отсутствуют сведения о взаимосвязи сывороточных интерлейкинов и показателей оксидантной системы, являющихся важнейшим фактором в патогенезе ВМД [16].

Материал и методы исследования. Исследование проведено в Тамбовском филиале МНТК «Микрохирургия глаза имени академика С.Н. Фёдорова» в 2016-2018 гг. В клинических условиях сформированы основная группа в количестве 57 больных в возрасте 60-74 года с ВМД 4-й стадии (средний возраст $69,4 \pm 2,4$ года) и

контрольная группа в количестве 52 человек без ВМД аналогичного возраста (средний возраст $68,8 \pm 2,1$ лет) ($P > 0,05$).

Исследуемые группы не имели статистически значимых различий по частоте сопутствующих заболеваний и основным биохимическим показателям (табл. 1). Среди сопутствующей патологии в обеих группах преобладала ИБС, болезни органов дыхания. Высокую распространенность как в основной группе, так и в контроле имела мочекаменная болезнь. Средние значения основных биохимических показателей соответствовали референсным в обеих группах.

Критериями не включения в основную и контрольную группы являлись наличие: возраст более 74 лет, артериальной гипертензии II-III степени, абдоминального ожирения, метаболического синдрома, дислипидемии, индекса атерогенности более 3 ммоль/л, аутоиммунных заболеваний, острого воспалительного процесса любой локализации, злокачественных новообразований.

Среди больных основной и контрольной групп гериатрические синдромы встречались соответственно со следующей частотой: деменция – 1,8% и 3,5% синдромом мальнутриции – 1,8% и 3,8% от всех больных в группе, когнитивный дефицит по Монреальской шкале (Montreal – Cognitive Assessment, MoCA) составил $17,8 \pm 0,3$ балла и $16,4 \pm 0,5$ балла при норме 26-30 баллов ($P > 0,05$ во всех случаях).

Содержание интерлейкинов в сыворотке крови определяли на проточном цитометре BD FACS Canto 2 посредством набора CBA (BD Biosciences, USA). При определении продуктов перекисного окисления липидов использовали спектрофотометр СФ-16. Выполнение исследования проводилось в соответствии с соблюдением этических принципов и стандартов надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice). У всех пациентов получено письменное информированное согласие на использование и обработку данных в научных целях.

Таблица 1

Распространенность сопутствующей патологии и основные биохимические показатели в основной и контрольной группе

Table 1

Prevalence of comorbidity and main biochemical parameters in the main and control groups

Название сопутствующего заболевания	Пациенты с ВМД, n=57	Пациенты без ВМД, n=52
Артериальная гипертензия степени	5,3±2,9	7,7±3,7
ИБС	63,2±6,4	61,5±6,7
Сахарный диабет II-го типа	5,3±2,9	5,7±3,2
Нарушение толерантности к глюкозе	3,5±2,4	3,8±2,6
Болезни органов дыхания	56,4±6,6	50,0±6,8
Желчнокаменная болезнь	12,2±4,3	15,2±5,0
Мочекаменная болезнь	24,6±5,6	19,0±5,4
Острые нарушения мозгового кровообращения	2,5±2,4	1,9±1,8
Общий холестерин, ммоль/л	4,7±0,5	4,9±0,4
Триглицериды, ммоль/л	1,6±0,2	1,7±0,3
ЛПВП, ммоль/л	1,2±0,1	1,3±0,2
ЛПНП, ммоль/л	2,4±0,5	2,2±0,3
Глюкоза, ммоль/л	5,0±0,9	5,3±0,7

При статистической обработке полученных результатов применялась программа «Statistica 6.0» для выявления корреляционных связей, считавшихся достоверными при $P \leq 0,05$. Оценка достоверности различий выполнялась по непараметрическому критерию Т-Уайта.

Результаты и их обсуждение. У больных ВМД AREDS-4 пожилого возраста в сравнении с возрастным контролем установлены статические значимые отклонения по всем изученным сывороточным интерлейкинам (табл. 1). Однако содержание системных провоспалительных интерлейкинов при развитии ВМД 4-й стадии характеризуется значительным повышением, а противовоспалительных интерлейкинов – существенным снижением по отношению к группе возрастного контроля. Среди провоспалительных интерлейкинов крови максимальный подъем у пациентов основной группы выявлен для IL-1 β и IL-8, имеющих многократное и практически эквивалентное увеличение. Уровень других провоспалительных интерлейкинов IL-2 и

IL-6, IL-18 в сыворотке крови больных ВМД 4-й стадии повысился в меньшей степени. Содержание TNF- α среди пациентов с рассматриваемой патологией также увеличилось ($p < 0,01$).

Среди противовоспалительных интерлейкинов у больных ВМД 4-й стадии отмечается в сравнении с контрольной группой статистически значимое снижение в сыворотке крови (табл. 2). При этом наибольшее уменьшение свойственно IL-4, уровень которого понизился более чем в 3 раза ($P < 0,001$). Вторым по величине снижения в группе провоспалительных интерлейкинов является IL-10. Содержание IFN- α с ВМД 4-й стадии достоверно уменьшилось против лиц контроля ($P < 0,001$).

Анализ нарушений в оксидантной системе крови больных ВМД 4-й стадии выявил статистически значимое в сравнении с возрастным контролем повышение всех показателей свободно-радикального окисления липидов (табл. 3). Увеличение малонового диальдегида на системном

уровне у больных с ВМД 4-й стадии является наивысшим, что указывает на его первостепенное значение в генезе обсуждае-

мой патологии глаза. В наименьшей степени в основной группе повысилось содержание гидроперекисей липидов ($P < 0,001$).

Таблица 2

Уровень сывороточных интерлейкинов у пациентов с ВМД 4-й стадии в сравнении с контрольной группой ($M \pm m$, пг/мл)

Table 2

Serum interleukin levels in patients with stage 4 age-related macular degeneration compared to the control group ($M \pm m$, pg/ml)

Интерлейкин крови	Больные ВМД 4-й стадии в возрасте 60-75 лет, n=57	Люди в возрасте 60-75 лет без ВМД, n=52	P
IL-1/3	35,6 $\pm$ 2,2	3,4 $\pm$ 0,8	<0,001
IL-2	59,7 $\pm$ 3,1	16,2 $\pm$ 1,3	<0,001
IL-4	1,8 $\pm$ 0,4	5,7 $\pm$ 0,7	<0,001
IL-6	6,7 $\pm$ 0,8	4,0 $\pm$ 0,5	<0,001
IL-8	524,3 $\pm$ 14,2	48,4 $\pm$ 3,6	<0,001
IL-10	6,2 $\pm$ 0,5	16,5 $\pm$ 1,4	<0,001
IL-18	121,4 $\pm$ 3,8	38,3 $\pm$ 2,2	<0,001
TNF- α	9,6 $\pm$ 0,7	5,2 $\pm$ 0,6	<0,01
IFN- α	16,8 $\pm$ 1,0	32,5 $\pm$ 0,8	<0,001
IFN- γ	4,9 $\pm$ 0,4	11,7 $\pm$ 0,6	<0,001

Таблица 3

Состояние оксидантной системы крови при ВМД 4-й стадии и в контрольной группе ($M \pm m$)

Table 3

State of the blood oxidant system in age-related macular degeneration stage 4 and in the control group

Показатель перекисного окисления липидов	Больные ВМД 4-й стадии в возрасте 60-75 лет, n=57	Люди в возрасте 60-75 лет без ВМД, n=52	P
Гидроперекиси липидов, отн.ед.	79,2 $\pm$ 1,3	70,3 $\pm$ 0,8	<0,001
Диеновые конъюгаты, отн.ед.	5,4 $\pm$ 0,6	2,1 $\pm$ 0,2	<0,001
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	10,8 $\pm$ 0,9	2,4 $\pm$ 0,3	<0,001

Корреляционный метод у больных с ВМД 4-й стадии показал наличие прямых достоверных связей IL-1 β с уровнем малонового диальдегида ($r = +0,786$, $P < 0,01$), диеновых конъюгатов ($r = +0,542$, $P < 0,01$) и гидроперекисей липидов ($r = +0,186$, $P > 0,05$). Изменение сывороточного IL-8 находится в прямой корреляционной связи с содержанием в крови малонового диальдегида ($r = +0,824$, $P < 0,001$), диеновых конъюгатов ($r = +0,613$, $P < 0,01$) и гидроперекисей

липидов ($r = 0,208$, $P < 0,05$). Средние прямые корреляционные связи установлены также между IL-2, IL-18 и показателями системного свободнорадикального окисления ($P < 0,05$), за исключением гидроперекисей липидов. Между уровнем противовоспалительных интерлейкинов (IL-4, IL-10) и показателями оксидатного статуса больных ВМД 4-й стадии обнаружена обратная зависимость. Так, сывороточный IL-4, имеет обратную среднюю

корреляционную связь с уровнем малонового диальдегида в крови ($r=-0,467$, $P<0,05$) и диеновых конъюгат ($r=-0,502$, $P<0,05$). Изменение IL-10 в сыворотке крови у пациентов с изученной патологией коррелирует с малоновым диальдегидом ($r=-0,513$, $P<0,01$) и гидроперекисью липидов ($r=-0,325$, $P<0,05$). Корреляционные связи других интерлейкинов, интерферонов и показателей перекисного окисления липидов при ВМД недостоверны.

Следовательно, далекозашедшая стадия (AREDS-4) ВМД ассоциируется с нарастанием системной провоспалительной реакции – повышением выработки всех провоспалительных интерлейкинов – и выраженной селективной гиперсекрецией IL-1 β и IL-8, способствующих, по мнению [17, 18], нарастанию локальных ангиогенных эффектов, характерных для поздней 4-й стадии ВМД. Именно эти изменения, на наш взгляд, обуславливают активацию иммунопатологических реакций, что соответствует концепции воспаления в развитии ВМД [17, 18]. Иммунологические нарушения и пожилой возраст играют существенную роль в возникновении и развитии ВМД [14].

Важнейшим фактором в патогенезе ВМД является и усиление процессов свободнорадикального окисления липидов, выявленное нами в виде достоверного повышения гидроперекисей липидов, диеновых конъюгат и малонового диальдегида. Это согласуется с данными Мякотных В.С. и др. [19], установивших, что в пожилом возрасте увеличивается уровень диеновых конъюгат в крови и значительно снижаются показатели антиоксидантной системы в 61-70 лет.

Заключение. Формирование далеко зашедшей стадии ВМД в пожилом возрасте сопровождается существенным повышением всех провоспалительных интерлейкинов и показателей оксидатного статуса на системном уровне. Напротив, продукция противовоспалительных интерлейкинов у больных ВМД пожилого возраста достоверно снижается. Изменения IL-1 β , IL-8, IL-2, IL-18 имеют прямые корреляци-

онные связи с показателями системного свободнорадикального окисления. Уровень противовоспалительных интерлейкинов (IL-4 и IL-10) находится в обратной зависимости с содержанием продуктов перекисного окисления липидов. Следовательно, развитие 4-й стадии ВМД ассоциируется прежде всего с сывороточными IL-1 β , IL-8, IL-4, IL-10, малоновым диальдегидом и диеновыми конъюгатами. Полученные результаты следует использовать в гериатрической практике при рационализации диагностики и терапии больных с далекозашедшей ВМД.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Абдулаева Э.А. Роль системы комплемента и других воспалительных факторов в развитии возрастной макулярной дегенерации // Казанский медицинский журнал. 2018. Т. 99, N 4. С. 657-664. DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ2018-657>
2. Телегина Д.В., Кожевникова О.С., Колосова Н.Г. Молекулярные механизмы гибели клеток в сетчатке при развитии возрастной макулярной дегенерации // Успехи геронтологии. 2016. Т. 29, N 3. С. 424-432.
3. Тур Е.В., Кузнецов А.А., Быстров А.М. Оценка уровня цитокинов слезы у пациентов с неоваскулярной возрастной макулярной дегенерацией // Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10(19), N 3. С. 361-362.
4. Comparison of Clinical Trial and Systematic Review Outcomes for the 4 Most Prevalent Eye Diseases / I.J. Saldanha [et al.] // JAMA Ophthalmol. 2017. Vol. 135, N 9. P. 933-940. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2017.2583
5. Characteristics of symptoms experienced by persons with dry eye disease while driving in China / Y. Wang [et al.] // Eye (Lond). 2017. Vol. 31, N 11. P. 1550-1555. DOI: <https://doi.org/10.1038/eye.2017.88>
6. WHO. Prevention of Blindness and Visual Impairment. Priority Eye Diseases [Electronic]. 2017. URL: <https://www.who.int/blindness/causes/priority/en/index7.html> (дата обращения: 03.05.2018).
7. Present and possible therapies for age-related macular degeneration / M. Khan [et al.] // ISRN ophthalmol. 2014. Vol. 2014. Article ID

608390. DOI:
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/608390>

8. Akpek E.K., Smith R.A. Overview of age-related ocular conditions // *Amer. J. Managed Care*. 2013. Vol. 19, N 5. P. s67-s75.

9. Neighborhood Deprivation and Risk of Age-Related Eye Diseases: A Follow-up Study in Sweden / T. Hamano [et al.] // *Ophthalmic Epidemiol*. 2015. Vol. 22, N 5. P. 308-320. DOI: <https://doi.org/10.3109/09286586.2015.1056537>

10. Nowak M.S., Smigielski J. The Prevalence of Age-Related Eye Diseases and Cataract Surgery among Older Adults in the City of Lodz // *Poland J Ophthalmol*. 2015. Vol. 2015. Article ID 605814. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/605814>

11. Prevalence of age-related macular degeneration in elderly Caucasians: the Tromso eye study / M.G. Erke [et al.] // *Ophthalmology*. 2012. Vol. 119, N 9. P. 1737-1743. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.03.016>

12. Prevalence and pattern of vitreo-retinal diseases in Nepal: the Bhaktapur glaucoma study / S.S. Thapa [et al.] // *BMC Ophthalmology*. 2013. Vol. 13, P. 9. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2415-13-9>

13. Коняев Д.А. Медико-эпидемиологический анализ заболеваемости и анти-VEGF лечения экссудативной формы возрастной макулярной дегенерации в Тамбовской области за 6 лет // *Вестн. Тамбовского Университета*. 2016. Т. 21. С. 1583-1586.

14. Ambati J., Atkinson J.P., Gelfand B.D. Immunology of age-related macular degeneration // *Nature Reviews Immunology*. 2013. Vol. 13. P. 438-451. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri3459>

15. Penfold P.L. Inflammation and age-related macular degeneration // *JAMA*. 2004. Vol. 291, N 6. P. 704-710.

16. Zarbin M.A. Current concepts in the pathogenesis of age – related macular degenerations // *Archives of Ophthalmology*. 2004. Vol. 122, N 4. P. 598-614. DOI: [10.1001/archophth.122.4.598](https://doi.org/10.1001/archophth.122.4.598)

17. Immunological and aetiological aspects of macular degeneration / P.L. Penfold [et al.] // *Prog. Retin. Eye. Res*. 2001. Vol. 20, N 3. P. 385-414. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1350-9462\(00\)00025-2](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(00)00025-2)

18. Penfold P.L. Inflammation and age-related macular degeneration // *JAMA*. 2004. Vol. 291, N 6. P. 704-710. DOI: [10.1001/jama.292.1.43-a](https://doi.org/10.1001/jama.292.1.43-a)

19. Сравнительная биохимия процесса старения мужчин и женщин / В.С. Мякотных [и др.] // *Успехи геронтологии*. 2014. Т. 27, N 4. С.612-620.

References

1. Abdullayeva EA. [The Role of complement system and other inflammatory factors in the development of age-related macular degeneration]. *Kazanskij medicinskij zhurnal*. 2018;99(4):657-664. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ2018-657>

2. Telegina DV, Kozhevnikova OS, Kolesova NG. [Molecular mechanisms of cell death in the retina in the development of age-related molecular degeneration]. *Uspekhi gerontologii*. 2016;29(3):424-432. Russian

3. Tur EV, Kuznetsov AA, Bystrov AM. [Evaluation of tear cytokine level in patients with neovascular age-related macular degeneration]. *Rossiiskij immunologicheskij zhurnal*. 2016;10(19)(3):361-362. Russian

4. Saldanha IJ, Lindsley K, Do DV, et al. Comparison of Clinical Trial and Systematic Review Outcomes for the 4 Most Prevalent Eye Diseases. *JAMA Ophthalmol*. 2017;135(9):933-940. DOI: [10.1001/jamaophthalmol.2017.2583](https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2017.2583)

5. Wang Y, Lv H, Liu Y, et al. Characteristics of symptoms experienced by persons with dry eye disease while driving in China. *Eye (Lond)*. 2017 June 16;31(11):1550-1555. DOI: <https://doi.org/10.1038/eye.2017.88>

6. WHO. Prevention of Blindness and Visual Impairment. Priority Eye Diseases [Internet]. 2017 [cited 2018 May 03]. Available from: <https://www.who.int/blindness/causes/priority/en/index7.html>.

7. Khan M, Agarwal K, Loutfi M, et al. Present and possible therapies for age-related macular degeneration. *ISRN ophthalmol*. 2014 Apr;2014:608390. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/608390>

8. Akpek EK, Smith RA. Overview of age-related ocular conditions. *Amer. J. Managed Care*. 2013 May;19(5):s67-s75.

9. Hamano T, Li X, Tanito M, et al. Neighborhood Deprivation and Risk of Age-Related Eye Diseases: A Follow-up Study in Sweden. *Ophthalmic Epidemiol*. 2015 Sep 23;22(5):308-320. DOI: <https://doi.org/10.3109/09286586.2015.1056537>

10. Nowak MS, Smigielski J. The Prevalence of Age-Related Eye Diseases and Cataract Surgery among Older Adults in the City of Lodz.

Poland J Ophthalmol. 2015 Feb 19;2015:605814.
DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/605814>

11. Erke MG, Bertelsen G, Peto T, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in elderly Caucasians: the Tromso eye study. Ophthalmology. 2012 Sep;119(9):1737-1743. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.03.016>

12. Thapa SS, Thapa R, Paudyal I, et al. Prevalence and pattern of vitreo-retinal diseases in Nepal: the Bhaktapur glaucoma study. BMC Ophthalmology. 2013 March 28;13:9. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2415-13-9>

13. Konyaev DA. [Medical and epidemiological analysis of morbidity and anti-VEGF treatment of exudative forms of age-related macular degeneration in the Tambov region for 6 years]. Vestn. Tambovskogo Universiteta. 2016;21:1583-1586. Russian.

14. Ambati J, Atkinson JP, Gelfand BD. Immunology of age-related macular degeneration. Nature Reviews Immunology. 2013 May 24;13:438-451. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri3459>

15. Penfold PL. Inflammation and age-related macular degeneration. JAMA. 2004;291(6):704-710.

16. Zarbin MA. Current concepts in the pathogenesis of age – related macular degenerations. Archives of Ophthalmology. 2004;122(4):598-614. DOI: [10.1001/archophth.122.4.598](https://doi.org/10.1001/archophth.122.4.598)

17. Penfold PL, Madigan MC, Gillies MC, et al. Immunological and aetiological aspects of macular degeneration. Prog. Retin. Eye. Res. 2001

May;20(3):385-414.

DOI: [https://doi.org/10.1016/S1350-9462\(00\)00025-2](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(00)00025-2)

18. Penfold PL. Inflammation and age-related macular degeneration. JAMA. 2004;291(6):704-710. DOI: [10.1001/jama.292.1.43-a](https://doi.org/10.1001/jama.292.1.43-a)

19. Myakotnykh VS, Berezina DA, Borovkova TA, et al. [Comparative biochemistry of the aging process of men and women]. Advances in gerontology. 2014;27(4):612-620. Russian.

Статья поступила в редакцию 25 ноября 2019 г.
Поступила после доработки 30 декабря 2019 г.
Принята к печати 12 января 2020 г.

Received 25 November 2019

Revised 30 December 2019

Accepted 12 January 2020

Информация об авторе

Дмитрий Александрович Коняев, врач-офтальмолог, заведующий операционным блоком, Тамбовский филиал ФГАУ МНТК «Микрохирургия глаза имени академика С.Н. Фёдорова», E-mail: vitalaxen@mail.ru.

Information about the author

Dmitry A. Konyaev, Ophthalmologist, Head of the Operating Unit, Academician S.N. Fedorov Eye Microsurgery Complex, Tambov Branch, E-mail: vitalaxen@mail.ru.



УДК 616-008.331.1

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-11

Е.А. Маркелова¹,
Ю.А. Лутай²

Ассоциация нарушений липидного, углеводного обмена
с показателями артериального давления в утренние
и вечерние часы у пациентов с метаболическим
синдромом пожилого возраста

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу средств медицинского применения», ул. 50 лет Октября, д. 122, г. Курск, 305040, Российская Федерация

² Медицинская академия имени С.И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»,
бул. Ленина, д. 5/7, г. Симферополь, 295051, Российская Федерация
Автор для переписки: Е.А. Маркелова (vitalaxen@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Ассоциированный с артериальной гипертензией, нарушениями липидного и углеводного обмена метаболический синдром в пожилом и старческом возрасте встречается часто, что указывает на актуальность его изучения, в том числе исследование параметров артериального давления в утренние и вечерние часы. **Цель исследования:** Анализ показателей гемодинамики и особенностей липидного, углеводного обмена у пожилых больных с метаболическим синдромом и артериальной гипертензией. **Материалы и методы:** Вышеуказанные нарушения анализировались у 156 больных с метаболическим синдромом. Для определения артериального давления применялся аппарат АВРМ-04 фирмы Meditech. Углеводный и липидный обмен оценивались по общепринятым методикам. **Результаты:** У пожилых больных с метаболическим синдромом и артериальной гипертензией в сравнении с пациентами среднего возраста установлены достоверные различия в максимальной величине систолического и диастолического артериального давления, максимального индекса утренних часов. В вечерние часы выраженные различия в сравниваемых группах имелись для величин систолического и диастолического артериального давления. Установлена существенная дислипидемия и гипергликемия у пожилых больных с метаболическим синдромом в сравнении с контролем. На основе корреляционного метода в основной и контрольной группах выявлены достоверные прямые связи ($r=+0,365$ и $r=+0,318$, $P<0,05$) между содержанием в сыворотке крови триглицеридов и глюкозы, между уровнем липопротеидов низкой плотности и глюкозой ($r=+0,412$ и $r=+0,348$, $P<0,05$). У больных пожилого возраста с метаболическим синдромом установлены прямые умеренные связи между содержанием триглицеридов, коэффициентом атерогенности и систолическим артериальным давлением в утренние часы и вечерние время. **Заключение:** Установлены достоверные различия в параметрах артериального давления у изучаемых больных среднего и пожилого возраста. Выявлены существенная дислипидемия и гипергликемия у пожилых больных с метаболическим синдромом в сравнении с контролем. Отмеченные закономерности

необходимо использовать для диагностики и совершенствования медикаментозного лечения метаболического синдрома в пожилом возрасте.

Ключевые слова: метаболический синдром; артериальная гипертензия; пожилой возраст

Для цитирования: Маркелова ЕА, Лутай ЮА. Ассоциация нарушений липидного, углеводного обмена с показателями артериального давления в утренние и вечерние часы у пациентов с метаболическим синдромом пожилого возраста. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):126-134. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-11

Elena A. Markelova¹,
Yuliya A. Lutay²

Association of lipid and carbohydrate metabolism disorders with blood pressure indicators in the morning and evening hours in patients with elderly metabolic syndrome

¹ Information and Methodological Center for Examination Accounting and Analysis of Medical Applications,

122 50 Let Oktyabrya St., Kursk, 305040, Russia

² Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU,

5/7 Lenin Ave., Simferopol, 295051, Russia

Corresponding author: Elena A. Markelova (vitalaxen@mail.ru)

Abstract

Background: Metabolic syndrome associated with hypertension, lipid and carbohydrate metabolism disorders in the elderly and senile is common, which indicates the relevance of its study, including the study of blood pressure parameters in the morning and evening hours. **The aim of the study:** Analysis of hemodynamic parameters and characteristics of lipid, carbohydrate metabolism in elderly patients with metabolic syndrome and arterial hypertension. **Materials and methods:** The above disorders were analyzed in 156 patients with metabolic syndrome. To determine the blood pressure there was used the device AVRМ-04 of the Meditech company. Carbohydrate and lipid metabolism were assessed by conventional methods. **Results:** In elderly patients with metabolic syndrome and hypertension, compared with middle-aged patients, significant differences were found in the maximum value of systolic and diastolic blood pressure, and the maximum morning hours index. In the evening hours, pronounced differences in the compared groups were for the values of systolic and diastolic blood pressure. Significant dyslipidemia and hyperglycemia were established in elderly patients with metabolic syndrome in comparison with the control. On the basis of the correlation method in the main and control groups, reliable direct connections were revealed ($r = +0,365$ and $r = +0,318$, $P < 0,05$) between the content of triglycerides and glucose in the blood serum, between the level of low-density lipoproteins and glucose ($r = +0,412$ and $r = +0,348$, $P < 0,05$). In elderly patients with metabolic syndrome, direct moderate associations were established between triglyceride content, atherogenicity coefficient and systolic blood pressure in the morning and evening. **Conclusion:** Significant differences in blood pressure parameters were established in the studied patients of middle and old age. Significant dyslipidemia and hyperglycemia were revealed in elderly patients with metabolic syndrome in comparison with the control. The noted patterns must be used to diagnose and improve drug treatment of the metabolic syndrome in the elderly.

Keywords: metabolic syndrome; arterial hypertension; old age

For citation: Markelova EA, Lutay YuA. Association of lipid and carbohydrate metabolism disorders with blood pressure indicators in the morning and evening hours in patients with elderly metabolic syndrome. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):126-134. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-11

Введение. Совокупность гормональных, клинических и метаболических нарушений, сопровождающихся абдоминальным ожирением, артериальной гипертензией (АГ) и инсулинорезистентностью рассматривается в настоящее время исследователями как метаболический синдром (МС) [1, 2]. В связи с высокой распространенностью, и особенно среди пожилого населения, МС во многих странах приобретает пандемический характер [3, 4, 5].

Актуальность МС у пожилых обусловлена повышенным риском развития различных сердечно-сосудистых заболеваний, являющихся ведущей причиной утраты временной и стойкой трудоспособности, смертности и наносящих существенный экономический ущерб в индустриальных странах [3, 6]. Связь между АГ и ожирением рассматривается как причинно-следственные отношения через потенциальную двустороннюю взаимосвязь между повышенным артериальным давлением (АД) и ожирением [7]. Ожирение значительно ухудшает прогноз, способствует прогрессированию сосудистых изменений, ускоряет развитие АГ и определяет влияние ожирения на развитие МС.

Возникающие нарушения при АГ с ожирением можно трактовать как фактор, во многом определяющий возникновение и течение заболевания, причину ухудшения его течения, развитие и прогрессирование процесса [8, 9, 10].

Несмотря на то, что артериальная гипертензия (АГ) у пациентов трудоспособного возраста является самым распространенным кардиологическим заболеванием, только в 8% случаев АГ встречается в изолированном виде, а в остальных случаях она сочетается с одним, двумя и более факторами кардиоваскулярного риска. Так, в 20-22% случаев АГ сочетается с гипер-

липидемией (преимущественно гиперхолестеринемией, в 30% случаях - с гиперлипидемией и избыточной массой тела (или ожирением), тогда как у 32% больных имеются АГ, дислипидемия, ожирение и различные нарушения углеводного обмена [10, 11]. Поэтому АГ все чаще рассматривается в настоящее время как одна из патологий, объединенных в понятие «метаболический синдром» (МС).

МС, одним из проявлений которого считается АГ, в пожилом и старческом возрасте АГ протекает с некоторыми особенностями, к числу которых относятся:

1. Заболевание чаще возникает в позднем периоде жизни человека (6-8 десятилетие). Реже является продолжением болезни, начавшейся в более ранний период жизни, но приобретает характерные особенности поздней АГ.

2. Клинически характеризуется меньшей выраженностью болезненных ощущений, что затрудняет раннюю диагностику.

3. В связи с возрастными изменениями атериальных сосудов и гемодинамики наблюдается относительно высокий уровень САД и низкий уровень ДАД, что ведет к увеличению пульсового давления.

4. Увеличение сердечного выброса (гипертонический тип кровообращения).

5. Не наблюдается выраженная гипертрофия левого желудочка из-за возрастного понижения метаболизма в миокарде.

6. Очень быстро присоединяются симптомы функциональной недостаточности важнейших органов и систем в связи с возрастными изменениями и прогрессирующим атеросклерозом.

7. Значительно чаще, чем у молодых, развиваются такие тяжелые осложне-

ния, как инфаркт миокарда, инсульт, почечная недостаточность, даже от незначительных дополнительных неблагоприятных воздействий [12].

Однако в настоящее время, несмотря на выполненные исследования обсуждаемой проблеме, недостаточно изученным остаются показатели суточного мониторинга АД у больных МС и АГ с расчётом количественных параметров и оценкой нарушений липидного обмена.

Цель работы – анализ показателей гемодинамики и особенностей липидного, углеводного обмена у пожилых больных с МС и АГ.

Материал и методы исследования. В амбулаторных условиях на базе горбольницы №2 в 2016-2018 гг. обследовано 156 пациентов с МС и АГ. Среди обследованных 156 пациентов с МС и АГ 72 человека отнесены к группе больных среднего возраста (45-59 лет), а 84 пациента к группе пожилых (60-75). Деление больных с МС и АГ на пожилых и среднего возраста проведено в соответствии с классификацией ВОЗ [13]. Критериями включения в исследование являлись: наличие МС, первичная АГ II-III степени, отсутствие острого инфаркта миокарда, злокачественных новообразований, нарушений мозгового кровообращения, почечной недостаточности за последние 6 месяцев. Диагностика МС и АГ проводилась в соответствии с Рекомендациями экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению МС [Рекомендации]. В основной группе было 42% мужчин и 58% женщин, в контроле – 45% и 55%. Средний возраст составил соответственно $69,8 \pm 3,7$ лет и $53,6 \pm 2,8$ лет. Длительность заболевания в среднем составила $15,9 \pm 2,5$ лет в основной группе больных и $8,2 \pm 1,5$ года – в контроле. ХСН I-II ФК зарегистрирована в 52,8% случаев в основной и 33,5% - в контроле. Среди сопутствующей патологии часто встречался тромбофлебит вен нижних конечностей в 21,8% и 17,2% соответственно. У всех пациентов получено письменное согласие на участие в исследовании. Лечение пациентов включало диету, комбинированные антигипертензивные

препараты, статины в течение 6 месяцев. Обследовались пациенты до начала и после лечебных мероприятий. Изучение липопротеидов проводилось на биохимическом анализаторе «Kone Basic» (Финляндия) ферменто-колориметрическим способом. Для оценки углеводного обмена определялась глюкоза в крови натощак посредством биохимического полуанализатора FP-901 Labsystem (Finland). Артериальное давление исследовалось методом суточного мониторинга при помощи прибора фирмы «Meditech». Показатели суточного мониторинга рассчитывались по методике Рогоза А.Н. и др. [14].

Статистический анализ выполнен на персональном компьютере IBM-PC посредством пакета «Statistica 6.0». Анализ ассоциаций изучаемых параметров выполнен посредством корреляционного метода. Для исследуемых показателей рассчитывались среднеарифметические величины и средние ошибки. При анализе сравнивались средние величины больных основной и контрольной групп. Достоверность различий осуществлялась с помощью критерия Т – Уайта и Стьюдента. Различие считалось достоверным при $P < 0,005$.

Результаты и их обсуждение. Анализ показателей липидного и углеводного обмена у больных МС пожилого и среднего возраста выявил репрезентативное различие по ряду параметров (табл. 1).

Полученные результаты свидетельствует, что липидный обмен нарушен в большей степени среди больных МС в пожилом возрасте. Так, в названной группе достоверно выше уровень триглицеридов, липопротеидов низкой плотности, общего холестерина. Содержание глюкозы в крови представителей с МС пожилого возраста превышает достоверно аналогичный показатель среди больных МС среднего возраста. Статистически значимые различия отсутствовали в уровне липопротеидов высокой плотности и мочевой кислоты в крови сравниваемых групп пациентов ($P > 0,05$). Ожирение установлено в обеих группах с небольшим различием в группе больных МС пожилого возраста.

Таблица 1

Особенности липидного и углеводного обмена у больных МС и АГ пожилого и среднего возраста (M±m)

Table 1

Features of lipid and carbohydrate metabolism in elderly and middle-aged patients with MS and AH (M±m)

Название показателя, единица измерения	Пациенты пожилого возраста, n=84	Пациенты среднего возраста, n=72	P
Триглицериды, ммоль/л	2,7 ± 0,3	1,3 ± 0,2	<0,001
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	1,2 ± 0,5	1,6 ± 0,3	>0,05
Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	6,1 ± 0,4	4,8 ± 0,2	<0,01
Коэффициент атерогенности	4,2 ± 0,2	3,1 ± 0,3	<0,05
Глюкоза, ммоль/л	5,8 ± 0,2	4,9 ± 0,3	<0,01
Общий холестерин, ммоль/л	7,0 ± 0,4	5,2 ± 0,3	<0,001
Мочевая кислота, ммоль/л	328,7 ± 10,2	312,6 ± 9,5	>0,05

Оценка показателей суточного мониторинга АД в утренние часы у пожилых пациентов и среднего возраста с МС свидетельствует о высоком значении максимального систолического АД (табл. 2) и достоверном различии с группой больных среднего возраста. Индекс утренних часов (ИУЧ) имел максимальное значение для систолического АД, который практически в 2 раза выше значения для

максимального ИУЧ для диастолического АД и по сравнению с аналогичным показателем у больных среднего возраста. Не имела существенных различий скорость утреннего подъема (СУП) систолического и диастолического АД. Вместе с тем достоверные различия характерны для величин утреннего подъема систолического АД в сравниваемых группах больных МС.

Таблица 2

Показатели утренних величин АД по данным суточного мониторинга больных пожилого и среднего возраста с МС

Table 2

Indicators of morning values of BP according to daily monitoring of elderly and middle-aged patients with MS

Название показателя, единица измерения	Пациенты пожилого возраста, n=84	Пациенты среднего возраста, n=72	P
Максимальное САД, мм. рт. ст.	161,2±1,8	144,3±2,2	<0,001
Максимальное ДАД, мм. рт. ст.	110,8±2,0	115,5±2,3	>0,05
Максимальный ИУЧ САД мм рт.ст. ² мин ⁻²	1437±51	728±42	<0,001
Максимальный ИУЧ ДАД мм рт.ст. ² мин ⁻²	821±26	543±12	<0,001
СУП САД мм. рт. ст.	22,4±1,2	18,0±1,9	>0,05
СУП ДАД мм. рт. ст.	12,1±0,9	14,3±0,8	>0,05
ВУП САД мм. рт. ст.	59,5±1,7	31,2±2,0	<0,001
ВУП ДАД, мм. Рт. ст.	42,7±1,3	39,5±1,7	>0,05

Определение показателей суточного мониторингирования АД в вечерние часы (табл. 3) выявило неоднозначность изменений. Наибольшие изменения установлены для систолического АД с достоверным различием по отношению к больным МС среднего возраста. Недостоверные различия свойственны индексу времени систо-

лического и диастолического АД ($P>0,05$). Не имели достоверных различий также показатели вариабельности диастолического АД в ночные часы. Однако вариабельность систолического АД в вечернее время репрезентативно выше у пожилых пациентов с МС, чем у больных среднего возраста с МС.

Таблица 3

**Показатели АД по данным суточного мониторингирования у больных с МС
пожилого и среднего возраста в вечерние часы**

Table 3

**Indicators of BP according to daily arterial monitoring in patients with MS elderly
and middle-aged in the evening**

Название показателя, единица измерения	Пациенты пожилого возраста, n=84	Пациенты среднего возраста, n=72	P
САД в вечерние часы, мм рт. ст.	135,6±2,1	129,4±1,8	>0,05
ДАД в вечерние часы, мм рт. ст.	85,4±1,7	87,2±1,9	>0,05
ЧСС за ночь, уд /мин	72,2±1,3	74,5±1,5	>0,05
Индекс времени САД за ночь, %	64,6±2,1	66,3±2,4	>0,05
Индекс времени ДАД за ночное время, %	56,7±2,2	54,6±1,9	>0,05
Вариабельность САД за ночное время, мм рт. ст.	14,8±1,1	10,2±0,8	<0,01
Вариабельность ДАД за ночное время, мм рт. ст.	12,5±0,9	11,7±0,6	>0,05

Корреляционный анализ между рассматриваемыми показателями показал, что между уровнем триглицеридов и глюкозы в основной и контрольной группах выявлена прямая средняя связь ($r=+0,365$ и $r=+0,318$, $P<0,05$), между содержанием липопротеидов низкой плотности и глюкозой $r=+0,412$ и $r=+0,348$ соответственно ($P<0,05$). С уровнем триглицеридов и коэффициентом атерогенности у пациентов пожилого возраста с МС имеется достоверная прямая средняя корреляция с максимальным САД в утренние часы ($r=+0,424$ и $r=+0,562$ соответственно) и в вечерние часы ($r=+0,387$ и $r=+0,608$ соответственно). С величиной ДАД в вечерние часы, уровнем липопротеидов низкой и высокой плотности в основной группе установлены обратные связи ($r=-0,336$ и $r=-0,282$ соответственно) ($P<0,05$).

Данные литературы [15] отмечают также высокую сопряженность нарушений пуринового обмена, в частности гиперури-

кемии (ГУЕ), с ожирением, АГ, нарушениями углеводного и жирового обмена, инсулинорезистентностью и сахарным диабетом. Нами у пациентов пожилого и среднего возраста выявлены прямые корреляции между гипергликемией и дислипидемией, между дислипидемией и некоторыми параметрами суточного мониторингирования АД как в утренние, так и вечерние часы.

В возрасте 50–79 лет распространенность АГ среди женщин значимо выше, чем среди мужчин аналогичного возраста [15]. Максимальный уровень по возрастной распространенности АГ приходится на возраст 80–89-летних. У лиц старше 90 лет частота больных с АГ среди мужчин была ниже, чем у женщин, однако это различие не достигало статистической значимости [15]. Полагают, что увеличению распространенности АГ в старших возрастных группах у женщин способствует изменение гормонального статуса и активности сим-

патической нервной системы. Практически во всех исследованиях имеются указания, что женщины с АГ значительно старше, чем мужчины. Следует отметить различия в формировании с возрастом повышенного АД у женщин и мужчин. Так, если у мужчин с увеличением возраста происходит повышение и систолического, и диастолического АД, то у женщин при росте систолического АД диастолическое не повышается или даже несколько снижается [16]. При этом, как установлено в настоящем исследовании (нами), половина показателей суточного мониторинга АД в утренние часы у больных МС и АГ пожилого возраста достоверно выше, чем в среднем возрасте, что следует учитывать в лечебно-диагностическом процессе названных категорий пациентов. Напротив практически все параметры суточного мониторинга АД в вечерние часы в сравниваемых группах больных не различались. Имеющееся высокое пульсовое АД, отражающее жесткость сосудов, в настоящее время рассматривают как самостоятельный фактор риска при АГ, особенно у лиц пожилого возраста [17].

В клинике АГ у гериатрических больных обращает на себя внимание малосимптомное течение. Особенно скудны субъективные проявления в начале болезни, поэтому к врачу обращаются уже тогда, когда появляются более поздние признаки АГ или происходит ее осложнение. Иногда выявляют случайно при очередном медицинском осмотре. Такое начало болезни объясняется возрастной гипореактивностью нервной системы [12].

Заключение. На основании полученных результатов липидного, углеводного обмена и суточного мониторинга АД у больных пожилого возраста, страдающих МС и АГ, можно утверждать о более выраженных нарушениях названных выше процессов в основной группе с достоверным различием по отношению к аналогичным пациентам среднего возраста. Показатели суточного мониторинга АД в утренние часы у пациентов пожилого возраста достоверно выше таковых, чем у

больных среднего возраста, за исключением максимального ДАД, СУП САД и ДАД, ВУП ДАД. Большинство показателей суточного мониторинга АД в вечерние часы в основной и контрольной группах не различались. Гиперликемия в обеих группах связана с уровнем триглицеридов и липопротеидов низкой плотности в крови. У пожилых больных с МС триглицериды и коэффициент атерогенности оказывают влияние на максимальное САД в утренние и вечерние часы. Дислипидемия и ДАД в вечерние часы в основной группе находится в обратной зависимости. Показатели суточного мониторинга артериального давления в утренние часы превышают таковые, зарегистрированные в вечерние часы. Кроме того, максимальный индекс утренних часов систолического артериального давления почти в 2 раза превышает максимальный индекс утренних часов диастолического артериального давления.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Рыжак Г.А., Желтышева Ж.А. Особенности метаболического синдрома у женщин пожилого возраста с ишемической болезнью сердца и артериальной гипертензией // Успехи геронтологии. 2012. Т. 25, N 1. С. 79-83.
2. Метаболический синдром и когнитивные дисфункции у лиц пожилого возраста: женщины – группа риска / Е.А. Дубинина [и др.] // Артериальная гипертензия. 2014. Т. 20, N 4. С. 238-248.
3. Шамонина Т.Н., Радаева О.А., Новикова Л.В. Полиморфизм генов *il-1β* при артериальной гипертензии у пациентов с метаболическим синдромом // Фундаментальные исследования. 2014. N 6. С. 1195-1198.
4. Metabolic syndrome and longitudinal changes in cognitive function: a systematic review and meta-analysis / M. Siervo [et al.] // J. Alzheimer Dis. 2014. Vol. 41, N 1. P. 151-161. DOI: 10.3233/JAD-132279
5. The Effect OF Gender on mesenchymal stem cell (MSC) efficacy in neonatal hyperoxia-induced lung injury / I. Sammour [et al.] // PLoS One. 2016. Vol. 11(10). P. e0164269.

DOI:

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164269>

6. Изменения содержания цитокинов у больных артериальной гипертензии с ожирением в зависимости от длительности заболевания / В.А. Капустник [и др.] // Міжнародний ендокринологічний журнал. 2016. № 8(80). С. 40-44. DOI: 10.22141/2224-0721.8.80.2016.89537

7. Ожирение как фактор сердечно-сосудистого риска: акцент на качество и функциональную активность жировой ткани / М.А. Дружилов [и др.] // Российский кардиологический журнал. 2015. Т. 20, № 4. С. 111-117. DOI: 10.15829/1560-4071-2015-04-111-117

8. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А. Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть 4. Динамика процесса // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2014. Т. 58, № 4. С. 4-16.

9. Zhang C. The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction // Basic Res. Cardiol. 2008. Vol. 103(5). P. 398-406. DOI: 10.1007/s00395-008-0733-0

10. Коваль С.Н., Божко В.В., Снегурская И.А. Современные представления о возможности прогнозирования течения артериальной гипертензии при метаболическом синдроме // Артериальная гипертензия. 2012. № 6(26). С. 34-39.

11. World Health Organization (2008) 2008-2013 Action plan for the global strategy for the prevention and control of noncommunicable diseases. WHO, Geneva, 2014. 186 p.

12. Сатыбалдиева А.Д., Базаргазшызы Г., Насырбекова Д.К. Особенности течения эссенциальной артериальной гипертензии у лиц пожилого и старческого возраста // Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей. 2017. № 1. С. 22-28.

13. Возрастная классификация Всемирной организации здравоохранения. Женева: ВОЗ, 2005.

14. Рогоза А.Н. Суточное мониторирование артериального давления // Сердце. 2002. № 5. С. 240-242.

15. Глезер М.Г. Гендерные особенности и лечение артериальной гипертензии у людей пожилого возраста // Клиническая геронтология. 2012. Т. 18, № 5-6. С. 3-10.

16. Assessment of cognitive function in patients with essential hypertension treated with lercanidipine / J. Tisais-Sánchez [et al.] // Vasc Health Risk Manag. 2006. Vol. 2, № 4. P. 491-498. DOI: 10.2147/vhrm.2006.2.4.491

17. Igase M., Kohara K., Miki T. The Association between Hypertension and Dementia in the Elderly // Int. J. Hypertens. 2012. Vol. 2012. P. 320648. DOI: 10.1155/2012/320648

References

1. Ryzhak GA, Zheltysheva ZhA. [Features of metabolic syndrome in elderly women with coronary heart disease and arterial hypertension]. Advances in gerontology. 2012;25(1):79-83. Russian.

2. Dubinina EA, Rotar OP, Moguchaya EV, et al. [Metabolic syndrome and cognitive dysfunctions in older adults: women are a risk group]. Arterial hypertension. 2014;20(4):238-248. Russian.

3. Shamoniina TN, Radaeva OA, Novikova LV. [IL-1 β in arterial hypertension in patients with metabolic syndrome]. Fundamental researches. 2014;6:1195-1198. Russian.

4. Siervo M, Harrison SL, Jagger C, et al. Metabolic syndrome and longitudinal changes in cognitive function: a systematic review and meta-analysis. J. Alzheimer Dis. 2014;41(1):151-161. DOI: 10.3233/JAD-132279

5. Sammour I, Somashekar S, Huang J, et al. Effect of sex on the efficiency of mesenchymal stem cells (MSCs) in neonatal lung damage caused by hyperoxia. PLoS One. 2016;11(10):e0164269. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164269>

6. Kapustnik A, Kostyuk IF, Shelest BA, et al. [Changes of Cytokine Level in Patients with Hypertension and Obesity, Depending on the Duration of the Disease]. Journal of endocrinology. 2016;8(80):40-44. Russian. DOI: 10.22141/2224-0721.8.80.2016.89537

7. Druzhilov MA, Druzhilova O Yu, Betelleva YuE, et al. [Obesity as a cardiovascular risk factor: an accent on quality and functional activity of the adipose tissue]. Russian journal of cardiology. 2015;20(4):111-117. Russian. DOI: 10.15829/1560-4071-2015-04-111-117

8. Gusev EYu, Chereshnev VA. [Systemic inflammation: theoretical and methodological approaches to description of general pathological process model. Part IV. A dynamics of the process]. Pathological physiology and experimental therapy. 2014;58(4):4-16. Russian.

9. Zhang C. The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction. Basic research in cardiology. 2008;103(5):398-406. DOI: 10.1007/s00395-008-0733-0

10. Koval SN, Bozhko VV, Snegurskaya IA. [Modern Views on the Possibility of Predicting the Clinical Course of Arterial Hypertension in Metabolic Syndrome]. Arterial hypertension. 2012;6(26):34-39. Russian.

11. The World Health Organization (2008) Action Plan 2008-2013 for the global strategy for the prevention and control of noncommunicable diseases. WHO, Geneva; 2014.

12. Satubaldyeva AD, Bazagazukuzu G, Nasurbekova DK. [Features of a course essential arterial hypertension in persons of advanced and senile age (review)]. Bulletin of the Almaty State Institute of Advanced Training of Physicians. 2017;1:22-28. Russian.

13. The age classification of the World Health Organization. Geneva: WHO; 2005.

14. Rogoza AN. [Daily monitoring of blood pressure]. Heart. 2002;5:240-242. Russian.

15. Glezer MG. [Gender features and treatment of hypertension in the elderly]. Clinical gerontology. 2012;5-6:3-10. Russian.

16. Tisaire-Sánchez J, Roma J, Camacho-Azcargorta I, et al. Assessment of cognitive function in patients with essential hypertension treated with lercanidipine. Vasc Health Risk Manag. 2006;2(4):491-498. DOI: 10.2147/vhrm.2006.2.4.491

17. Igasom M, Kohara K, Miki T. The Association between Hypertension and Dementia in the Elderly. Int. J. Hypertens. 2012;2012:320648. DOI: 10.1155/2012/320648

Информация об авторах

Елена Александровна Маркелова, врач, ФГБУ «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу средств медицинского применения», E-mail: vitalaxen@mail.ru, ORCID: 0000-0003-4739-1806.

Юлия Александровна Лутай, кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии, гастроэнтерологии, кардиологии и общей врачебной практики (семейной медицины), Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», E-mail: office@ma.sfuv.ru.

Статья поступила в редакцию 14 октября 2019 г.
Поступила после доработки 11 декабря 2019 г.
Принята к печати 25 декабря 2019 г.

Received 14 October 2019

Revised 11 December 2019

Accepted 25 December 2019

Information about the authors

Elena A. Markelova, Doctor, Information and Methodological Center for Expertise, Accounting and Analysis of Medical Applications, E-mail: vitalaxen@mail.ru, ORCID: 0000-0003-4739-1806.

Yuliya A. Lutay, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Therapy, Gastroenterology, Cardiology and General Medical Practice (Family Medicine), Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, E-mail: office@ma.sfuv.ru.



УДК 616.89:616-036.1

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-12

В.В. Руженкова

**Распространенность и клиническая структура
психических расстройств у студентов медиков
(проблемы первичной и вторичной психопрофилактики)**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»),
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация
Автор для переписки: В.В. Руженкова (ruzhenkova@bsu.edu.ru)

Аннотация

Актуальность: В связи с высокой нагрузкой во время обучения хронический стресс шире распространен среди студентов-медиков выше, чем в населении в целом. В результате возрастает тревожность и нейротизм, снижается работоспособность, появляются расстройства сна с высоким риском возникновения стресс-индуцированных психических расстройств. **Цель исследования:** Верификация распространенности и клинической структуры пограничных психических расстройств (ППР) у студентов медиков 1 и 5 курсов для разработки рекомендаций по первичной и вторичной психопрофилактике. **Материалы и методы:** Обследована сплошная выборка – 482 студента 1 и 5 курсов: 132 (27,4%) лиц мужского и 350 (72,6%) женского пола, в том числе: 265 человек 1 курса и 217 – пятого. Применялись клинико-психопатологический, медико-социологический и психометрический методы исследования. Для обработки базы данных использовались непараметрические статистические методы при помощи пакета прикладных статистических программ Statistica 6.0. **Результаты:** ППР диагностированы у 20% обследованных, чаще они выявлялись у студентов старших курсов – 24,4%, чем младших – 16,2%. В 18,8% случаев регистрировались непатологические донозологические реакции. Невротические, связанные со стрессом и соматоформные расстройства обнаруживались у 8,5% студентов, охватывая 42,7% среди всех ППР. Реже выявлялись органические психические расстройства (5,0%) и расстройства личности (3,7%). Кроме того, в 2,7% случаев диагностированы аффективные расстройства настроения. Для студентов с ППР и непатологическими реакциями более значимыми были половина учебных стрессовых факторов, более выраженные симптомы учебного и предэкзаменационного стресса, а младшекурсники чаще, чем сверстники без психических расстройств прибегали к табакокурению и употреблению алкоголя. **Заключение:** Фактором риска формирования ППР и непатологических реакций могут выступать роды посредством кесарева сечения, а прогностическим фактором – наличие в дошкольном возрасте фрагментарных невротических проявлений с обращением за помощью к адептам «народной медицины». С целью первичной и вторичной психопрофилактики пограничных психических расстройств во время обучения в ВУЗе целесообразна реализация тренинга «Стресс-менеджмент», направленного на обучение студентов конструктивным способам борьбы со стрессом, снижение уровня тревоги и депрессии.

Ключевые слова: студенты медики; психические расстройства; непатологические реакции; психопрофилактика

Для цитирования: Руженкова ВВ. Распространенность и клиническая структура психических расстройств у студентов медиков (проблемы первичной и вторичной психопрофилактики). Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):135-153. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-12

Victoria V. Ruzhenkova

The prevalence and clinical structure of mental disorders in medical students (problems of primary and secondary psychoprophylaxis)

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

Corresponding author: Victoria V. Ruzhenkova (ruzhenkova@bsu.edu.ru)

Abstract

Background: The prevalence of chronic stress among medical students is higher than in the general population due to the high academic load. As a result, anxiety and neurotism increase, working capacity decreases, sleep disorders appear with a high risk of stress-induced mental disorders. **The aim of the study:** This study is aimed to verify the prevalence and clinical structure of borderline mental disorders in freshmen and senior medical students to develop recommendations for primary and secondary psychoprophylaxis. **Materials and methods:** A sample of 482 students was examined: 265 first-year students and 217 fifth-year students. The sample included 132 (27.4%) male and 350 (72.6%) female students. The examination was based on clinical, psychopathological, medical, sociological and psychometric research methods. Statistical processing of the database was carried out by nonparametric statistics using the statistical software package Statistica 6.0. **Results:** Borderline mental disorders were diagnosed in 20% of cases, more often in senior students – 24.4%, than in younger ones – 16.2%. In 18.8% of cases, non-pathological prenosological reactions were recorded. Almost half of all mental disorders (42.7%) were neurotic, stress-related and somatoform disorders – 8.5% of the examined. Organic psychiatric disorders (5%) and personality disorders (3.7%) were less common. In addition, in 2.7% of cases, affective mood disorders were diagnosed. For students with mental disorders and non-pathological reactions, training stress factors were more significant, they have more pronounced symptoms of educational and pre-examination stress, and first-year students were more often prone to smoking and drinking alcohol than peers without mental disorders. **Conclusion:** Child-birth by means of cesarean section can act as a risk factor for the formation of borderline mental disorders and non-pathological reactions, and the presence of fragmentary neurotic manifestations in preschool age with the appeal to the adherents of “traditional medicine” in the preschool age. In order to arrange primary and secondary psychoprophylaxis of borderline mental disorders during training at the university, it is advisable to implement the “Stress management” training, aimed at teaching students constructive ways to deal with stress, reduce anxiety and depression.

Keywords: medical students; mental disorders; non-pathological reactions; psychoprophylaxis

For citation: Ruzhenkova VV. The prevalence and clinical structure of mental disorders in medical students (problems of primary and secondary psychoprophylaxis). Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):135-153. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-12

Введение. Учебная нагрузка в медицинских институтах, по усредненным оценкам, в 2 раза выше, чем в других ВУЗах [1, 2], а само обучение является эмоционально напряженным. Это отражается на психическом и соматическом здоровье студентов [3, 4, 5] – частота психических расстройств среди молодежи в возрасте 18-19 лет выше таковой среди лиц среднего возраста [6]. Распространенность хронического стресса среди студентов-медиков составляет от 38% до 62%, что превышает показатели населения в целом [7, 8].

Стрессовое состояние студентов негативно сказывается на трудоспособности, в результате ухудшается посещаемость занятий и успеваемость [9, 10]. Студенты, испытывающие стресс, чаще прибегают к табакокурению, употребляют психоактивные вещества: наркотики, алкоголь [11].

В связи со стрессом у студентов-медиков возрастает тревожность и нейротизм [12], снижается работоспособность, нередко развиваются заболевания желудочно-кишечного тракта, почти у половины учащихся появляются проблемы со сном [13], что способствует возникновению стресс-индуцированных расстройств [4], и приводит к снижению уровня профессиональной подготовки [14, 15]. Отмечается широкая распространенность депрессии и тревоги, которые являются значимыми предикторами учебного стресса и суицидального поведения [16, 17]. Предболезненные состояния среди студентов медицинских ВУЗов выявляются чаще, чем среди учащихся технических направлений [18], и большинством учащихся воспринимаются как «малосущественные эпизоды плохого самочувствия», не требующие лечения, в связи с чем они не обращаются к врачам и не получают вовремя психиатрическую и психологическую помощь [19]. Все это ведет к росту распространенности выгорания и психических

расстройств среди студентов медицинских институтов [20].

Университетские системы поддержки студентов имеют большое значение для профилактики учебного стресса [21]. При этом, студенты-медики с высоким уровнем тревоги и депрессии, опасаясь дискриминации [22], откладывают обращение за специализированной помощью до тех пор, пока ситуация не станет опасной для их психического здоровья [23, 24]. В то же время удовлетворение индивидуальных потребностей студентов и обеспечение им безопасной среды являются основными элементами успешной программы самопомощи в стрессовых ситуациях [25], а получение консультативной медико-психологической помощи повышает уровень общего функционирования студентов медиков [26].

В связи с этим **целью исследования** была верификация распространенности и клинической структуры ППР у студентов медиков 1 и 5 курсов для разработки рекомендаций по первичной и вторичной психопрофилактике.

Материал и методы исследования. Обследована сплошная выборка – 482 студента 1 и 5 курсов: 132 (27,4%) лиц мужского и 350 (72,6%) женского пола, в том числе: 265 человек 1 курса – 68 (25,7%) лиц мужского и 197 (74,3%) женского пола в возрасте 16-22 ($18,0 \pm 1,0$) года и 217 человек 5 курса – 64 (29,5%) лица мужского и 153 (70,5%) женского пола в возрасте 20-29 ($21,9 \pm 1,2$) года.

Исследование проводилось с исследуемых методов: клиничко-психопатологический (клиническое интервью, сбор субъективного анамнеза, наблюдение), психометрический (тест на учебный стресс, госпитальная шкала тревоги и депрессии – HADS, SPIN-тест для диагностики социофобии, тест GAD-7 для диагностики генерализованного тревожного

расстройства) и статистический (методы описательной статистики, критерий χ^2 с поправкой Йетса для таблиц сопряженности 2x2, критерий Манна-Уитни для сравнения двух независимых групп) при помощи пакета статистических программ Statistica 6.0.

Клинический диагноз устанавливался в соответствии с отечественными клиническими классификациями и сопоставлялись с рубриками МКБ-10. Донозологические психические расстройства диагностировались по критериям, предложенным С.Б. Семичевым [27] и Ю.А. Александровским [28].

Результаты и их обсуждение. Установлено (табл. 1), что в общей сложности расстройства психической сферы диагностированы у 20% обследованных, причем они выявлялись чаще ($\chi^2=4,526$ $p=0,034$; $OR=1,7$ $95\%CI=1,0-2,7$) у студентов 5 курса – 24,4%, чем первого – 16,2%. Отноше-

ние шансов свидетельствует, что вероятность выявления психических расстройств у студентов старших курсов в 1,7 раза выше, чем у младших. В значительном числе случаев – 18,8% регистрировались непатологические донозологические реакции, одинаково часто у первокурсников (18,1%) и учащихся 5 курса (19,8%), без гендерных различий.

Среди психических расстройств в совокупности наиболее часто (без статистически значимых различий) выявлялись органические психические расстройства (5%), расстройства личности (3,7%), расстройства адаптации (3,5%), неврастения (3,3%), аффективные расстройства настроения (2,7%) и соматоформная вегетативная дисфункция (1,7%). Почти половину среди всех психических расстройств (42,7%) занимали невротические, связанные со стрессом и соматоформные расстройства, выявленные у 8,5% обследованных.

Таблица 1

Клиническая структура психических расстройств у студентов медиков 1 и 5 курса

Table 1

Clinical structure of mental disorders in first-year and fifth-year medical students

Клинический диагноз	1 курс				Всего		5 курс				Всего		ВСЕГО	
	М		Ж				М		Ж					
	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
Σ Без психических расстройств	57	81,4	165	84,5	222	83,8	52	81,3	112	73,2	164	75,6	386	80,1
Психически здоровые	48	68,6	126	64,6	174	65,7	44	68,8	77	50,3	121	55,7	295	61,2
Непатологическая астено-вегетативная реакция	3	4,3	17	8,7	20	7,5	4	6,3	14	9,2	18	8,3	38	7,9
Непатологическая астено-невротическая реакция с заострением преморбидных личностных черт	6	8,5	22	11,3	28	10,6	4	6,6	21	13,7	25	11,5	53	11,0
Σ Психические расстройства	13	18,6	30	15,5	43	16,2	12	18,8	41	26,9	53	24,4	96	19,9
Органические психические р-ва	4	5,7	7	3,6	11	4,2	2	3,1	11	7,2	13	6,0	24	5,0
Аффективные р-ва настроения	1	1,4	4	2,1	5	1,9	2	3,1	6	3,9	8	3,8	13	2,7
Расстройства личности	4	5,7	5	2,6	9	3,4	3	4,7	6	3,9	9	4,1	18	3,7
Неврастения	2	2,9	5	2,6	7	2,6	2	3,1	7	4,6	9	4,1	16	3,3
Соматоформная вегетативная дисфункция	–	–	3	1,5	3	1,1	1	1,6	4	2,6	5	2,3	8	1,7
Расстройства адаптации	2	2,9	6	3,1	8	3,0	2	3,1	7	4,6	9	4,1	17	3,5
Σ Невротические, связанные со стрессом и соматоформные расстройства	4	5,8	14	7,1	18	6,7	5	7,8	19	12,4	23	10,5	41	8,5
ИТОГО	70	26,4	195	73,6	265	100,0	64	29,5	153	70,5	217	100	482	100

У первокурсников с диагнозом «Психически здоров» среди 174 человек у 37 (21,3%) отмечались явные акцентуации характера: в 30 (17,2%) случаях – тревожная, в 3 (1,7%) истерическая и по 2 (1,1%) – астеническая и гипертимная.

Среди пятикурсников явные акцентуации характера выявлены в 34 (28,1%) случаях из 121: тревожные – в 25 (20,7%) случаев, истерические – в 5 (4,1%), астенические – в 4 (3,3%).

У студентов 1 курса выяснялась зависимость формирования психических расстройств от родов посредством кесарева сечения и обращения за помощью в дошкольном возрасте к представителям «народной медицины».

Установлено, что у первокурсников, среди психически здоровых 4 (2,3%) родились посредством кесарева сечения, а среди лиц с непатологическими реакциями статистически значимо ($\chi^2=40,499$ $p=0,0005$; $OR=21,3$ $95\%CI=6,1-81,1$) большее число – 16 (33,3%) человек. Отношение шансов свидетельствует, что вероятность формирования непатологических реакций у лиц, родившихся посредством кесарева сечения более чем в 20 раз выше, чем в физиологических родах). Среди психически здоровых только 4 (2,3%) человека в дошкольном возрасте обращались за помощью к представителям «народной медицины», а среди лиц с непатологическими реакциями, статистически значимо ($\chi^2=29,271$ $p=0,0005$; $OR=15,8$ $95\%CI=4,4-61,4$) большее число – 13 (27,1%) человек. Отношение шансов свидетельствует, что вероятность возникновения невротических реакций в дошкольном возрасте у лиц, родившихся посредством кесарева сечения более чем в 15 раз выше, чем у их сверстников, родившихся в физиологических родах. Проблемы, с которыми родители обращались к представителям «народной медицины»: «испуг», «боязнь темноты», «страх огня», «ночные крики», «боязнь собак», «сглаз».

У первокурсников, среди лиц с установленным клиническим психиатрическим диагнозом также статистически значимо

($\chi^2=37,620$ $p=0,0005$; $OR=20,5$ $95\%CI=5,7-80,1$) большее число – 14 (32,6%) человек, чем среди студентов без психических расстройств (2,3%) обращались в дошкольном возрасте обращались за помощью к представителям «народной медицины» с аналогичными проблемами.

Таким образом, наличие в дошкольном возрасте фрагментарных невротических расстройств с обращением за помощью к представителям «народной медицины» может служить своеобразным маркером риска формирования непатологических адаптационных реакций и пограничных психических расстройств в подростковом и юношеском возрасте.

Непатологические астено-вегетативные реакции возникали на фоне продолжительного эмоционального напряжения, связанного, в основном, с учебной нагрузкой, и проявлялись утомляемостью и повышенной раздражительностью, эмоциональной напряженностью, неустойчивостью и лабильностью настроения, тревожным сном, головными болями, вегетативной неустойчивостью, психосоматическими реакциями на учебный и предэкзаменационный стресс. Симптоматика носила кратковременный характер, была нестабильной и фрагментарной. У 18 (47,4%) студентов обнаруживались симптомы социофобии, чаще уровня психологически понятных опасений. В 10 (26,3%) случаях наблюдались редкие (1-3 раза в год) неразвернутые вегетативные кризы с повышенной тревожностью, феноменологически сходные с приступами паники, в 4 (10,5%) – приступы носили умеренно выраженный характер с опасением их повторения. В 9 (23,7%) случаев выявлялся субклинический уровень депрессии и в 10 (42,8%) случаях тревога – в 7 случаях субклинического и в 3 – клинически значимого уровня. Кроме того, в 15 (50%) случаях регистрировался дистресс, в 3 случаях выраженный.

Непатологические астено-невротические реакции с заострением преморбидных личностных черт проявлялись присоединением к астенической симпто-

матике (утомляемость, повышенная раздражительность, вегетативная неустойчивость, эмоциональная лабильность, затрудненное засыпание, тематический ментизм) фрагментарных невротических симптомов (социофобии, навязчивостей, повышенной тревожности, опасений, пароксизмальной тревоги без явного вегетативного компонента). В ряде случаев наблюдались психосоматические симптомы в виде вегетативной неустойчивости и жалоб со стороны сердечнососудистой системы и желудочно-кишечного тракта. Симптоматика носила транзиторный характер. На период исследования 26 (49,1%) человек обнаруживали признаки социофобии. В 20 (37,8%) случаях отмечались тревожные пароксизмы, сходные с паническими атаками по проявлениям. В 13 (24,5%) случаях они были редкими и неразвернутыми, в 7 (13,5%) – имели умеренно выраженный характер с опасением их повторения. Депрессия выявлялась у 19 (35,8%) человек. Повышенный уровень тревоги выявлен у 22 (41,5%) человек, дистресс – у выявлен у 16 (45,8%).

Резидуально-органическое поражение ЦНС с неврозоподобным синдромом выявлено у 24 (11,1%) студентов. Около половины – 11 (45,8%) родились посредством кесарева сечения, у 4 (16,6%) было обвитие пуповиной с асфиксией в родах, 5 (20,8%) – перенесли черепно-мозговые травмы с потерей сознания, в остальных случаях генез не выяснен.

С раннего детства обследуемые жаловались на периодические головные боли, плохую переносимость жаркой погоды и духоты, в которых у них возникала тошнота, изредка обмороки. У лиц женского пола был выраженный синдром предменструального напряжения. Встречались выраженные тревожные симптомы, симптомы вегето-сосудистой дистонии, дисморфофобия, легко выраженные обсессивно-компульсивные симптомы. В целом, симптоматика носила полиморфный характер, усиливалась в периоды подготовки к экзаменам и была более выраженной во второй половине дня. На период обследования у 12 (50%) человек выявлялись симптомы

социофобии: у 7 – в форме опасений и у остальных 5 – выраженные. В 20 (83,3%) случаях регистрировались симптомы генерализованной тревоги, в 11 – легко и в 8 – умеренно выраженные. Вегетативные расстройства по типу панических приступов регистрировались в 14 (58,3%) случаях. В 13 (44,2%) случаях выявлялась депрессия, в 14 (58,3%) случаях тревога, в 19 (79,2%) – дистресс.

Клиническая картина **аффективных расстройств настроения** исчерпывалась легким депрессивным эпизодом, в 1 случае с соматическими симптомами и в 1 – на фоне резидуально-органического поражения ЦНС. В преморбиде обследуемые были тревожно-мнительными, повышено восприимчивыми к конфликтам. Чаще в весенний период отмечалось спонтанное снижение настроения с чувством грусти, усталости, снижением инициативы, затруднениями в понимании учебного материала, рассеянность внимания. Продолжительность эпизодов субдепрессии была различной – от 1 месяца до 2-3. Часть студентов обращались за помощью к врачу психотерапевту, получали терапию антидепрессантами. Большинство – не обращались за помощью, так как не считали свое состояние болезненным, «терпели», думая, что все пройдет самостоятельно. На период обследования у 11 (84,6%) человек выявлялись симптомы социофобии. В 11 (84,6%) случаях регистрировались симптомы генерализованной тревоги. Вегетативные расстройства по типу панических приступов регистрировались только в 3 (23,1%) случаях. Во всех случаях выявлялась депрессия: в 5 (38,4%) – легкая и в остальных 8 (61,6%) – умеренная. Тревога выявлялась в 10 (76,9%) случаях, состояние дистресса – выявлено во всех случаях.

Неврастения была характерна для повышенно ответственных студентов. Они стремились учиться на хорошие и отличные оценки, много времени уделяли учебе и часть из них (7 человек) общественной работе. Во всех случаях отмечалась повышенная утомляемость, больше во второй половине дня, раздражительность, слезливость, обидчивость. В половине случаев

отмечалась вегетативная неустойчивость, повышенная потливость. Все студенты жаловались на затрудненное засыпание, наплывы мыслей о незавершенных делах. Даже после отдыха в выходные повышенная усталость и раздражительность не исчезали. На период обследования у 8 (50,0%) студентов регистрировались симптомы социофобии, в основном – уровня психологически понятных опасений, усиленных астенией. В 13 (81,2%) случаях выявлялись симптомы генерализованной тревоги. Почти в половине – 7 (43,7%) случаев выявлялись симптомы тревожных приступов с нечетко выраженным вегетативным компонентом, которые возникали под влиянием учебного стресса, либо ситуаций психоэмоционального напряжения. Во всех случаях приступы носили субклинический характер. Симптомы депрессии выявлялись в 9 (56,3%) случаях, чаще у студентов 5 курса – 7 (77,8%) случаев, чем первого – 2 (22,2%) случая. Повышенный уровень тревоги и дистресс выявлены во всех случаях.

Расстройства адаптации возникали после психотравмирующих событий: разрыв значимых отношений, неудовлетворительная оценка на экзаменах с угрозой отчисления, смерть родных, смерть ребенка, угроза уголовного наказания. В 4 случаях это были тревожные реакции, в 6 – депрессивные и в остальных 7 – смешанная тревожная и депрессивная реакция.

На период обследования у 12 (70,6%) человек выявлялись симптомы социофобии. В 12 (70,6%) случаях регистрировались симптомы генерализованной тревоги. Вегетативные расстройства по типу панических приступов регистрировались только в 3 (23,1%) случаях.

В 8 (66,7) случаях выявлялась депрессия, в 13 (76,5%) – тревога. Состояние дистресса выявлено во всех случаях.

Соматоформная вегетативная дисфункция диагностирована в 8 (1,7%) случаях. Во всех случаях студенты еще до поступления в ВУЗ наблюдались у врачей терапевтов или неврологов с диагнозом «Вегето-сосудистая дистония» (1 – юноша и 7 девушек).

В период обследования обнаруживалась астения, которая сочеталась с эмоциональной лабильностью, расстройством внимания, вегетативной неустойчивостью, расстройствами сна. Клиническая картина отличалась полиморфностью, включала в себя симптомы со стороны сердечно-сосудистой, дыхательной пищеварительной систем в различных сочетаниях. В большинстве случаев отмечались признаки резидуально-органического поражения ЦНС.

На период обследования у 6 (75%) человек выявлялись симптомы социофобии. В 6 (75%) случаях регистрировались симптомы генерализованной тревоги. Вегетативные расстройства по типу панических приступов регистрировались в 6 (75%) случаях. В 4 (50,0%) случаях выявлялась депрессия. Тревога и дистресс выявлялись во всех случаях.

Расстройства личности диагностированы в 18 (3,7%) случаях. В большинстве случаев это были тревожные расстройства личности – 11 случаев, мозаичное – 3, шизоидное – 2 и истерическое – 2 случая (7 лиц мужского и 11 – женского пола).

На период обследования у 14 (77,8%) человек выявлялись симптомы социофобии. Во всех случаях регистрировались симптомы генерализованной тревоги. Вегетативные расстройства по типу панических приступов регистрировались в 15 (83,3%) случаях. В 9 (50,0%) случаях выявлялась депрессия. Тревога и дистресс выявлялись во всех случаях.

Изучение сравнительных характеристик субъективной значимости учебных стрессовых факторов для студентов медиков старших и младших курсов в зависимости от наличия психических расстройств показало следующее. Для первокурсников с психическими расстройствами (табл. 2), по сравнению со сверстниками без психиатрического диагноза, а также с непатологическими реакциями, более значимыми стрессогенными факторами были «строгость преподавателей», затруднения в понимании учебного материала («непонятные, скучные учебники»), «трудности

организации режима дня», «конфликты», а также заострение личностных особенностей («застенчивость», «стеснительность», «страх перед будущим») и «проблемы в личной жизни». Для лиц с непатологиче-

скими реакциями по сравнению с психически здоровыми, также более значимыми были «строгость преподавателей» и «проблемы в личной жизни».

Таблица 2

Сравнительные характеристики субъективной значимости учебных стрессовых факторов для студентов медиков 1 курса в зависимости от наличия психических расстройств

Table 2

Comparative characteristics of the subjective significance of educational stress factors for first-year medical students, depending on the presence of mental disorders

№ п/п	Учебные стрессовые факторы	ПЗ		ПР		ПЗ-ПР p=	НПР		ПЗ-НПР p=	ПР-НПР p=
		Me	Q ₂₅₋₇₅	Me	Q ₂₅₋₇₅		Me	Q ₂₅₋₇₅		
1	Строгие преподаватели	5,0	3,0-7,0	7,0	5,0-8,0	-0,003	6,0	5,0-7,0	-0,050	0,478
2	Большая учебная нагрузка	8,0	7,0-10,0	8,0	8,0-10,0	0,217	8,0	8,0-10,0	0,305	0,850
3	Отсутствие учебников	6,0	3,0-8,0	7,0	5,0-9,0	-0,001	5,5	3,0-8,0	0,772	0,019
4	Непонятные, скучные учебники	3,0	1,0-5,0	5,0	4,0-7,0	-0,000	3,0	2,0-5,0	0,803	0,000
5	Жизнь вдали от родителей	5,0	3,0-8,0	5,0	2,0-7,0	0,506	4,0	1,0-8,0	0,275	0,644
6	Нехватка денег	2,0	0,0-4,0	3,0	0,0-6,0	-0,044	2,0	0,0-4,5	0,705	0,065
7	Трудности организации режима дня	4,0	3,0-7,0	7,0	6,0-8,0	-0,000	5,0	2,5-8,0	0,540	0,003
8	Нерегулярное питание	5,0	2,0-8,0	7,0	2,0-8,0	0,477	5,0	3,0-8,0	0,698	0,648
9	Проблемы проживания в общежитии	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-1,0	0,377	0,0	0,0-1,0	0,283	0,984
10	Конфликты в группе	0,0	0,0-1,0	4,0	2,0-5,0	-0,000	0,0	0,0-1,5	0,666	0,000
11	Много времени готовиться к занятиям	7,0	5,0-9,0	8,0	7,0-9,0	0,085	8,0	5,0-9,0	0,343	0,441
12	Нежелание учиться	1,0	0,0-3,0	1,0	0,0-4,0	0,535	1,0	0,0-3,0	0,936	0,699
13	Разочарование в будущей профессии	0,0	0,0-1,0	0,0	0,0-2,0	0,069	0,0	0,0-0,5	0,788	0,130
14	Стеснительность, застенчивость	2,0	0,0-4,0	4,0	2,0-6,0	-0,000	2,0	0,0-5,0	0,429	0,019
15	Страх перед будущим	2,0	0,0-5,0	6,0	5,0-8,0	-0,000	3,0	0,0-7,0	0,421	0,002
16	Проблемы в личной жизни	0,0	0,0-2,0	4,0	1,0-8,0	-0,000	2,5	0,0-6,5	-0,001	0,149
17	Нерациональное расписание занятий	4,0	1,0-7,0	5,0	3,0-7,0	0,105	4,0	1,0-6,0	0,724	0,165
18	Много занятий в день	5,0	2,0-7,0	4,0	2,0-8,0	0,637	4,0	2,5-6,5	0,347	0,882

Примечание здесь и далее: ПЗ – психически здоровые; ПР – психические расстройства; НПР – непатологические реакции.

Note hereinafter: ПЗ – mentally healthy; ПР – mental disorders; НПР – non-pathological reactions.

Для пятикурсников с психическими расстройствами (табл. 3), по сравнению с психически здоровыми, более значимыми были «высокая учебная нагрузка», «трудности организации режима дня», «нежелание учиться», «разочарование в профессии», а также «стеснительность», «страх

перед будущим» и «проблемы в личной жизни». Таким образом, важными стрессогенными факторами у старшекурсников с психическими расстройствами, по сравнению со здоровыми, являются «нежелание учиться» и «разочарование в профессии».

Таблица 3

Сравнительные характеристики субъективной значимости учебных стрессовых факторов для студентов медиков 5 курса в зависимости от наличия психических расстройств

Table 3

Comparative characteristics of the subjective significance of educational stress factors for fifth-year medical students, depending on the presence of mental disorders

№ п/п	Учебные стрессовые факторы	ПЗ		ПР		ПЗ- ПР p=	НПР		ПЗ- НПР p=	ПР- НПР p=
		Me	Q ₂₅₋₇₅	Me	Q ₂₅₋₇₅		Me	Q ₂₅₋₇₅		
1	Строгие преподаватели	5,0	3,0-7,0	5,0	3,0-8,0	0,235	6,0	4,0-7,0	0,156	0,873
2	Большая учебная нагрузка	7,0	4,5-8,0	8,0	6,0-9,0	-0,003	8,0	7,0-9,0	-0,022	0,651
3	Отсутствие учебников	6,0	3,0-8,0	6,0	4,0-9,0	0,752	5,0	4,0-8,0	0,949	0,841
4	Непонятные, скучные учебники	5,0	3,0-8,0	5,0	2,0-7,0	0,248	5,0	2,0-7,0	0,134	0,678
5	Жизнь вдали от родителей	3,5	0,07,0	2,0	0,0-6,0	0,601	1,0	0,0-7,0	0,707	0,981
6	Нехватка денег	3,0	0,0-7,0	4,0	0,0-8,0	0,724	5,0	2,0-8,0	-0,033	0,131
7	Трудности организации режима дня	3,0	2,0-6,0	6,0	3,0-8,0	-0,009	6,0	3,0-8,0	-0,005	0,792
8	Нерегулярное питание	4,0	2,0-6,0	5,0	3,0-9,0	-0,004	6,0	3,0-8,0	-0,003	0,898
9	Проблемы проживания в общежитии	0,0	0,0-1,0	0,0	0,0-5,0	0,082	0,0	0,0-2,0	0,542	0,553
10	Конфликты в группе	0,0	0,0-3,0	2,0	0,0-5,0	0,002	1,0	0,0-4,0	0,161	0,201
11	Много времени готовиться к занятиям	5,0	3,0-7,0	6,0	5,0-9,0	-0,002	5,0	3,0-8,0	0,167	0,233
12	Нежелание учиться	2,0	0,0-3,0	3,0	1,0-5,0	0,008	3,0	1,0-5,0	0,033	0,771
13	Разочарование в будущей профессии	1,0	0,0-4,0	4,0	1,0-6,0	0,000	2,0	1,0-4,0	0,079	0,054
14	Стеснительность, застенчивость	2,0	0,0-5,0	3,0	1,0-7,0	0,047	3,0	1,0-5,0	0,504	0,282
15	Страх перед будущим	3,0	2,0-6,0	7,0	4,0-9,0	0,000	5,0	3,0-8,0	0,050	0,103
16	Проблемы в личной жизни	1,0	0,0-3,0	3,0	1,0-8,0	0,001	2,5	0,0-6,0	0,025	0,277
17	Нерациональное расписание занятий	3,0	1,0-5,0	4,0	2,0-7,0	0,021	3,0	2,0-5,0	0,531	0,132
18	Много занятий в день	2,0	0,0-5,0	5,0	2,5-7,0	0,001	4,0	1,0-7,0	0,010	0,676

Для пятикурсников с непатологическими реакциями, по сравнению со сверстниками без психических расстройств, более значимыми были большинство вышеперечисленных факторов, за исключением «разочарования в профессии», «стеснительности» и «страха перед будущим», которые оказались выраженными в одинаковой степени (по медианному значению 2-7 и 3-5 баллов).

Сравнительный анализ субъективной степени значимости учебных стрессовых факторов у психически здоровых студентов показал, что для первокурсников большее значение имели высокая учебная нагрузка, трудности организации режима дня, нерациональное расписание, «много занятий в день», а также «жизнь вдали от родителей» и «нерегулярное питание», а

для пятикурсников – нежелание учиться, разочарование в профессии, страх перед будущим, а также конфликты со сверстниками и проблемы в личной жизни. Таким образом, нежелание учиться и разочарование в профессии могут выступать факторами риска формирования невротических расстройств, особенно если человек уже в определенной степени испытывал страх перед будущим.

Сравнительный анализ степени значимости учебных стрессовых факторов у студентов с психическими расстройствами показал, что для пятикурсников, наиболее значимым было нежелание учиться и разочарование в профессии, а первокурсники с ППР более остро воспринимали строгость преподавателей, жизнь вдали от родителей, конфликты со сверстниками, а также

проблемы, связанные с высокой учебной нагрузкой.

Для пятикурсников с непатологическими адаптационными реакциями более значимыми, чем для студентов 1 курса, были: нежелание учиться и разочарование в профессии со страхом перед будущим, а также конфликты со сверстниками, нехватка денег и скучные учебники. В то же время

для студентов младших курсов более актуальной была высокая учебная нагрузка.

Таким образом установлено, для студентов 5 курса с психическими расстройствами, по сравнению со здоровыми и первокурсниками, важное стрессогенное значение приобретают «разочарование в профессии» и «нежелание учиться».

Таблица 4

**Выраженность симптомов учебного стресса у студентов медиков 1 курса
в зависимости от наличия психических расстройств**

Table 4

**The severity of symptoms of educational stress in first-year medical students,
depending on the presence of mental disorders**

№ п/п	Симптомы учебного стресса	ПЗ		ПР		ПЗ- ПР p=	НПР		ПЗ- НПР p=	ПР-НПР p=
		Me	Q ₂₅₋₇₅	Me	Q ₂₅₋₇₅		Me	Q ₂₅₋₇₅		
1	Ощущение беспомощности	4,0	1,0-5,0	6,0	4,0-7,0	-0,000	4,0	2,5-7,0	-0,033	0,012
2	Наплывы посторонних мыслей	3,0	2,0-6,0	7,0	4,0-8,0	-0,000	4,0	2,0-7,0	0,060	0,011
3	Повышенная отвлекаемость	3,0	1,0-4,0	5,0	3,0-7,0	-0,000	4,0	2,0-7,0	-0,001	0,761
4	Раздражительность, обидчивость	2,0	0,0-3,0	4,0	2,0-7,0	-0,000	3,0	2,0-6,5	-0,000	0,349
5	Плохое настроение, депрессия	3,0	1,0-5,0	6,0	3,0-8,0	-0,000	4,0	2,0-7,5	-0,004	0,224
6	Страх, тревога	2,0	0,0-6,0	6,0	4,0-7,0	-0,000	4,0	2,5-6,5	-0,005	0,116
7	Потеря уверенности, сниж. самооценки	1,0	0,0-5,0	5,0	3,0-8,0	-0,000	4,0	1,0-7,5	-0,006	0,064
8	Постоянная нехватка времени, спешка	7,0	4,0-9,0	8,0	6,0-10,0	-0,023	8,0	5,5-9,0	0,201	0,371
9	Плохой сон	6,0	2,0-9,0	8,0	4,0-10,0	-0,009	7,0	4,0-9,0	0,174	0,202
10	Проблемы общения с преподавателями	1,0	0,0-3,0	2,0	0,0-3,0	-0,049	1,0	0,0-2,0	0,657	0,047
11	Тахикардия, боли в сердце	0,0	0,0-2,0	1,0	0,0-5,0	-0,046	2,0	0,0-4,0	-0,013	0,882
12	Затрудненное дыхание	0,0	0,0-1,0	0,0	0,0-4,0	-0,004	0,0	0,0-2,0	-0,045	0,486
13	Проблемы с ЖКТ	0,0	0,0-1,0	2,0	0,0-5,0	-0,000	0,0	0,0-3,0	-0,045	0,077
14	Напряжение или дрожание мышц	0,0	0,0-2,0	4,0	1,0-6,0	-0,000	1,0	0,0-5,0	0,059	0,026
15	Головные боли	4,0	2,0-7,0	6,0	3,0-8,0	-0,016	6,0	3,5-8,0	-0,006	0,955
16	Повышенная утомляемость	4,0	1,0-7,0	6,0	4,0-9,0	-0,001	5,0	3,0-8,0	-0,042	0,204

Анализ степени выраженности симптомов учебного стресса у студентов 1 курса показал (см. табл. 4), что все симптомы были более выраженными у лиц с психическими расстройствами, а также при непатологических реакциях, по сравнению со здоровыми. Кроме того, при психических расстройствах, по сравнению с непатологическими реакциями, были более выраженными «ощущение беспомощности», «тематический ментизм», «потеря уверен-

ности, снижение самооценки», «мышечное напряжение» и «проблемы общения с преподавателями».

У студентов 5 курса (табл. 5), при психических расстройствах и непатологических реакциях были более выраженными все симптомы учебного стресса, по сравнению со здоровыми. При этом, у студентов пятого курса с психическими расстройствами, по сравнению со сверстниками с непатологическими реакциями бы-

ли более выраженными «плохое настроение, депрессия», «страх, тревога», «потеря уверенности, снижение самооценки», «постоянная нехватка времени, спешка», а

также «повышенная утомляемость», «тахикардия, боли в области сердца» и «проблемы с ЖКТ».

Таблица 5

**Выраженность симптомов учебного стресса у студентов медиков 5 курса
в зависимости от наличия психических расстройств**

Table 5

**The severity of symptoms of educational stress in fifth-year medical students of,
depending on the presence of mental disorders**

№ п/п	Симптомы учебного стресса	ПЗ		ПР		ПЗ- ПР p=	НПР		ПЗ-НПР p=	ПР- НПР p=
		Me	Q ₂₅₋₇₅	Me	Q ₂₅₋₇₅		Me	Q ₂₅₋₇₅		
1	Ощущение беспомощности	2,0	0,0-4,0	4,0	2,0-6,0	-0,000	3,0	1,0-5,0	-0,040	0,074
2	Наплывы посторонних мыслей	2,0	0,0-4,0	3,0	2,0-6,0	-0,000	3,0	1,0-5,0	-0,011	0,259
3	Повышенная отвлекаемость	3,0	1,0-5,0	6,0	3,0-8,0	-0,000	4,0	2,0-8,0	-0,014	0,165
4	Раздражительность, обидчивость	3,0	1,0-4,0	4,0	3,0-6,0	-0,000	4,0	1,0-5,0	-0,043	0,075
5	Плохое настроение, депрессия	3,0	1,0-5,0	6,0	4,0-8,0	-0,000	4,0	2,0-5,0	-0,011	0,001
6	Страх, тревога	2,0	0,0-3,0	5,0	3,0-8,0	-0,000	2,0	0,0-4,0	0,130	0,000
7	Потеря уверенности, снижение самооценки	2,0	0,0-4,0	6,0	3,0-8,0	-0,000	3,0	1,0-5,0	-0,009	0,002
8	Постоянная нехватка времени, спешка	5,0	2,0-7,0	7,0	5,0-9,0	-0,000	6,0	4,0-9,0	-0,006	0,036
9	Плохой сон	2,0	0,0-6,0	5,0	4,0-8,0	-0,000	5,0	2,0-7,0	-0,007	0,073
10	Проблемы в общении с преподавателями	1,0	0,0-3,0	3,0	1,0-5,0	-0,000	1,5	1,0-3,0	0,128	0,062
11	Учащенное сердцебиение, боли в сердце	0,0	0,0-1,0	2,0	0,0-5,0	-0,000	0,0	0,0-2,0	-0,022	0,003
12	Затрудненное дыхание	0,0	0,0-0,0	1,0	0,0-3,5	-0,000	0,0	0,0-0,0	0,982	0,000
13	Проблемы с ЖКТ	0,0	0,0-1,0	3,0	0,0-5,0	-0,000	1,0	0,0-5,0	-0,007	0,180
14	Напряжение или дрожание мышц	0,0	0,0-1,0	2,0	0,0-5,0	-0,000	0,0	0,0-2,0	-0,032	0,010
15	Головные боли	2,0	0,0-5,0	5,0	2,0-8,0	-0,000	3,0	1,0-6,0	0,077	0,051
16	Повышенная утомляемость	3,0	0,0-5,0	7,0	5,0-8,0	-0,000	5,0	3,0-7,0	-0,000	0,009

Среди симптомов учебного стресса, по субъективной оценке студентов с ППР, у первокурсников более выраженными были астенические (чувство беспомощности, наплывы мыслей, расстройства сна), а у пятикурсников – «проблемы общения с

преподавателями», связанные с нежеланием учиться, пропусками занятий и задолженностями.

Что касается психически здоровых студентов и учащихся с непатологическими адаптационными реакциями, то, факти-

чески большинство симптомов учебного стресса были более выраженными у студентов младших курсов. У старшекурсников более значимыми симптомами были повышенная раздражительность и обидчивость.

У студентов 1 курса (табл. 6), не обнаруживающих расстройств психической сферы, более значимыми, чем для сверст-

ников с психическими расстройствами, среди способов совладания с учебным стрессом были «поддержка родителей», «прогулки на воздухе» и «занятия спортом». Для студентов с психическими расстройствами актуальными были табакокурение, серфинг в сети Интернет и прием нерецептурных седативных.

Таблица 6

Преобладающие приемы совладания с учебным стрессом студентами медиками 1 курса в зависимости от наличия психических расстройств

Table 6

The prevailing methods of coping with educational stress by first-year medical students, depending on the presence of mental disorders

№ п/п	Способы преодоления учебного стресса	ПЗ		ПР		ПЗ-ПР p=	НПР		ПЗ-НПР p=	ПР-НПР p=
		Me	Q ₂₅₋₇₅	Me	Q ₂₅₋₇₅		Me	Q ₂₅₋₇₅		
1	Употребление алкоголя	0,0	0,0-1,0	0,0	0,0-3,0	0,136	0,0	0,0-0,5	0,094	-0,014
2	Табакокурение	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-1,0	-0,016	0,0	0,0-0,0	0,239	0,006
3	Употребляют наркотики	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-0,0	1,000	0,0	0,0-0,0	0,987	0,986
4	Употребляю больше еды	2,0	0,0-4,0	3,0	0,0-7,0	0,074	2,0	0,5-5,0	0,197	0,475
5	Смотрят телевизор	0,0	0,0-3,0	1,0	0,0-4,0	0,287	0,0	0,0-3,0	0,721	0,557
6	Пропуски занятий	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-0,0	0,208	0,0	0,0-0,0	0,938	0,401
7	Больше сплю	2,0	0,0-5,0	1,0	0,0-5,0	0,318	1,0	0,0-4,5	0,076	0,580
8	Общение с друзьями	3,0	1,0-7,0	3,0	0,0-7,0	0,253	2,5	0,0-5,0	0,031	0,407
9	Поддержка родителей	7,0	3,0-9,0	4,0	0,0-6,0	0,000	6,5	3,0-10,0	0,872	-0,001
10	Прогулки на воздухе	4,0	2,0-7,0	3,0	0,0-5,0	0,021	3,0	1,0-7,5	0,275	0,406
11	Занимаюсь спортом	3,0	1,0-7,0	2,0	0,0-5,0	0,018	2,0	0,0-4,0	0,008	0,951
12	Посещаю бассейн	2,0	0,0-8,0	2,0	0,0-5,0	0,144	1,0	0,0-4,0	0,163	0,877
13	Компьютерные игры	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-0,0	0,531	0,0	0,0-0,0	0,797	0,763
14	Социальные сети	4,0	1,0-6,0	4,0	1,0-8,0	0,553	4,0	3,0-7,0	0,256	0,740
15	Интернет	4,0	1,0-7,0	5,0	3,0-8,0	-0,048	4,0	3,0-7,0	0,532	0,194
16	Читают худ. литературу	2,0	1,0-6,0	2,0	0,0-5,0	0,117	2,0	0,0-5,5	0,574	0,438
17	Лекарственные настойки	0,0	0,0-2,0	0,0	0,0-2,0	0,780	0,0	0,0-1,5	0,981	0,830
18	Принимают лекарства	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-5,0	-0,001	0,0	0,0-0,0	0,801	0,013

Для студентов младших курсов с психическими расстройствами, по сравнению со сверстниками с непатологическими реакциями, для преодоления учебного стресса значимыми были «употребление алкоголя» и «табакокурение», что может создавать риск формирования аддиктивного поведения и зависимостей.

У студентов 5 курса (табл. 7) предпочтения в способах совладания с учебным стрессом менее дифференцированные. При этом лица с психическими расстройствами чаще прибегали к употреблению лекарственных средств.

Таблица 7

**Преобладающие приемы устранения симптомов учебного стресса студентами
медиками 5 курса в зависимости от наличия психических расстройств**

Table 7

**The prevailing methods for eliminating the symptoms of educational stress by fifth-year
medical students, depending on the presence of mental disorders**

№ п/п	Способы преодоления учебного стресса	ПЗ		ПР		ПЗ-ПР p=	НПР		ПЗ- НПР p=	ПР-НПР p=
		Me	Q ₂₅₋₇₅	Me	Q ₂₅₋₇₅		Me	Q ₂₅₋₇₅		
1	Употребление алкоголя	1,0	0,0-3,0	1,0	0,0-4,0	0,402	1,0	0,0-3,0	0,318	0,879
2	Табакокурение	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-1,0	0,800	0,0	0,0-1,0	0,712	0,955
3	Употребляют наркотики	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-0,0	0,616	0,0	0,0-0,0	0,305	0,201
4	Употребляю больше еды	2,0	0,0-5,0	3,0	0,0-5,0	0,702	3,0	1,0-4,0	0,763	0,878
5	Смотрят телевизор	1,0	0,0-2,0	1,0	0,0-3,0	0,618	1,0	0,0-4,0	0,736	0,858
6	Пропуски занятий	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-1,0	0,245	0,0	0,0-0,0	0,663	0,554
7	Больше сплю	3,0	1,0-5,0	3,0	1,0-6,0	0,769	4,0	2,0-7,0	0,218	0,397
8	Общение с друзьями	4,0	3,0-7,0	3,0	1,0-5,0	0,029	4,0	1,0-6,0	0,257	0,427
9	Поддержка родителей	5,0	2,0-8,0	5,0	3,5-8,5	0,387	5,0	1,0-8,0	0,934	0,482
10	Прогулки на воздухе	5,0	2,0-7,0	4,0	1,5-6,0	0,259	4,0	3,0-6,0	0,615	0,601
11	Занимаюсь спортом	2,0	0,0-5,0	1,0	0,0-4,0	0,215	3,0	1,0-6,0	0,608	0,115
12	Посещаю бассейн	2,0	0,0-5,0	0,0	0,0-3,0	0,048	3,0	0,0-5,0	0,630	-0,033
13	Компьютерные игры	0,0	0,0-3,0	0,0	0,0-1,0	0,107	0,0	0,0-1,0	0,112	0,911
15	Интернет	4,0	2,0-6,0	5,0	2,0-7,0	0,501	4,0	2,0-6,0	0,946	0,452
16	Читают худ. литературу	4,0	1,0-6,0	3,0	1,0-5,0	0,317	3,0	1,0-6,0	0,967	0,426
17	Лекарственные настойки	0,0	0,0-5,0	1,0	0,0-3,0	-0,000	0,0	0,0-3,0	0,002	0,670
18	Принимают лекарства	0,0	0,0-0,0	1,0	0,0-4,0	-0,000	0,0	0,0-1,0	0,092	0,027

Среди способов совладания с учебным стрессом у психически здоровых студентов 5 курса, по сравнению с первым, более значимыми были: употребление алкоголя, табакокурение, а также переизбыток. Студенты 1 курса чаще, чем старших использовали поддержку родителей, занятия спортом, чтение художественной литературы, а также прием седативных настоек.

Среди способов совладания с учебным стрессом студенты 5 курса с ППР чаще ($p=0,019$) обращались за поддержкой к родителям. По остальным способам преодоления стресса статистически значимых различий не выявлено. Из симптомов предэкзаменационного стресса у пятикурсников с ППР, по сравнению со студентами 1 курса, более значимыми были «перебои в деятельности сердца» ($p=0,003$), «учащенное мочеиспускание» ($p=0,0003$) и тревога ($p=0,02$).

Среди способов совладания с учебным стрессом старшекурсники с непатологическими адаптационными реакциями большее значение, чем студенты 1 курса уделяли употреблению алкоголя ($p=0,000$), табакокурению ($p=0,007$) и сну ($0,002$).

Степень волнения перед экзаменами у первокурсников была довольно высокой – во всех случаях 9,0 баллов по медианному показателю. Степень волнения была более выраженной у лиц с непатологическими реакциями.

У студентов 1 курса с психическими расстройствами, по сравнению со здоровыми, были более выраженными психосоматические симптомы со стороны легочно-дыхательной системы (табл. 8): «затрудненное дыхание», «затруднен глубокий вдох», «неудовлетворенность вдохом», а также «дрожание мышц», «учащенное мочеиспускание», «головные боли». Кроме того их больше беспокоило подавленное настроение и неприятные сновидения.

Таблица 8

**Выраженность симптомов предэкзаменационного стресса у студентов медиков 1 курса
в зависимости от наличия психических расстройств**

Table 8

**The severity of symptoms of pre-examination stress in first-year medical students,
depending on the presence of mental disorders**

№ п/п	Симптомы предэкзаменационного стресса	ПЗ		ПР		ПЗ- ПР p=	НПР		ПЗ-НПР p=	ПР- НПР p=
		Me	Q ₂₅₋₇₅	Me	Q ₂₅₋₇₅		Me	Q ₂₅₋₇₅		
	Степень волнения перед экзамен.	9,0	7,0-9,0	9,0	8,0-10,0	0,146	9,0	8,0-10,0	-0,017	0,424
1	Учащенное сердцебиение	7,0	3,0-9,0	8,0	6,0-9,0	0,143	7,5	4,5-10,0	0,053	0,627
2	Перебои в работе сердца	0,0	0,0-2,0	1,0	0,0-4,0	0,100	0,0	0,0-4,5	0,408	0,634
3	Затрудненное дыхание	0,0	0,0-2,0	3,0	0,0-7,0	-0,000	1,0	0,0-4,0	0,125	0,141
4	Затруднен глубокий вдох	0,0	0,0-1,0	1,0	0,0-5,0	-0,000	0,0	0,0-2,0	0,128	0,045
5	Неудовлетворенность вдохом	0,0	0,0-3,0	2,0	0,0-5,0	-0,003	0,0	0,0-2,0	0,988	0,025
6	Напряжение в мышцах тела	2,0	0,0-5,0	3,0	0,0-7,0	0,139	4,0	0,0-7,0	0,056	0,854
7	Дрожание мышц	3,0	0,0-5,0	4,0	1,0-8,0	-0,026	4,0	0,0-6,5	0,145	0,466
8	Учащенное мочеиспускание	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-2,0	-0,010	0,0	0,0-1,0	-0,023	0,790
9	Головные боли	3,0	0,0-7,0	6,0	4,0-8,0	-0,004	4,5	2,0-7,0	0,223	0,113
10	Тревога, страх	7,0	4,0-9,0	7,5	6,0-9,0	0,057	7,5	6,0-10,0	-0,011	0,580
11	Подавленное настроение	5,0	1,0-7,0	6,0	4,0-9,0	-0,011	6,0	3,0-8,0	0,071	0,521
12	Затрудненное засыпание	2,5	0,0-9,0	6,0	1,0-9,0	0,125	5,0	1,5-8,0	0,283	0,614
13	Неприятные сновидения	0,0	0,0-2,0	4,0	0,0-8,0	-0,000	0,5	0,0-6,0	-0,040	0,035

У студентов 5 курса (табл. 9), так же, как и у первого, степень выраженности волнения перед экзаменами была одинаково высокой у всех студентов – 9 баллов по медианному значению. При этом у лиц с психическими расстройствами все симптомы предэкзаменационного стресса были более выраженными, чем у психически здоровых, а также половина – по сравнению с лицами с непатологическими реакциями (преимущественно психосоматические симптомы со стороны легочно-дыхательной системы и аффективные нарушения (тревога, страх и подавленное настроение)).

У студентов 5 курса с непатологическими психогенными реакциями, по сравнению со здоровыми, были более выраженными подавленное настроение и расстройства сна, а также головные боли, учащенное мочеиспускание и тахикардия.

Среди симптомов предэкзаменационного стресса у студентов младших кур-

сов, не обнаруживающих психических расстройств, были более выраженные, чем у пятикурсников, «напряжение в мышцах тела», «головные боли», и «подавленное настроение». У старшекурсников более выражено «учащенное мочеиспускание». По степени выраженности симптомов предэкзаменационного стресса у студентов медиков младших и старших курсов с непатологическими адаптационными реакциями статистически значимых различий не выявлено.

С целью профилактики формирования пограничных психических расстройств, в рамках регионального компонента учебного плана (дисциплина «Психологическая коррекция кризисных состояний»), нами была разработана и апробирована программа «Стресс-менеджмент [29], направленная на информирование студентов о кризисных ситуациях и обучение приемам их преодоления.

Таблица 9

**Выраженность симптомов предэкзаменационного стресса у студентов медиков 5 курса
в зависимости от наличия психических расстройств**

Table 9

**The severity of symptoms of pre-examination stress in fifth-year medical students,
depending on the presence of mental disorders**

№ п/п	Симптомы предэкзаменационного стресса	ПЗ		ПР		ПЗ-ПР p=	НПР		ПЗ-НПР p=	ПР-НПР p=
		Me	Q ₂₅₋₇₅	Me	Q ₂₅₋₇₅		Me	Q ₂₅₋₇₅		
	Степень волнения перед экз.	9,0	7,0-10,0	9,0	8,0-10,0	0,079	9,0	7,0-10,0	0,370	0,501
1	Учащенное сердцебиение	5,0	3,0-8,0	8,0	6,0-10,0	-0,000	7,0	5,0-9,0	-0,010	0,212
2	Перебои в работе сердца	0,0	0,0-5,0	5,0	1,0-8,0	-0,000	3,0	0,0-5,0	0,112	0,055
3	Затрудненное дыхание	0,0	0,0-3,0	3,0	0,0-7,0	-0,000	1,0	0,0-2,0	0,365	0,006
4	Затруднен глубокий вдох	0,0	0,0-1,0	3,0	0,0-5,0	-0,000	0,0	0,0-2,0	0,112	0,002
5	Неудовлетворенность вдохом	0,0	0,0-2,0	2,0	0,0-5,0	-0,000	0,0	0,0-2,0	0,477	0,002
6	Напряжение в мышцах тела	1,0	0,0-4,0	4,0	2,0-7,0	-0,000	2,0	0,0-4,0	0,152	0,018
7	Дрожание мышц	2,0	0,0-4,0	5,0	2,0-7,0	-0,000	3,0	0,0-7,0	0,078	0,138
8	Учащенное мочеиспускание	0,0	0,0-1,0	3,0	0,0-7,0	-0,000	0,0	0,0-5,0	-0,015	0,042
9	Головные боли	2,0	0,0-5,0	5,0	2,0-8,0	-0,000	4,0	1,0-6,0	-0,004	0,334
10	Тревога, страх	7,0	3,0-9,0	9,0	7,0-10,0	-0,000	7,0	5,0-10,0	0,102	0,023
11	Подавленное настроение	3,0	0,0-6,0	7,0	5,0-10,0	-0,000	6,0	3,0-8,0	-0,003	0,011
12	Затрудненное засыпание	3,0	0,0-8,0	8,0	3,0-10,0	-0,001	6,0	3,0-9,0	-0,035	0,239
13	Неприятные сновидения	0,0	0,0-5,0	3,5	1,0-9,0	-0,000	3,0	0,0-6,0	-0,011	0,192

Курс включил в себя лекции (ознакомление студентов с понятиями кризисного состояния, стресса, фрустрации, конфликтов, суицидального и аддиктивного поведения) и практические занятия, разделенные на теоретическую (ознакомление с методами помощи человеку в кризисном состоянии, ситуации горя, конструктивным техникам борьбы со стрессом, методам выхода из конфликтных ситуаций) и тренинговую часть. В результате проведенного тренинга достоверно снизилась стрессогенность учебных стрессовых факторов, студентам стало легче организовывать свой день. У них значительно снизилась выраженность психических и психосоматических симптомов учебного и предэкзаменационного стресса. Статистически значительно снизилась актуальность употребления алкоголя и приема лекарственных препаратов для преодоления учебного стресса и повысилась значимость физической нагрузки и прогулок на свежем воз-

духе. Среди прошедших тренинг студентов значительно уменьшилось число лиц с симптомами тревоги, депрессии, генерализованной тревоги и дистресса.

Заключение. Таким образом, установлено, что пятая часть студентов медицинского ВУЗа обнаруживает расстройства психики непсихотического уровня – чаще старшекурсники, чем первокурсники. Психическое здоровье еще 19% студентов характеризуется наличием непатологических донозологических реакций, создавая риск формирования психических расстройств в будущем. Вероятность формирования непатологических реакций у лиц, родившихся посредством кесарева сечения более чем в 20 раз выше, чем в физиологических родах, а наличие в дошкольном возрасте фрагментарных невротических расстройств с обращением за помощью к представителям «народной медицины» может служить своеобразным маркером риска формирования непатологических

адаптационных реакций и пограничных психических расстройств в подростковом и юношеском возрасте. Для студентов с пограничными психическими расстройствами и непатологическими реакциями половина учебных стрессовых факторов были более значимыми, симптомы учебного и предэкзаменационного стресса – более выраженными, а младшекурсники чаще, чем сверстники без психических расстройств прибегали к табакокурению и употреблению алкоголя.

С целью первичной и вторичной психопрофилактики пограничных психических расстройств во время обучения в ВУЗе целесообразна реализация тренинга «Стресс-менеджмент», направленного на обучение студентов конструктивным способам борьбы со стрессом, снижение уровня тревоги и депрессии.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Миронов С.В. Состояние здоровья российских и иностранных студентов медицинского вуза и пути улучшения их медицинского обслуживания: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2014. 25 с.
2. Leodoro G., Lynn M. The effect of server posture on the tips of whites and blacks // J Applied Soc Psychol. 2007. N 37. P. 201-209. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0021-9029.2007.00156.x>
3. Бухановская О.А., Демчева Н.К. Психопатологическая характеристика невротических, связанных со стрессом и соматоформных расстройств у студентов медицинского вуза // Вестник неврологии, психиатрии, нейрохирургии. 2019. N 9. С. 20-33
4. Vaez M. Health and quality of life during years at university, studies on their development and determinants. PhD thesis. Stockholm, 2004. 62 p.
5. Does the level of physical exercise affect physiological and psychological responses to psychosocial stress in women / S. Klaparski [et al.] // Psych Sport Exerc. 2013. Vol. 14(2). P. 266-274. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psychsport.2012.11.003>
6. Психиатрическая помощь населению Российской Федерации в 2017 году / Б.А. Казаковцев [и др.]. М.: ФГБУ «НМИЦ ПН им. В. П. Сербского» Минздрава России, 2019. 132 с.
7. Stress among medical Saudi students at College of Medicine, King Faisal University / A.G. Abdel Rahman [et al.] // J Prev Med Hyg. 2013. Vol. 54(4). P. 195-199.
8. Prevalence of Depression, Depressive Symptoms, and Suicidal Ideation Among Medical Students: A Systematic Review and Meta-Analysis / L.S. Rotenstein [et al.] // JAMA. 2016. Vol. 316(21). P. 2214-2236. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2016.17324>
9. Ефимова Л.А. Оценка влияния стрессовых факторов на учебное поведение студентов (на примере студентов ТГУ имени Г.Р. Державина) // Общество, общности, человек: в поисках «вечного мира»: материалы 1 Всероссийской интернет-конференции. Тамбов, 2015. С. 49-51.
10. A study of depression and anxiety, general health and academic performance in three cohorts of veterinary medical students across the first three semesters of veterinary school / A.M.J. Reisbig [et al.] // J Vet Med Educ. 2012. N 39. P. 341-58. DOI: <http://dx.doi.org/10.3138/jvme.0712-065r>
11. Melaku L., Mossie A., Negash A. Stress among Medical Students and Its Association with Substance Use and Academic Performance [Electronic] // Journal of Biomedical Education. 2015. URL: <https://www.hindawi.com/journals/jbe/2015/149509/> (дата обращения: 15.12.2019). DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/149509>
12. Проявления психоэмоционального стресса у студентов-медиков в зависимости от успеваемости в период сессии / А.Ю. Туровая [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. N 5-1. С. 145-146.
13. Stress and mental health among medical students / D.V. Backović [et al.] // Srp Arh Celok Lek. 2013. Vol. 141, N 11-12. P. 780-784. DOI: [10.2298/sarh1312780b](https://doi.org/10.2298/sarh1312780b)
14. Stress and academic performance in dental students: the role of coping strategies and examination-related self-efficacy / A. Crego [et al.] // Journal of Dental Education. 2016. Vol. 80(2). P. 165-172.
15. Effects of mental health interventions for students in higher education are sustainable over time: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [Electronic] /

R. Winzer [et al.] // PeerJ. 2018. N 6. URL: <https://peerj.com/articles/4598/> (дата обращения: 15.12.2019). DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.4598>

16. Nonclinical Depression and Anxiety as Predictor of Academic Stress in Medical Students / A. Masood [et al.] // International Journal of Medical Research and Health Sciences. 2016. Vol. 5, N 5(S). P. 391-397.

17. Особенности влияния клинических факторов на суицидальное поведение у студентов медицинского вуза / Д.Ф. Хритинин [и др.] // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. 2017. N 10. С. 10-17.

18. Демчева Н.К., Бухановская О.А. Психические расстройства доклинического уровня у учащихся медицинского и технического вузов в сравнительном аспекте // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. 2019. N 8. С. 3-15.

19. Лебедев М.А., Платов С.Ю. Предболезненные пограничные психические расстройства в подростковом и молодом возрасте // Журнал неврологии и психиатрии, 2013. N 10. С. 18-22.

20. Drolet B.C., Rodgers S. A comprehensive medical student wellness program--design and implementation at Vanderbilt School of Medicine // Acad Med. 2010. Vol. 85, N 1. P. 103-110. doi: 10.1097/ACM.0b013e3181c46963.

21. Depression in medical students: insights from a longitudinal study / V. Silva [et al.] // BMC Med Educ. 2017. Vol. 17, N 1. P. 184. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12909-017-1006-0>

22. Руженкова В.В., Руженков В.А. Проблема стигмы в психиатрии и суицидологии // Научные ведомости БелГУ. 2012. Вып. 17, N 4(123). С.5-13.

23. Hankir A.K., Northall A., Zaman R. Stigma and mental health challenges in medical students [Electronic] // BMJ Case Rep. 2014. Art. bcr2014205226. URL: <http://casereports.bmj.com/content/2014/bcr-2014-205226.long> (дата обращения: 15.12.2019).

24. Factors associated to depression and anxiety in medical students: a multicenter study / B.F. Mayer [et al.] // BMC Med Educ. 2016. Vol. 16, N 1. P. 282. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12909-016-0791-1>

25. Mindfulness based stress reduction for medical students: optimising student satisfaction and engagement / D. Aherne [et al.] // BMC Med

Educ. 2016. Vol. 16, N 1. P. 209. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12909-016-0728-8>

26. Adams D.F. The embedded counseling model: an application to dental students // J. Dent. Educ. 2017. Vol. 81, N 1. P. 29-35.

27. Семичов С.Б. Предболезненные психические расстройства. Ленинград: Медицина. Ленингр. отд-ние, 1987. 183 с.

28. Александровский Ю.А. Пограничные психические расстройства: рук. для врачей. Москва: Зевс; Ростов-на-Дону: Феникс, 1997. 571 с.

29. Руженкова В.В. Динамика значимости учебных стрессовых факторов и проявлений стресса у студентов медиков после реализации программы «Стресс-менеджмент» // Вестник психотерапии. 2019. N 70. С. 130-144.

References

1. Mironov SV. [The state of health of Russian and foreign students of a medical university and ways to improve their medical care] [dissertation]. Moscow; 2014. Russian.

2. Leodoro G, Lynn M. The effect of server posture on the tips of whites and blacks. J Applied Soc Psychol. 2007;37:201-209. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0021-9029.2007.00156.x>

3. Buhanovskaya OA, Demcheva NK. [Psychopathological characteristics of neurotic, stress-related and somatoform disorders in medical students]. Vestnik nevrologii, psihiatrii, nejrohirurgii. 2019;9:20-33. Russian.

4. Vaez M. Health and quality of life during years at university, studies on their development and determinants [dissertation]. Stockholm: Karolinska Institutet; 2004.

5. Klaperski S, von Dawans B, Heinrichs M, et al. Does the level of physical exercise affect physiological and psychological responses to psychosocial stress in women. Psych Sport Exerc. 2013 March;14(2):266-274. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psychsport.2012.11.003>

6. Kazakovcev BA, Demcheva NK, Yazdovskaya AV, et al. [Psychiatric assistance to the population of the Russian Federation in 2017]. M.: FGBU «NMIC PN im. V. P. Serbskogo» Minzdrava Rossii; 2019. Russian.

7. Abdel Rahman AG, Al Hashim BN, Al Hiji NK, et al. Stress among medical Saudi students at College of Medicine, King Faisal University. J Prev Med Hyg. 2013 Dec;54(4):195-199.

8. Rotenstein LS, Ramos MA, Torre M, et al. Prevalence of Depression, Depressive Symptoms, and Suicidal Ideation Among Medical Students: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA*. 2016;316(21):2214-2236. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2016.17324>
9. Efimova L.A. [Assessment of the influence of stress factors on the educational behavior of students (on the example of students of TSU named after G.R. Derzhavin)]. In: [Society, community, person: in search of "eternal peace"]. Proceedings of I All-Russian Internet Conference. Tambov; 2015. Russian.
10. Reisbig AMJ, Danielson JA, Wu TF et al. A study of depression and anxiety, general health and academic performance in three cohorts of veterinary medical students across the first three semesters of veterinary school. *J Vet Med Educ*. 2012;39(4):341-58. DOI: <http://dx.doi.org/10.3138/jvme.0712-065r>
11. Melaku L, Mossie A, Negash A. Stress among Medical Students and Its Association with Substance Use and Academic Performance. *Journal of Biomedical Education*. [Internet]. 2015 [cited 2019 December 15]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jbe/2015/149509/> DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/149509>
12. Turovaya AYU, Kade AH, Velichko MA, et al. Proyavleniya psihoemocional'nogo stressa u studentov-medikov v zavisimosti ot uspevaemosti v period sessii. *International journal of applied and fundamental research*. 2014;5-1:145-146. Russian.
13. Backović DV, Maksimović M, Davidović D, et al. Stress and mental health among medical students. *Srp Arh Celok Lek*. 2013 Nov-Dec;141(11-12):780-784. DOI: 10.2298/sarh1312780b
14. Crego A, Carrillo-Diaz M, Armfield JM, et al. Stress and academic performance in dental students: the role of coping strategies and examination-related self-efficacy. *Journal of Dental Education*. 2016;80(2):165-172.
15. Winzer R, Lindberg L, Guldbrandsson K, et al. Effects of mental health interventions for students in higher education are sustainable over time: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Peer J*. [Internet]. 2018 [cited 2019 December 15];6. Available from: <https://peerj.com/articles/4598/> DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.4598>
16. Masood A, Sumaira R, Rubab M, et al. Nonclinical Depression and Anxiety as Predictor of Academic Stress in Medical Students. *International Journal of Medical Research and Health Sciences*. 2016;5(5(S)):391-397.
17. Hritinin DF, Esin AV, Sumarokova MA, et al. [Features of the influence of clinical factors on suicidal behavior in students of a medical university]. *Vestnik nevrologii, psikiatrii i neirohirurgii*. 2017;10:10-17. Russian.
18. Demcheva NK, Buhanovskaya OA. [Mental disorders of preclinical level in students of medical and technical universities in a comparative aspect]. *Vestnik nevrologii, psikiatrii i neirohirurgii*. 2019;8:3-15. Russian.
19. Lebedev MA, Platov SYu. [Preexisting borderline mental disorders in adolescence and young age]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii*, 2013;10:18-22. Russian.
20. Drolet BC, Rodgers S. A comprehensive medical student wellness program--design and implementation at Vanderbilt School of Medicine. *Acad Med*. 2010;85(1):103-110. DOI: 10.1097/ACM.0b013e3181c46963
21. Silva V, Costa P, Pereira I, Faria R, et al. Depression in medical students: insights from a longitudinal study. *BMC Med Educ*. 2017;17(1):184. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12909-017-1006-0>
22. Ruzhenkova VV, Ruzhenkov VA. [The problem of stigma in psychiatry and suicidology]. *Nauchnye vedomosti BelGU*. 2012;17(4(123)):5-13. Russian.
23. Hankir AK, Northall A, Zaman R. Stigma and mental health challenges in medical students *BMJ Case Rep* [Internet]. 2014 [cited 2019 December 15]; Art. bcr2014205226. Available from: <http://casereports.bmj.com/content/2014/bcr-2014-205226.long>
24. Mayer BF, Souza Santos I, Silveira PS, et al. Factors associated to depression and anxiety in medical students: a multicenter study. *BMC Med Educ*. 2016;16(1):282. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12909-016-0791-1>
25. Aherne D, Farrant K, Hickey L, et al. Mindfulness based stress reduction for medical students: optimising student satisfaction and engagement. *BMC Med Educ*. 2016;16(1):209. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12909-016-0728-8>
26. Adams DF. The embedded counseling model: an application to dental students. *J. Dent. Educ*. 2017;81(1):29-35.
27. Semichov SB. [Preexisting mental disorders. Leningrad]. Leningrad: Medicina; 1987. Russian.

28. Aleksandrovskij YuA. [Borderline Mental Disorders: Handbook for doctors]. Moscow: Zevs; Rostov-na-Donu: Feniks; 1997. Russian.

29. Ruzhenkova VV. [The dynamics of the significance of training stress factors and manifestations of stress in medical students after the implementation of the program "Stress Management"]. Vestnik psihoterapii. 2019;70(75): 130-144. Russian.

Статья поступила в редакцию 21 октября 2019 г.
Поступила после доработки 24 декабря 2019 г.
Принята к печати 10 января 2020 г.

Received 21 October 2019
Revised 24 December 2019
Accepted 10 January 2020

Информация об авторе

Виктория Викторовна Руженкова, кандидат медицинских наук, доцент кафедры психиатрии, наркологии и клинической психологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: ruzhenkova@bsu.edu.ru, SPIN: 8424-7632, ORCID: 0000-0002-1740-4904.

Information about the author

Victoria V. Ruzhenkova, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Psychiatry, Narcology and Clinical Psychology, Belgorod State National Research University, E-mail: ruzhenkova@bsu.edu.ru, SPIN: 8424-7632, ORCID: 0000-0002-1740-4904.