

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

7(3) 2021

16+

Сайт журнала:
rrmedicine.ru

сетевой научный рецензируемый журнал
online scholarly peer-reviewed journal



НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Свидетельство о регистрации средства массовой информации Эл. № 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 7, №3. 2021

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2014 г.

ISSN 2658-6533



Volume 7, №3. 2021

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, Ганновский 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
Процаев К.И., доктор медицинских наук, профессор, АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «ГЕРОНТОЛОГИЯ», Москва, РФ
Радзинский В.Е., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, РФ
Руженкова В.В., кандидат медицинских наук, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Сорокин А.В., кандидат медицинских наук, Национальный

EDITORIAL TEAM:

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

EDITORIAL BOARD:

Yu.A. Aleksandrovsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russia
T.S.K. Wan, PhD, Professor, Prince of Wales Hospital of the Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China
S.G. Vorsanova, Doct. Sci. (Biology), Professor, Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics of Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia
P.A. Galenko-Yaroshevsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia
N.I. Zhernakova, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
T. Illig, Dr. rer. nat., Professor, Hanover Unified Biobank 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. Proshchaev, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Research Medical Center "Gerontology", Moscow, Russia
V.E. Radzinsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
V.V. Ruzhenkova, Cand. Sci. (Medicine), Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
A.V. Sorokin, Cand. Sci. (Medicine), National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda, USA
V.A. Stepanov, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Biology), Professor, Research Institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
L. Stojanovska, MSc, PhD, Emeritus Professor, Victoria University, Melbourne, Australia
M.B. Freydin, Doct. Sci. (Biology), King's College London, London, UK
M.B. Khamoshina, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

институт сердца, легких и крови, Бетесда, США

Степанов В.А., член-корреспондент Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, РФ

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

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

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

Хуснутдинова Э.К., член-корреспондент Российской академии образования, доктор биологических наук, профессор, Институт биохимии и генетики Уфимского Федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, РФ

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

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

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

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

Mohammed Abdulazeez, Stefanie Kankel, Thomas Liehr About the origin of the acrocentric part of non-acrocentric satellited chromosomes in humans	215	Mohammed Abdulazeez, Stefanie Kankel, Thomas Liehr About the origin of the acrocentric part of non-acrocentric satellited chromosomes in humans	215
Volodymyr Dvornyk Integrated in-depth bioinformatic analysis suggests <i>RELCH/KIAA1468</i> , <i>LINC02341</i> , and <i>AKAP11</i> as candidate genes for ages at menarche and menopause	220	Volodymyr Dvornyk Integrated in-depth bioinformatic analysis suggests <i>RELCH/KIAA1468</i> , <i>LINC02341</i> , and <i>AKAP11</i> as candidate genes for ages at menarche and menopause	220
Anastasiya V. Kazantseva, Yuliya D. Davydova, Renata F. Enikeeva, Rinat G. Valinurov, Anna E. Gareeva, Nataliya N. Khusnutdinova, Elza K. Khusnutdinova The association study of polymorphic variants of hypothalamic-pituitary-adrenal system genes (<i>AVPR1B</i> , <i>OXTR</i>) and aggressive behavior manifestation: a focus on social environment	232	Anastasiya V. Kazantseva, Yuliya D. Davydova, Renata F. Enikeeva, Rinat G. Valinurov, Anna E. Gareeva, Nataliya N. Khusnutdinova, Elza K. Khusnutdinova The association study of polymorphic variants of hypothalamic-pituitary-adrenal system genes (<i>AVPR1B</i> , <i>OXTR</i>) and aggressive behavior manifestation: a focus on social environment	232
Ю.Э. Азарова Связь полиморфизма rs12449964 гена фосфатидил-этаноламин-N-метилтрансферазы с развитием гипертриглицеридемии и ожирения у больных сахарным диабетом 2-го типа	245	Iuliia E. Azarova The relationship between polymorphism rs12449964 of the phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase gene and hypertriglyceridemia and obesity in patients with type 2 diabetes	245
С.Г. Ворсанова, Ю.Б. Юров, И.А. Демидова, В.С. Кравец, А.Д. Колотий, К.С. Васин, И.В. Соловьев, И.Ю. Юров Синдром делеции короткого плеча хромосомы 18 (18p-) у детей: возможности цитогенетической и молекулярно-цитогенетической диагностики	257	Svetlana G. Vorsanova, Yuri B. Yurov, Irina A. Demidova, Victor S. Kravets, Alexey D. Kolotii, Kirill S. Vasin, Ilia V. Soloviev, Ivan Y. Iourov Chromosome 18p deletion syndrome (18p-) in children: the value of cytogenetic and molecular cytogenetic diagnosis	257

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACOLOGY

Sergey S. Lugovskoy, Sofia S. Chernyaeva, Anna A. Peresypkina, Anna S. Pobeda, Nikolai V. Solovev, Kristina V. Shchurovskaya, Igor N. Iezhitsa Correction of hypertensive retinal changes in rats with Semax	272	Sergey S. Lugovskoy, Sofia S. Chernyaeva, Anna A. Peresypkina, Anna S. Pobeda, Nikolai V. Solovev, Kristina V. Shchurovskaya, Igor N. Iezhitsa Correction of hypertensive retinal changes in rats with Semax	272
---	------------	---	------------

Ю.Е. Полоусова, Д.И. Писарев, О.О. Новиков, Р.А. Абрамович, К.А. Саканян Спектр фармакологической активности разных групп природных соединений листьев лавра обыкновенного и выбор оптимального экстрагента для извлечения эфирного масла из них	281	Yulia E. Polousova, Dmitry I. Pisarev, Oleg O. Novikov, Rimma A. Abramovich, Karen M. Sakanyan The spectrum of pharmacological activity of different groups of natural compounds of laurel leaves and the choice of the optimal extractant for the extraction of essential oil from them	281
--	------------	--	------------

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

MEDICINE

В.А. Борозенцева, В.Ю. Борозенцев, И.П. Почитаева, О.А. Рождественс- кая, Т.В. Евдокимова Синдром возрастной полости рта как компонент гериатрического статуса	296	Vita A. Borozentseva, Vladislav Yu. Borozentsev, Irina P. Pochitaeva, Olga A. Rozhdestvenskaya, Tamara V. Evdokimova Senile mouth as a component of geriatric status	296
С.В. Булгакова, Д.П. Курмаев, М.В. Силютин, Е.А. Воронина, Т.Е. Ничик Вклад эндокринной системы в развитие остеопороза у лиц пожилого и старческого возраста (обзор)	308	Svetlana V. Bulgakova, Dmitriy P. Kurmaev, Marina V. Silyutina, Elena A. Voronina, Tatyana E. Nichik The contribution of the endocrine system to the development of osteoporosis in the elderly and senile (review)	308

ГЕНЕТИКА GENETICS



DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-1

About the origin of the acrocentric part of non-acrocentric satellited chromosomes in humans

Mohammed Abdulazeez , Stefanie Kankel , Thomas Liehr

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

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

Abstract

Background: Variants in size of the acrocentric short arms (acro-ps) are normally not reported and considered as chromosomal heteromorphisms (CHMs) without any influence on the carrier's phenotype. However, if acro-ps are translocated to ends of A-chromosomes (i.e. human chromosomes 1-22 and X or Y), those rearrangements are studied in more detail. **The aim of the study:** Here we characterized 11 healthy carriers of a non-acrocentric satellited chromosomes der(A)t(A;acro)(pter or qter;p1?1.2) to determine the frequency of chromosome 15p and 22p in such rearrangements. **Materials and methods:** 11 carriers of one (10 cases) or two (1 case) der(A)t(A;acro) were identified during routine cytogenetic analyses. They were originally referred due to infertility or due to a mentally retarded child with otherwise abnormal karyotype. Here derivative chromosomes were studied by fluorescence in situ hybridization applying probes D15Z1 (specific for 15p11.2) and D22Z4 (specific for 22p11.2). As there are no DNA-sequences available for 13p11.2, 14p11.2 and 21p11.2 these regions could not be tested. **Results:** D15Z1 sequences were identified in 1 out of 12 derivatives der(A)t(A;acro). D22Z1 could not be detected in any of the 11 remainder derivatives. However, only 3 of the 12 der(A)t(A;acro) had acro-ps large enough to potentially comprise sub-band p11.2. **Conclusion:** In contrast to der(Y)t(Y;acro)(q12;p1?1.2), where in at least 65% of the cases the acro-p part contains D15Z1 sequences, here it could be shown that in der(A)t(A;acro) 15p involvement can be substantiated much less frequently. Also, in none of the two groups D22Z4-sequences were detected in acro-p-parts yet. Besides, breakpoint of acro-p-parts in der(A)t(A;acro) seem to be in ~75% of the cases distal from p11.2.

Keywords: acrocentric short arms (acro-ps); chromosomal heteromorphisms (CHMs); D15Z1 (specific for 15p11.2); D22Z4 (specific for 22p11.2)

Acknowledgments. Clinical cases were provided by Dr. Gödde (Recklinghausen, Germany), Dr. Hehr (Regensburg, Germany), Dr. Hentze (Heidelberg, Germany), Dr. Kläs (Mannheim, Germany), Dr. Lemmens (Aachen, Germany), Drs. Wagner and Stibbe (Hannover, Germany), Dr. Manolakis (Athens, Greece). The probe D22Z4 was kindly provided by Prof. Mariano Rocchi, Bari, Italy.

For citation: Abdulazeez M, Kankel S, Liehr T. About the origin of the acrocentric part of non-acrocentric satellited chromosomes in humans. *Research Results in Biomedicine*. 2021;7(3):215-219. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-1

Introduction. Chromosomal heteromorphisms (CHMs) are considered as cytogenetically detectable gross chromosomal aberrations from the norm, which nonetheless do not lead to any instantaneous clinical consequences. Such changes include euchromatic variants (EV) [1] as well as variations in size and location of heterochromatic DNA-stretches [2]. They can be passed through generations and rarely their new formation has been documented [3].

Typical CHMs, being visible in practically each human karyogram, are size-variations of the acrocentric short arms (acro-ps), i.e. in the overall ten p-arms of chromosomes 13, 14, 15, 21 and 22. In the “International System for Human Cytogenomic Nomenclature” (ISCN, 2020) it is recommended not mentioning them in genetic reports [4]. Acro-ps typically carry a nucleolus organizing region (NOR) in sub-band p12 with ~40 copies, making up a total of 300 - 400 copies per cell [5].

A specific form of CHM involving acro-ps is the presence of an additional, eleventh acro-p being attached at the very tip of another A-chromosome (= in human the chromosomes 1-22 and X or Y). In case if a normal carrier, (almost) no euchromatic material is lost at the telomeric end of the affected A-chromosome, which can be described as $\text{der(A)t(A;acro)(pter or qter;p1?1.2)}$ or non-acrocentric satellited chromosomes. Such derivative chromosomes are only found unexpectedly in infertile diagnostics or parental

studies in an otherwise affected child [6]. The most frequently observed der(A)t(A;acro) is the $\text{der(Y)t(Y;acro)(q12;p1?1.2)}$; therefore a recent study revealed that at least 65% those derivatives are indeed a $\text{der(Y)t(Y;15)(q12;p11.2)}$ [7].

Accordingly, here we studied 11 healthy carriers of one (10 cases) or two (1 case) $\text{der(A)t(A;acro)(pter or qter;p1?1.2)}$ to determine the frequency of chromosome 15p and 22p in such rearrangements. Chromosomes 15 and 22 were chosen, as probes are available for 15p11.2 and 22p11.2, and not for 13p11.2, 14p11.2 or 21p11.2.

Materials and Methods. Chromosomal preparations were derived from PHA-stimulated, cultivated lymphocytes of seven individuals with different indications as listed in Table 1. Karyotyping (= GTG-banding) and FISH were done according to standard procedures [8]. For the latter the following probes were applied: 15p11.2 (D15Z1) (Abbott/Vysis, Wiesbaden, Germany), 22p11.2 (D22Z4) [9], a probe specific for all acrocentric short arms (acro-p = midi54 – microdissection derived probe [10]), whole chromosome painting (wcp) probes 1, 4, 6, 13, 18, 20, 22, X and Y [10]. Four- to five-color-FISH was done as shown in Fig. 1. Probe D15Z1 was labeled in SpectrumGreen, acro-p in Cyanine 5, D22Z4 in SpectrumOrange, wcp probes in diethylaminocoumarine and in case 10 the wcp probe for Y-chromosome in TexasRed.

Table 1

Patients involved in the study and results of molecular cytogenetics

Case number	Indication	Derivative chromosome	D15Z1	D22Z4	Length of normal acro-p-arm [%]
1	infertile	der(1)t(1;acro)(p36.33;p1?1.2)	+	-	>65
2	infertile	der(4)t(4;acro)(q35.2;p1?1.2)	-	-	<65
3	infertile (familial)	der(4)t(4;acro)(q35.2;p1?1.2)	-	-	<65
4	infertile	der(6)t(6;acro)(q27;p1?1.2)	-	-	<65
5	infertile	der(13)t(13;acro)(q34;p1?1.2)	-	-	<65
6	infertile	der(18)t(18;acro)(qter;p1?1.2)	-	-	<65
7	infertile	der(20)t(20;acro)(p13;p11.?)	-	-	<65
8	infertile	der(20)t(20;acro)(p13;p11.?)	-	-	<65
9	infertile	der(22)t(22;acro)(q13.33;p1?1.2)	-	-	>65
10a 10b	parental test due to mentally impaired male child (familial)	der(X)t(X;acro)(q28;p1?1.2), der(Y)t(Y;acro)(q12;p1?1.2)	-	-	<65 <65
11	parental test due to mentally impaired child (familial)	der(X)t(X;acro)(q28;p1?1.2)	-	-	>65

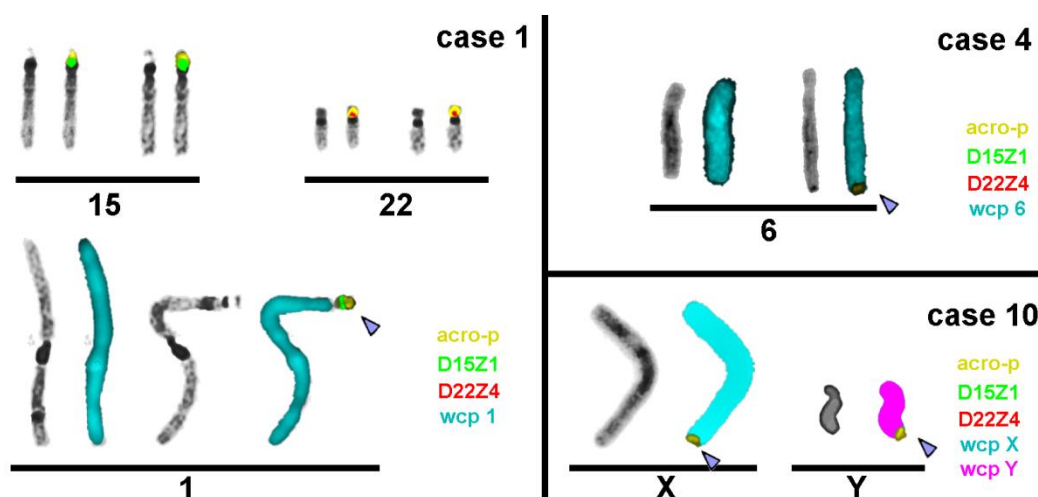


Fig. 1. Typical four to five color FISH results as obtained in this study are shown for cases 1, 4 and 10. The used probes and the color-code is given per each of the three figure parts; the derivatives der(A)t(A;acro)(pter or qter;p1?1.2) of interest are highlighted with arrowheads. For case 1 the typical pattern on the normal chromosomes 15 and 22 is shown together with the result for the chromosomes of interest, here chromosome 1. A der(1)t(1;15)(p36.33;p11.2) could be characterized here. For cases 4 and 10 only the chromosome-pairs of interest are shown. In case 4 a very weak signal was observable at the der(6), obviously being a der(6)t(6;acro)(q27;p12~13). In case 10 two der(A)t(A;acro) were present and they could be characterized as der(X)t(X;acro)(q28;p12~13) and der(Y)t(Y;acro)(q12;p12~13)

Data analyses

The average length of acrocentric short arms was determined for 5 metaphases per case and compared to the average length of

acro-p in der(A;acro). According to Fig. 2 it was estimated that acro-p in der(A;acro) comprises p11.2 parts if it is larger than 65% of an average p-arm.

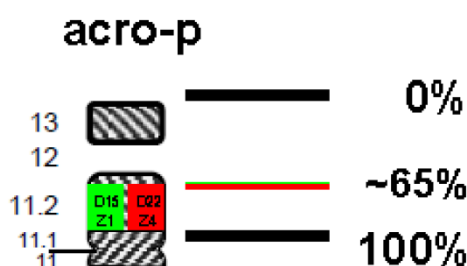


Fig. 2. A scheme for an acrocentric short arm (acro-p) is provided. The location of sequences D15Z1 or D22Z4 in chromosome 15 or 22 are highlighted, as described in Material and Method part it was determined that both sequences can only be expected to be present on a der(A)t(A;acro) if it comprises >65% of the length of a normal acro-p arm.

Ethics Statement

The patients were recruited and studied in frame of routine clinical genetics diagnostics.

Results. In 11 cases with overall 12 derivatives only in case 1 der(A;acro) comprised material derived from a short arm of chromosome 15. Thus, there a der(1)t(1;15)(p36.33;p11.1) could be characterized. In none of the remained 11 der(A;acro) D15Z1 or D22Z4 material could be detected.

Thus, the cases were further analyzed for the length of the acro-p part on the der(A;acro) compared to the other acro-ps within the same case. According to the evaluation scheme, that sub-band p11.2 can only be comprised in der acro-p arm if it is larger than 65%, there remained only 3/12 der(A;acro) being large enough to expect a FISH-result (cases 1, 9 and 11). Accordingly, in all those cases the karyotypes have to be revised to der(A)t(A;acro)(pter or qter;p12~13).

Discussion. CHMs are clearly understudied. Just recently we could show that at least 65% of der(Y)t(Y;acro)(q12;p1?1.2) can indeed be described as der(Y)t(Y;15)(q12;p11.2) [7]. Corresponding data for other rare cases with der(A)t(A;acro) were not available yet.

Here it could be shown that most of der(A)t(A;acro) have the acrocentric breakpoint rather in p12~13 than in p11.1~11.2. This hampers also for future studies their clear attribution to a chromosomal origin, as also e.g. tried without much success be other

by α - or β -satellite probes [6]. As in 3 out of 12 der(A)t(A;acro) the acrocentric breakpoint seemed to be in p11.2 or even p11.1, it may be deduced carefully that other than for der(Y)t(Y;acro) cases D15Z1 is less often involved in der(A)t(A;acro).

It is well known that non-deleterious mutations / aberrations in the Y-chromosome can be by far easier spread in a population than such on other human chromosomes. Thus, it is logical to find der(Y)t(Y;acro) more often than all other variants of der(A)t(A;acro). Also, for the latter variant even a founder effect is described for Canadian population [11].

For der(A)t(A;acro) no founder effects were reported yet, still in the present study 3 of 11 cases (cases 3, 10 and 11) were familial (Tab.1), as were also other described in literature [2, 6].

Conclusion. In conclusion, together with our recent previous work [7] the enigma of origin of the acrocentric part of non-acrocentric satellited chromosomes in humans could be a bit more enlightened. While in der(Y)t(Y;acro)(q12;p1?1.2) in at least 65% of the cases the acro-p part contains D15Z1 sequences, here it could be shown that in der(A)t(A;acro) the 15p involvement can be substantiated much less frequently. Also, in none of the two groups D22Z4-sequences were detected in acro-p-parts yet. Besides, breakpoint of acro-p-parts in der(A)t(A;acro) seem to be in ~75% of the cases distal from p11.2.

Author Contributions

TL developed the idea for the study; MA and SK did the FISH-studies and the overall data interpretation; all authors agreed on final draft.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Liehr T. Benign & Pathological Chromosomal Imbalances, Microscopic and Submicroscopic Copy Number Variations (CNVs) in Genetics and Counseling. Academic Press: New York, USA; 2014.
2. Liehr T. Cases with heteromorphisms. 2021 [cited 2021 July 2]. Available from: <http://cs-tl.de/DB/CA/HCM/0-Start.html>
3. Kosyakova N, Grigorian A, Liehr T, et al. Heteromorphic variants of chromosome 9. Molecular Cytogenetics. 2013;6(1):14. DOI: <https://doi.org/10.1186/1755-8166-6-14>
4. McGowan-Jordan J, Hastings RJ, Moore S. ISCN 2020, An International System for Human Cytogenomic Nomenclature. Karger, Zürich, Switzerland; 2020
5. Wellauer PK, Dawid IB. Isolation and sequence organization of human ribosomal DNA. Journal of Molecular Biology. 1979;128(3):289-303. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(79\)90089-5](https://doi.org/10.1016/0022-2836(79)90089-5)
6. Redaelli S, Conconi D, Villa N, et al. Instability of short arm of acrocentric chromosomes: Lesson from non-acrocentric satellited chromosomes. Report of 24 unrelated cases. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(10):3431. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21103431>
7. Fuchs S, Lisfeld J, Kankel S, et al. The acrocentric part of der(Y)t(Y;acro)(q12;p1?2) contains D15Z1 sequences in the majority of cases. Human Genome Variation. 2021, in press.
8. Liehr T. Fluorescence in situ Hybridization (FISH) – Application Guide, 2nd ed., Springer: Berlin, Germany; 2017.
9. Shiels C, Coutelle C, Huxley C. Contiguous arrays of satellites 1, 3, and beta form a 1.5-Mb domain on chromosome 22p. Genomics. 1997;44(1):35-44. DOI: <https://doi.org/10.1006/geno.1997.4817>
10. Mrasek K, Heller A, Rubtsov N, et al. Detailed Hylobates lar karyotype defined by 25-color FISH and multicolor banding. International Journal of Molecular Medicine. 2003;12(2):139-146. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.12.2.139>
11. Genest P. An eleven-generation satellited Y chromosome. The Lancet. 1972;1(7759):1073. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(72\)91258-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(72)91258-5)

Received 2 July 2021

Revised 3 August 2021

Accepted 12 August 2021

Information about the authors

Mohammed Abdulazeez, Bachelor student, Institute of Human Genetics of the Jena University Hospital, Friedrich Schiller University Jena, Jena, Germany, E-mail: mohammed.abdulazeez@uni-jena.de, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2651-6940>.

Stefanie Kankel, Medical Technical Assistant, Institute of Human Genetics of the Jena University Hospital, Friedrich Schiller University Jena, Jena, Germany, E-mail: Stefanie.Kankel@med.uni-jena.de, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1042-5267>.

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



DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-2

Integrated in-depth bioinformatic analysis suggests *RELCH/KIAA1468*, *LINC02341*, and *AKAP11* as candidate genes for ages at menarche and menopause

Volodymyr Dvornyk 

College of Science and General Studies, Alfaisal University,
P.O.Box 50927, Riyadh, 11533, Kingdom of Saudi Arabia
Corresponding author: Volodymyr Dvornyk (vdvornyk@alfaisal.edu)

Abstract

Background: Polymorphisms of the *TNFRSF11A* and *TNFSF11* genes were reported for their association with age at menarche (AAM) and age at natural menopause (ANM). However, the biological mechanisms underlying this association remain largely unclear. **The aim of the study:** This study was to determine biological processes backing the observed genetic associations. **Materials and methods:** Forty-four SNPs were analyzed using *in silico* approach and ten publicly available online databases and tools. **Results:** *TNFRSF11A* and *TNFSF11* are highly pleiotropic genes that play a role in many metabolic processes. However, among that variety, lipid metabolism and cell survival and apoptosis seem the most biologically plausible mechanisms, through which these genes contribute to AAM and ANM. The analysis identified several mechanisms underlying the previously determined association of the *TNFRSF11A* and *TNFSF11* genes with AAM and ANM and suggested *RELCH/KIAA1468*, *LINC02341*, and *AKAP11* as new candidate genes for the traits. **Conclusion:** The *in silico* analysis is a powerful approach making it possible to uncover possible metabolic pathways underlying observed genetic associations. **Keywords:** bioinformatics; in silico analysis; age at menarche; age at menopause; *TNFRSF11A*; *TNFSF11*

For citation: Dvornyk V. Integrated in-depth bioinformatic analysis suggests *RELCH/KIAA1468*, *LINC02341*, and *AKAP11* as candidate genes for ages at menarche and menopause. Research Results in Biomedicine. 2021;7(3):220-231. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-2

Introduction. Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11a (*TNFRSF11A*), also known as receptor activator of nuclear factor- κ B (NF- κ B; *RANK*), and its ligand (*TNFSF11* or *RANKL*) have been implicated in various cellular processes related to proliferation and death, immunity, and

tissue development. The *TNFRSF11A/TNFSF11* system is widely acknowledged as one of the key players in some primary postmenopausal disorders, such as osteoporosis [1] and cardiovascular diseases [2]. Also, these genes are expressed in mammary gland cells and were shown to con-

trol the development of a lactating mammary gland during pregnancy [3]; that is, they play a role in the reproductive system. Several candidate gene association studies suggested that *TNFRSF11A* and *TNFSF11* were associated with ages at menarche and menopause in different ethnic populations [4-7]. However, biological mechanisms, which underlie these associations, remain largely unclear. The exponential growth of biomolecular data and its mining into databases have provided not only a possibility of more accurate and substantiated choice of genetic markers for a study but also tools for comprehensive analysis to get deeper insights into probable functional assignments of the candidate genetic variants and mechanisms of their contribution to traits [8-10]. I took advantage of the recent advances in bioinformatics and used several online genomic databases to conduct a comprehensive *in silico* analysis of the *TNFRSF11A* and *TNFSF11* polymorphisms, which were re-

ported as associated with age at menarche and menopause. This bioinformatic analysis aimed to get insights into possible mechanisms of these associations.

Materials and Methods

Selection of polymorphisms

Polymorphisms for the analysis were selected based on the published results of their association with ages at menarche and/or menopause. For this purpose, PubMed was screened using terms “*TNFRSF11A*”, “*TNFSF11*”, “*RANK*”, “*RANKL*”, “menarche”, and “menopause” in various combinations. The search returned four articles with relevant results. These articles reported in total 44 SNPs (reference polymorphisms hereafter) associated with ages at menarche and/or menopause in three ethnic samples: Caucasians, Chinese, and Mexicans. The list of the selected polymorphisms and the map of the genomic regions, in which they are located, are given in Table 1 and Figure 1.

Beginning of Table 1

Information about the analyzed SNPs

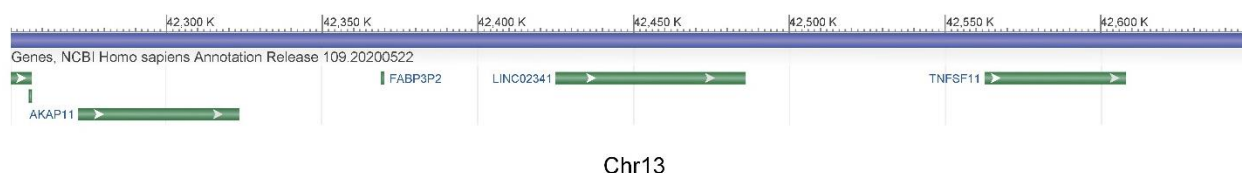
Gene	SNP ID	Location in/around the gene	Association		Ethnicity	Reference
			AAM	ANM		
<i>TNFRSF11A</i> (<i>RANK</i>)	rs3826620	Intron	+	+	Caucasian	[7]
			+		Chinese	[6]
	rs8086340	Intron		+	Caucasian	[7]
			+		Chinese	[6]
	rs11665260	Intron	+	+	Caucasian	[7]
	rs7239261	Intron	+		Chinese	[6]
	rs8094884	Intron	+		Chinese	[6]
	rs8089829	Intron	+		Chinese	[6]
	rs9956850	Intron	+		Chinese	[6]
	rs1805034	Exon Missense Ala/Val	+		Chinese	[6]
			+		Chinese	[5]
	rs4524034	Intron	+		Chinese	[6]
	rs4524035	Intron	+		Chinese	[6]
	rs12455775	Intron	+		Chinese	[6]
	rs17069904	Intron	+		Chinese	[6]
	rs12959396	Intron	+		Chinese	[6]
	rs2981003	5'-region, 5.8kb 3' of <i>KIAA1468</i>	+		Chinese	[6]
	rs2981004	5'-region, 6.2kb 3' of <i>KIAA1468</i>	+		Chinese	[6]
	rs6567263	5'-Region	+		Chinese	[6]
	rs7233197	Intron	+		Chinese	[6]
	rs4941125	Intron	+		Chinese	[6]
	rs4500848	Intron	+		Chinese	[5]

End of Table 1

Information about the analyzed SNPs

Gene	SNP ID	Location in/around the gene	Association		Ethnicity	Reference
			AAM	ANM		
	rs6567270	Intron	+		Chinese	[5]
	rs9962159	Intron		+	Chinese	[5]
TNFSF11 (RANKL)	rs12585014	5'-region	+		Mexican	[4]
			+	+	Caucasian	[7]
	rs9525641	Intron	+	+	Caucasian	[7]
	rs2200287	Intron	+		Caucasian	[7]
	rs1054016	3'-UTR	+		Caucasian	[7]
	rs346578	3'-UTR		+	Caucasian	[7]
	rs3742257	Intron	+	+	Caucasian	[7]
	rs922996	Intron	+	+	Caucasian	[7]
	rs7988338	Intron	+	+	Caucasian	[7]
	rs2277438	Intron	+	+	Caucasian	[7]
	rs9525645	Intron	+	+	Caucasian	[7]
	rs2148073	Intron	+	+	Caucasian	[7]
LINC02341	rs12874142	5'-region	+		Chinese	[6]
	rs7326472	5'-region	+		Chinese	[6]
	rs11147871	5'-region	+		Chinese	[6]
	rs9590697	5'-region	+		Chinese	[6]
	rs727243	5'-region	+		Chinese	[6]
	rs12864265	Intron	+		Chinese	[6]
	rs7316953	Intron	+		Chinese	[6]
	rs1324005	Intron	+		Chinese	[6]
	rs9525625	Intron	+		Chinese	[6]
	rs720824	Intron	+		Chinese	[6]
AKAP11	rs9525610	3'-UTR	+		Chinese	[6]
	rs238281	3'-UTR	+		Chinese	[6]
	rs9525613	3'-UTR	+		Chinese	[6]
	rs430586	3'-UTR	+		Chinese	[6]
	rs417768	3'-UTR	+		Chinese	[6]
	rs912100	3'-UTR	+		Chinese	[6]
	rs17063218	3'-UTR	+		Chinese	[6]
	rs17522044	3'-UTR	+		Chinese	[6]
	rs238270	3'-UTR	+		Chinese	[6]

(a)



(b)

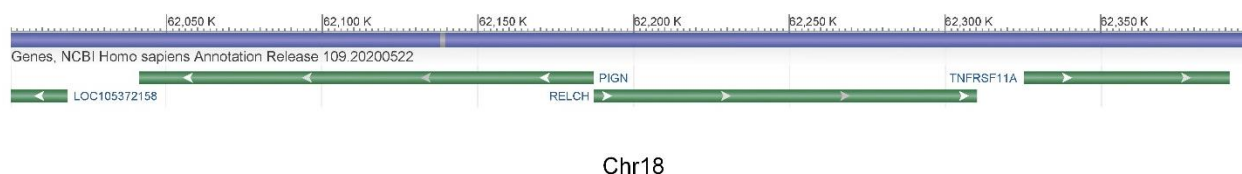


Fig. 1. Maps of the genomic regions where the analyzed SNPs and genes are located.

Bioinformatic analysis

In total ten bioinformatics tools were employed for the analyses.

The effect of non-synonymous SNPs on the protein function was analyzed using SIFT (<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>) [11].

The integrated online tool, HaploReg v4.1 [12] was used to identify polymorphisms in strong linkage disequilibrium (LD) ($r^2 \geq 0.8$) with the AAM- and/or ANM-associated ones and to analyze them for their functional significance (chromatin states, motifs changes, protein interactions, regulatory potential, and eQTLs). The analysis was conducted separately for Caucasian and Chinese ethnicities using the data of the European and Asian populations from the 1000 Genomes Project Phase.

In addition to HaploReg (v4.1), three other databases were used to analyze regulatory effects of the polymorphisms: RegulomeDB (Version 1.1) (<http://regulome.stanford.edu/>) [13], rSNPBase (<http://rsnp.psych.ac.cn/index.do>) [14], and SNP Function Prediction (FuncPred) (<https://snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.html>) [15], and GeneCards (<https://www.genecards.org/>) [16].

The effect of the 44 candidate SNPs for AAM and ANM on gene expression level (*cis*- and *trans*-eQTL) was estimated in peripheral blood using the Blood eQTL browser (<http://genenetwork.nl/bloodeqtlbrowser/>) [17], and in other organs and tissues using the GTExportal data (<http://www.gtexportal.org/>) as of 07/27/2020. The false discovery rate (FDR) ≤ 0.05 was applied as the significance level.

The functional significance of the candidate genes for AAM in the various biological pathways was studied using the Gene Ontology Resource tools available at <http://geneontology.org> [18]. The results of multiple comparisons were adjusted with the $FDR < 0.05$. The gene interaction networks were constructed using GeneMANIA (version 3.5.0) [19] available at <http://genemania.org>.

Results

Genomic location of the SNPs

First of all, 21 out of the 44 reference SNPs previously annotated to the regions of the *TNFRSF11A* and *TNFSF11* genes could also be mapped to the regions of the other genes (Table 1). Ten reference SNPs were located in the region of the *LINC02341* gene, five of them in the introns. Nine variants were located in the 3'-UTR of the *AKAP11* gene. Two SNPs, rs2981003 and rs2981004, were located in the 3'-UTR of the *RELCH/KIAA1468* gene.

Non-synonymous SNPs

Only one of all analyzed SNPs, rs1805034 in the *TNFRSF11A* gene, was missense. It results in an Ala/Val replacement in the respective protein. The replacement has SIFT Score = 1 and prediction value "tolerated".

SNPs in strong LD with the reference polymorphisms

The query against the HaploReg database returned in a total of 348 (224 unique) SNPs linked to the reference ones of the *TNFRSF11A* gene and 779 (322 unique) SNPs linked to the reference loci of the *TNFSF11* gene (Supplementary Table 1). The SNP association and linkage patterns were quite different between European and Asian populations. Specifically, two SNPs of the *TNFRSF11A* gene, rs3826620 and rs8086340, were associated with AAM and/or ANM in both Caucasians and Chinese [6, 7]. However, the HaploReg analysis returned no SNPs linked to rs3826620 in Europeans vs eight SNPs in Asians. In total, six loci were linked to the three reference SNPs in the European population and 218 were linked to the 19 reference SNPs in the Asian population. Out of these 224 unique SNPs, only three were shared between the European and Asian populations. Quite a few SNPs in the Asian population were located at/near the *RELCH/KIAA1468* and *PIGN* genes (Supplementary Table 1).

Even more striking ethnicity-related differences were observed for the *TNFSF11* gene polymorphisms: no shared SNPs in Europeans and Asians. In the Asian population, more

than half reference and linked to them polymorphisms were located at/near the *AKAP11* gene (Supplementary Table 1).

Regulatory effects

The results of the regulatory effect analysis are shown in Supplementary tables 1 and 2. They suggest that all reference SNPs can produce various regulatory effects, albeit

to a different extent. For example, rs8086340 of the *TNFRSF11A* gene displays histone marks associated with promoters in six tissues and enhancers in 14 tissues, located in the DNase-1 hypersensitive region in 21 tissues, binding region for six proteins, and altered motif for the Foxm1 transcription factor (Supplementary Table 1).

Table 2

Effect of the reference AAM- and ANM-associated SNPs on the gene expression (*cis*-eQTL) in peripheral blood according to the Blood eQTL browser [17]

SNP	Gene/Region	Gene Expressed	P	FDR*
rs3826620	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	$4.7 \cdot 10^{-9}$	0.00
rs8086340	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	$6.9 \cdot 10^{-5}$	0.03
rs7239261	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	$3.9 \cdot 10^{-5}$	0.02
rs7233197	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	$3.1 \cdot 10^{-9}$	0.00
rs4941125	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	$3.7 \cdot 10^{-6}$	0.00
rs9962159	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	$7.3 \cdot 10^{-5}$	0.03
rs12874142	80kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>AKAP11</i>	$6.5 \cdot 10^{-5}$	0.03
rs9525625	117kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>AKAP11</i>	$1.1 \cdot 10^{-6}$	0.00
rs238281	13kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>AKAP11</i>	$1.9 \cdot 10^{-32}$	0.00
rs9525613	21kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>AKAP11</i>	$2.6 \cdot 10^{-8}$	0.00
rs430586	23kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>AKAP11</i>	$1.0 \cdot 10^{-21}$	0.00
rs417768	23kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>AKAP11</i>	$1.4 \cdot 10^{-21}$	0.00
rs912100	24kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>AKAP11</i>	$6.4 \cdot 10^{-30}$	0.00
rs238270	36kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>AKAP11</i>	$1.4 \cdot 10^{-20}$	0.00

Note: * FDR, False Discovery Rate

Expression QTLs

Several reference SNPs appeared to have a significant *cis*-eQTL effect on the expression of five genes, *RELCH/KIAA1468*, *PIGN*, *AKAP11*, *TNFRSF11A*, and *TNFSF11*, in various tissues and organs (Tables 2 and 3).

Pathway analysis

This analysis was conducted for *TNFRSF11A* and *TNFSF11* (because they were originally reported as associated with AAM and/or ANM), *LINC02341* (because several reference polymorphisms were mapped to this gene), and *RELCH/KIAA1468*, *PIGN*, *AKAP11* (because the expression of these genes might be affected by some reference SNPs according to the eQTL analysis).

According to the results of the PANTHER overrepresentation test,

the *TNFRSF11A* and *TNFSF11* genes are involved in a broad range of biological processes, including regulation of ERK1 and ERK2 cascade, secretion of prostaglandins, bone remodeling, and mammary gland development (Supplementary Table 3). Apart from these two, *AKAP11* was suggested to contribute to the organism's homeostasis (Supplementary Table 3). No data was found for *RELCH/KIAA1468*, *PIGN*, and *LINC02341*.

The gene-gene interaction network inferred using GeneMANIA (Figure 2) suggested that the major contribution (64.32%) came from physical interactions between the proteins, followed by co-expression (25.88%), co-localization (5.61%), and common pathways (4.19%).

Beginning of Table 3

Effect of the reference AAM- and ANM-associated SNPs on the gene expression (cis-eQTL) in various tissues according to the GTEx browser

SNP	Gene/Region	Gene Expressed	Effect	Tissue
rs3826620	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	Down	Nerve-tibial
rs11665260	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	Down	Skin - sun exposed (lower leg)
rs8094884	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	Up	Skin - sun exposed (lower leg)
rs8089829	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	Down	Testis, nerve - tibial
rs9956850	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	Up	Adipose-subcutaneous
		<i>PIGN</i>	Down	Aorta, coronary artery, adipose tissue, thyroid
rs17069904	23kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>TNFRSF11A</i>	Down	Esophagus - mucosa
		<i>PIGN</i>	Up	Adipose-subcutaneous, lung, muscle-skeletal
rs12959396	24kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	Down	Testis
rs2981003	36kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>TNFRSF11A</i>	Up	Skin, esophagus-mucosa, brain, lung, mammary tissue, pancreas, pituitary, thyroid
		<i>PIGN</i>	Down	Adipose-subcutaneous, esophagus-mucosa, brain, lung, muscle-skeletal, thyroid, artery-tibial, nerve-tibial
rs2981004	6.2kb 3' of <i>KIAA1468</i>	<i>TNFRSF11A</i>	Up	Skin, esophagus-mucosa, brain, lung, mammary tissue, pancreas, pituitary, thyroid
rs6567263	4.9kb 5' of <i>TNFRSF11A</i>	<i>PIGN</i>	Down	Adipose-subcutaneous, esophagus-mucosa, brain, lung, muscle-skeletal, thyroid, artery-tibial, nerve-tibial
rs7233197	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	Down	Skin, esophagus-mucosa, brain, lung, mammary tissue, pancreas, pituitary, thyroid, nerve-tibial
		<i>PIGN</i>	Down	Adipose-subcutaneous, esophagus-mucosa, brain, lung, muscle-skeletal, thyroid, artery-tibial, nerve-tibial
rs4941125	<i>TNFRSF11A</i>	<i>TNFRSF11A</i>	Up	Esophagus-mucosa, skin, thyroid
		<i>PIGN</i>	Down	Skin, thyroid, adipose-subcutaneous, small intestine-ileum
rs4500848	<i>TNFRSF11A</i>	<i>RELCH/KIAA1468</i>	Down	Nerve-tibial, adipose-subcutaneous, testis
		<i>PIGN</i>	Down	Skin, brain
rs9962159	<i>TNFRSF11A</i>	<i>TNFRSF11A</i>	Up	Skin, thyroid
		<i>PIGN</i>	Down	Skin, thyroid, adipose-subcutaneous
rs12874142	80kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>TNFSF11</i>	Up	Esophagus-mucosa
		<i>AKAP11</i>	Up	Esophagus-muscularis, brain, skin
rs9590697	97kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>TNFSF11</i>	Up	Esophagus-mucosa
		<i>AKAP11</i>	Up	Esophagus-muscularis, skin
rs727243	98kb 3' of <i>AKAP11</i>	<i>TNFSF11</i>	Up	Esophagus-mucosa
		<i>AKAP11</i>	Up	Esophagus-muscularis

End of Table 3

Effect of the reference AAM- and ANM-associated SNPs on the gene expression (cis-eQTL) in various tissues according to the GTEx browser

SNP	Gene/Region	Gene Expressed	Effect	Tissue
rs12864265	117kb 3' of AKAP11	TNFSF11	Up	Esophagus-mucosa
		AKAP11	Up	Esophagus-muscularis, skin
rs7316953	119kb 5' of TNFSF11	TNFSF11	Down	Esophagus-mucosa
		AKAP11	Down	Esophagus-muscularis
rs1324005	119kb 5' of TNFSF11	TNFSF11	Up	Esophagus-mucosa
		AKAP11	Up	Esophagus-muscularis, skin
rs9525625	119kb 5' of TNFSF11	AKAP11	Down	Esophagus-mucosa, esophagus-muscularis, brain
rs720824	119kb 5' of TNFSF11	TNFSF11	Down	Esophagus-mucosa
		AKAP11	Down	Esophagus-muscularis
rs238281	13kb 3' of AKAP11	AKAP11	Up	Artery, brain, colon, esophagus-mucosa, esophagus-muscularis, nerve-tibial, adipose-subcutaneous
rs9525613	21kb 3' of AKAP11	AKAP11	Up	Artery-tibial
rs430586	23kb 3' of AKAP11	AKAP11	Up/Down	Esophagus-mucosa, esophagus-muscularis, brain, adipose-subcutaneous, heart, muscle-skeletal
rs417768	23kb 3' of AKAP11	AKAP11	Up/Down	Esophagus-mucosa, esophagus-muscularis, brain, adipose-subcutaneous, heart, muscle-skeletal
rs912100	24kb 3' of AKAP11	AKAP11	Up/Down	Esophagus-mucosa, esophagus-muscularis, brain, adipose-subcutaneous, heart, muscle-skeletal, vagina, lung, colon, nerve-tibial
rs17063218	25kb 3' of AKAP11	AKAP11	Up/Down	Esophagus-mucosa, esophagus-muscularis, brain, adipose-subcutaneous, heart, muscle-skeletal, vagina, lung, colon, nerve-tibial
rs17522044	26kb 3' of AKAP11	AKAP11	Up	Esophagus-mucosa, esophagus-muscularis, heart, muscle-skeletal, nerve-tibial, artery-tibial
rs238270	36kb 3' of AKAP11	AKAP11	Up/Down	Esophagus-mucosa, esophagus-muscularis, brain, adipose-subcutaneous, muscle-skeletal, nerve-tibial

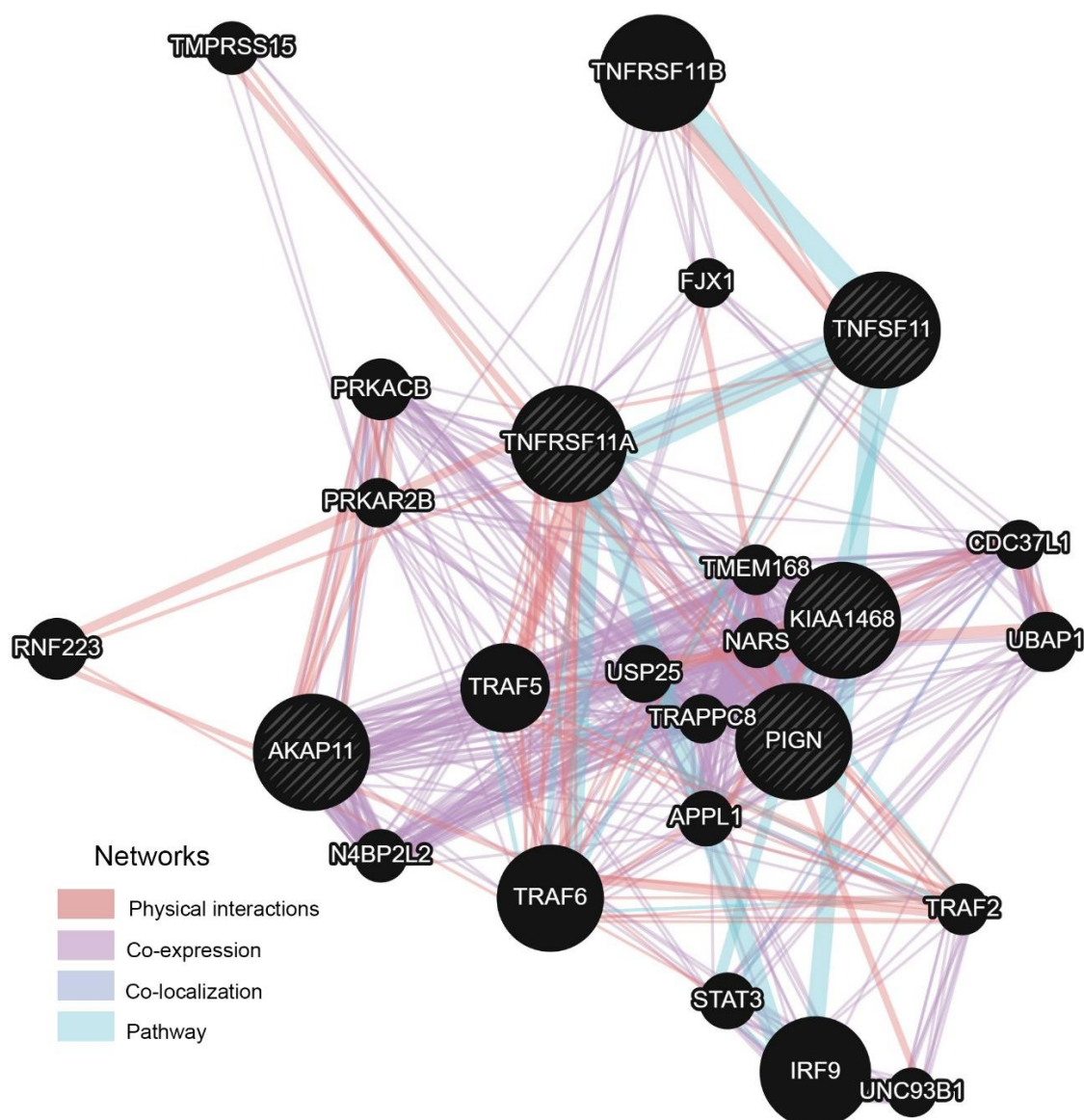


Fig. 2. The interaction networks of the candidate genes for age at menarche and natural menopause inferred using GeneMANIA. The candidate genes for the traits determined in the present study are cross-shaded

Discussion. This study provides evidence that, in addition to the *TNFRSF11A* and *TNFSF11* genes previously reported as associated with AAM and/or ANM, four other genes might be associated with these traits.

The *LINC02341* gene belongs to the class of long non-coding RNAs. There is not much information about *LINC02341* in public databases. Although long non-coding RNAs have not been studied well, there is a growing body of evidence that they are involved in transcriptional regulation [20]. Indeed, according to the GeneHancer database [21], *LINC02341* harbors enhancers for six genes,

including *TNFSF11* and *AKAP11*, and binding sites for 76 transcription factors. The expression of the gene is relatively low and was documented in several tissues and organs, including lymph nodes, kidneys, placenta, and others [22]. The reference SNP, rs9525625, which is an intronic variant of the gene, was reported as a risk factor of inflammatory bowel disease [23].

The regions of two genes, *RELCH/KIAA1468* and *AKAP11*, also harbored several reference SNPs associated with AAM (Table 1). Besides, quite a few genetic variants in these genes were linked to the reference pol-

ymorphisms (Supplementary Table 1). These results suggested that the above genes might also contribute to the above trait.

RELCH (RAB11 binding and LisH domain, coiled-coil and HEAT repeat-containing, alias *KIAA1468*) encodes a protein playing a key role in intracellular cholesterol distribution [24]. The gene is ubiquitously expressed in human tissues and organs, including endocrine glands, endometrium, and ovaries [22]. The results of the GeneMANIA analysis suggested that this gene was co-expressed with *TNFRSF11A*, *AKAP11*, and *PIGN* (Figure 2).

A product of *AKAP11*, A-kinase anchoring protein 11, belongs to the protein family whose members, despite the diverse structure, have the same function of binding to the regulatory subunit of protein kinase A and targeting the enzyme to specific locations in the cell. It has similar to *RELCH* expression patterns [22] but is not co-expressed with *TNFRSF11A* and *PIGN* (Figure 2).

The *PIGN* gene encodes ethanolamine phosphate transferase, a key element of glycosylphosphatidylinositol-anchor biosynthesis. Mutations in the gene were associated with multiple congenital anomalies-hypotonia-seizures syndrome [25]. The gene is co-expressed with *TNFRSF11A* and *RELCH* (Figure 2).

RELCH and *AKAP11* are pleiotropic genes and were associated with multiple traits, including those related to menarche and menopause (e.g., bone phenotypes, obesity, development, etc.) [26, 27]. There is ample evidence that the above phenotypes have a shared genetic basis with AAM and ANM (see e.g., [6, 7, 28]. Together with the results of the *in silico* analysis of the present study, it suggests that *RELCH/KIAA1468*, *LINC02341*, and *AKAP11* may be candidate genes for AAM and/or ANM. This assumption is biologically plausible too.

A possible contribution of *PIGN* to AAM and/or ANM looks less obvious, largely due to the lack of data about the association of this gene with menarche- and menopause-related phenotypes. On the other hand, according to GeneHancer, this gene harbors

binding sites of multiple transcription factors targeting the expression of *RELCH* and *TNFRSF11A*. Furthermore, given the involvement of this gene in the basic cellular and developmental processes [29] and tight linkage to the AAM-associated loci (Supplementary Table 1), the above possibility could not be ruled out.

The results of the Gene Ontology and GeneMANIA analyses (Supplementary tables 3, 4, Figure 2) suggested that the contribution of *TNFRSF11A* and *TNFSF11* to menarche and menopause timing is likely multifaceted. The *TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B* (*RANK/RANKL/OPG*) signaling pathway has been widely acknowledged as a key player in bone remodeling [1]. Apart from this, the system plays an important role in the progesterone-driven proliferation of the mammary gland epithelium and the risk of breast cancer [30]. One of the possible ways through which *TNFRSF11A* can affect AAM and ANM is an interaction with *TRAF2*, a key element in the control of cell survival and apoptosis [31]. Involvement in the metabolism of lipids may be one more important biological mechanism of the AAM- and ANM-related role of *TNFRSF11A*. The relationship between obesity and AAM/ANM has been well documented [32, 33]. Arachidonic acid/prostaglandin E2 axis was implicated in uterine epithelium cell death induced by menopause [34]. The fatty acid composition was shown to be related to the menopausal status [35].

The lack of the GO Ontology data about *RELCH/KIAA1468*, *PIGN*, and *LINC02341* may suggest that their role in metabolic pathways is still poorly studied. On the other hand, there is extensive evidence about co-expression of *RELCH/KIAA1468* and *PIGN* with many genes, including those involved in the control of the basic cellular processes, e.g., cell proliferation [36] (Supplementary Table 4).

In general, a degree of gene pleiotropy seems to be inversely related to the relative contribution of the gene to the trait. Given that most genes in the human genome are pleiotropic [37], the expected contribution of each of them to a particular trait is quite mod-

est. Therefore, highly pleiotropic genes have a small effect size and often yield false negative results in GWAS unless their contribution to a particular trait is above the average for other traits (e.g., *TNFRSF11A/TNFSF11* contribution to bone remodeling).

The present study also sheds light on the frequently observed inconsistencies in associated polymorphisms and unsuccessful attempts to replicate candidate loci in different ethnic populations. Previous studies suggested that differences in population genetic structure might underlie the above disparities [38, 39]. The results of the present study suggest that, in addition to the allele frequencies, population-specific LD patterns are another important factor.

Conclusion. The *in silico* analysis of the *TNFRSF11A* and *TNFSF11* polymorphisms previously reported for association with AAM and/or ANM suggested *RELCH/KIAA1468*, *LINC02341*, and *AKAP11* genes as candidates for the traits. While this assumption is biologically plausible, candidate gene association studies are needed to verify it. In summary, the present study demonstrates that the in-depth analysis of rapidly expanding biological databases may provide new insights into possible factors and mechanisms underlying the observed association of genetic markers with a trait.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

References

1. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2008;473(2):139-46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.03.018>
2. Harper E, Forde H, Davenport C, et al. Vascular calcification in type-2 diabetes and cardiovascular disease: Integrative roles for OPG, RANKL and TRAIL. *Vascular Pharmacology*. 2016;82:30-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vph.2016.02.003>
3. Theill LE, Boyle WJ, Penninger JM. RANK-L and RANK: T cells, bone loss, and mammalian evolution. *Annual Review of Immunology*. 2002;20:795-823. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.1003.01.064753>
4. Casas-Avila L, Ponce de Leon-Suarez V, Penaloza-Espinosa RI, et al. The RANKL rs12585014 polymorphism is associated with age at menarche in postmenopausal women with hip fracture. *Gynecological Endocrinology*. 2018;34(12):1031-1034. DOI: <https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1481943>
5. Duan P, Wang ZM, Liu J, et al. Gene polymorphisms in *RANKL/RANK/OPG* pathway are associated with ages at menarche and natural menopause in Chinese women. *BMC Women's Health*. 2015;15:32. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12905-015-0192-3>
6. Pan R, Liu YZ, Deng HW, et al. Association analyses suggest the effects of *RANK* and *RANKL* on age at menarche in Chinese women. *Climacteric*. 2012;15(1):75-81. DOI: <https://doi.org/10.3109/13697137.2011.587556>
7. Lu Y, Liu P, Recker RR, et al. *TNFRSF11A* and *TNFSF11* are associated with age at menarche and natural menopause in white women. *Menopause*. 2010;17(5):1048-1054. DOI: <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e3181d5d523>
8. Chen CY, Chang IS, Hsiung CA, et al. On the identification of potential regulatory variants within genome wide association candidate SNP sets. *BMC Medical Genomics*. 2014;7:34. DOI: <https://doi.org/10.1186/1755-8794-7-34>
9. Herman MA, Rosen ED. Making biological sense of GWAS data: lessons from the FTO locus. *Cell Metabolism*. 2015;22(4):538-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.09.018>
10. Reshetnikov EA. Study of associations of candidate genes differentially expressing in the placenta with the development of placental insufficiency with fetal growth restriction. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(3):338-349. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-3-0-5>
11. Sim NL, Kumar P, Hu J, et al. SIFT web server: predicting effects of amino acid substitutions on proteins. *Nucleic Acids Research*. 2012;40(W1):W452-W457. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks539>

12. Ward LD, Kellis M. HaploReg: a resource for exploring chromatin states, conservation, and regulatory motif alterations within sets of genetically linked variants. *Nucleic Acids Research*. 2012;40(D1):D930-D934. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkr917>
13. Boyle AP, Hong EL, Hariharan M, et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome Research*. 2012;22:1790-1797. DOI: <https://doi.org/10.1101/gr.137323.112>
14. Guo L, Du Y, Chang S, et al. rSNPBase: a database for curated regulatory SNPs. *Nucleic Acids Research*. 2014;42(D1):D1033-D1039. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1167>
15. Xu Z, Taylor JA. SNPinfo: integrating GWAS and candidate gene information into functional SNP selection for genetic association studies. *Nucleic Acids Research*. 2009;37(suppl_2):W600-W605. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkp290>
16. Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards Suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses. *Current Protocols in Bioinformatics*. 2016;54:1.30.1-1.30.33. DOI: <https://doi.org/10.1002/cpbi.5>
17. Westra H-J, Peters MJ, Esko T, et al. Systematic identification of trans eQTLs as putative drivers of known disease associations. *Nature Genetics*. 2013;45(10):1238-1243. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2756>
18. The Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Research*. 2019;47(D1):D330-D338. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1055>
19. Warde-Farley D, Donaldson SL, Comes O, et al. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic Acids Research*. 2010;38(suppl_2):W214-W220. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkq537>
20. Ma L, Cao J, Liu L, et al. LncBook: a curated knowledgebase of human long non-coding RNAs. *Nucleic Acids Research*. 2019;47(D1):D128-D134. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky960>
21. Fishilevich S, Nudel R, Rappaport N, et al. GeneHancer: genome-wide integration of enhancers and target genes in GeneCards Database. 2017;2017:bax028. DOI: <https://doi.org/10.1093/database/bax028>
22. Fagerberg L, Hallstrom BM, Oksvold P, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2014;13(2):397-406. DOI: <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.035600>
23. Liu JZ, van Sommeren S, Huang H, et al. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. *Nature Genetics*. 2015;47(9):979-986. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3359>
24. Sobajima T, Yoshimura SI, Maeda T, et al. The Rab11-binding protein RELCH/KIAA1468 controls intracellular cholesterol distribution. *Journal of Cell Biology*. 2018;217(5):1777-1796. DOI: <https://doi.org/10.1083/jcb.201709123>
25. Maydan G, Noyman I, Har-Zahav A, et al. Multiple congenital anomalies-hypotonia-seizures syndrome is caused by a mutation in PIGN. *Journal of Medical Genetics*. 2011;48(6):383-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2010.087114>
26. Tachmazidou I, Suveges D, Min JL, et al. Whole-Genome Sequencing Coupled to Imputation Discovers Genetic Signals for Anthropometric Traits. *American Journal of Human Genetics*. 2017;100(6):865-884. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.04.014>
27. Zhang L, Choi HJ, Estrada K, et al. Multistage genome-wide association meta-analyses identified two new loci for bone mineral density. *Human Molecular Genetics*. 2014;23(7):1923-33. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt575>
28. Liu PY, Lu Y, Recker RR, et al. ALOX12 gene is associated with the onset of natural menopause in white women. *Menopause*. 2010;17(1):152-156. DOI: <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e3181b63c68>
29. Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, et al. PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy. *Neurogenetics*. 2014;15(2):85-92. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10048-013-0384-7>
30. Infante M, Fabi A, Cognetti F, et al. RANKL/RANK/OPG system beyond bone remodeling: involvement in breast cancer and clinical perspectives. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 2019;38(1):12. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13046-018-1001-2>

31. Zhang L, Blackwell K, Shi Z, et al. The RING domain of TRAF2 plays an essential role in the inhibition of TNF α -induced cell death but not in the activation of NF- κ B. *Journal of Molecular Biology*. 2010;396(3):528-39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.01.008>
32. Biro FM, Khoury P, Morrison JA. Influence of obesity on timing of puberty. *International Journal of Andrology*. 2006;29(1):272-277. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2005.00602.x>
33. Lovejoy JC. The menopause and obesity. *Primary Care - Clinics in Office Practice*. 2003;30(2):317-325. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0095-4543\(03\)00012-5](https://doi.org/10.1016/S0095-4543(03)00012-5)
34. Zhou S, Zhao L, Yi T, et al. Menopause-induced uterine epithelium atrophy results from arachidonic acid/prostaglandin E2 axis inhibition-mediated autophagic cell death. *Scientific Reports*. 2016;6:31408. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep31408>
35. Stark KD, Park EJ, Holub BJ. Fatty acid composition of serum phospholipid of premenopausal women and postmenopausal women receiving and not receiving hormone replacement therapy. *Menopause*. 2003;10(5):448-55. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.GME.0000059861.93639.1A>
36. Xu J, Su Z, Ding Q, et al. Inhibition of proliferation by knockdown of transmembrane (TMEM) 168 in glioblastoma cells via suppression of Wnt/ β -catenin pathway. *Oncology Research*. 2019;27(7):819-826. DOI: <https://doi.org/10.3727/096504018X15478559215014>
37. Watanabe K, Stringer S, Frei O, et al. A global overview of pleiotropy and genetic architecture in complex traits. *Nature Genetics*. 2019;51(9):1339-1348. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0481-0>
38. Dvornyk V, Liu PY, Long JR, et al. Contribution of genotype and ethnicity to bone mineral density variation in Caucasians and Chinese: a test for five candidate genes for bone mass. *Chinese Medical Journal*. 2005;118(15):1235-1244.
39. Dvornyk V, Liu XH, Shen H, et al. Differentiation of Caucasians and Chinese at bone mass candidate genes: implication for ethnic difference of bone mass. *Ann Hum Genet*. 2003;67(Pt 3):216-27. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1469-1809.2003.00037.x>

Received 15 April 2021

Revised 30 May 2021

Accepted 21 June 2021

Information about the author

Volodymyr Dvornyk, PhD, Associate Professor at the Department of Life Sciences, College of Science and General Studies, Alfaisal University, Riyadh, Kingdom of Saudi Arabia, E-mail: vdvornyk@alfaisal.edu, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2535-103X>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-3

УДК 575.162:575.167:57.026:57.024:57.022

The association study of polymorphic variants of hypothalamic-pituitary-adrenal system genes (AVPR1B, OXTR) and aggressive behavior manifestation: a focus on social environment

Anastasiya V. Kazantseva^{1,2} , Yuliya D. Davydova¹ , Renata F. Enikeeva¹ ,
Rinat G. Valinurov³ , Anna E. Gareeva¹ , Nataliya N. Khusnutdinova¹ ,
Elza K. Khusnutdinova¹

¹ Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences,
71 Oktyabrya Ave., Ufa, 450054, Russia

² Ufa State Petroleum Technological University,
1 Kosmonavtov St., Ufa, 450064, Russia

³ Bashkir State Medical University,
3 Lenin St., Ufa, 450008, Russia

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

Abstract

Background: Aggressive behavior (AB) represents an important social problem, which results in significant costs for the society. A significant role in developing aggression is suggested to be mediated by molecular mechanisms related to the functioning of oxytocin (*OXTR*) and arginine vasopressin receptor (*AVPR1B*) genes involved in the regulation of social behavior. On the other hand, a specificity of environmental factors affecting an individual at various stages of development may modulate the molecular processes, especially at gene expression level, thus affecting human's ability to self-control and resulting in AB manifestation. **The aim of the study:** Considering a multifactorial nature of developing aggression, the present study is aimed to estimate both the genetic- and haplotype-based effects of the *OXTR* and *AVPR1B* genes and gene-by-environment interactions in developing AB. **Materials and methods:** The genotyping of the *OXTR* (rs2228485, rs53576) and *AVPR1B* (rs33911258) gene variants was conducted via PCR with fluorescent detection in 189 criminal offenders (7% women) from the Republic of Bashkortostan, who committed murders, and the control group (N=254, 12% women) corresponding to the group of criminal offenders by ethnicity and age. Statistical analysis was performed via logistic regression with correction for multiple comparisons (PLINK v.1.09). **Results:** As a result of statistical analysis the association of rs2228485 A-allele and AG haplotype (rs2228485 and rs53576) in the *OXTR* gene with an enhanced risk for developing AB was observed. In addition, we demonstrated a modulating effect of such environmental factors as the presence of severe somatic diseases, alcohol addiction, fa-

miliar history of psychopathologies, income and education level. Moreover, the effect of rs33911258 G-allele in the *AVPR1B* gene on AB was observed. **Conclusion:** The data obtained evidence that the examined variants in the *AVPR1B* and *OXTR* genes in combination with specific environmental factors may affect neuronal systems functioning, thus resulting in the manifestation of antisocial behavior.

Keywords: antisocial behavior; HPA axis; oxytocin; arginine vasopressin; association analysis; callous-unemotional traits

For citation: Kazantseva AV, Davydova YD, Enikeeva RF, et al. The association study of polymorphic variants of hypothalamic-pituitary-adrenal system genes (*AVPR1B*, *OXTR*) and aggressive behavior manifestation: a focus on social environment. Research Results in Biomedicine. 2021;7(3):232-244. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-3

Background. Aggressive behavior (AB) represents a complex phenomenon considered as an action directed toward causing harm or damage to another living being, who contradicts to such treatment [1]. AB is an important social problem causing significant costs for the society. In particular, according to the data of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation, in 2020 more than 2 million crimes were committed in the Russian Federation, of which 109.8 and 453.3 thousand cases corresponded to grave and gravest crimes (murder and intentional infliction of serious harm to health), respectively [2]. The mechanisms underlying the development of AB are complex, while genetic and epigenetic factors are playing a significant role (the coefficient of inheritance of aggression is about 0.65 [1, 3]), therefore they have been extensively studied in the contemporary research.

Together with the classical pathways of monoaminergic neurotransmission, the genes involved in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) system, including the genes encoding arginine vasopressin (*AVPR1A*, *AVPR1B*) and oxytocin (*OXTR*) receptors, are of interest in the study of genetic liability to developing antisocial and aggressive behavior. The role of neuropeptides oxytocin and arginine vasopressin in regulation of social behavior, social cognition, individual stress response, depression and callous-unemotional traits has been reported to date [4, 5]. In turn, impaired functioning of oxytocin and arginine-vasopressin 1b [5, 6]

and their receptors was demonstrated in animal models of exaggerated aggressive behavior, while a reduced oxytocin level was a predictor of aggression in humans [7]. The similarity in the amino acid sequence between oxytocin and arginine-vasopressin promotes differences in the affinity to their receptors [8], thus providing the resemblance in the processes that both neuropeptides modulate.

Despite its location in the intronic region of the *OXTR* gene, rs53576 remains one of the most examined SNPs in this gene to date. Functional studies related the presence of rs53576 G-allele to enhanced hippocampal neurogenesis in males [9], higher expression of the *OXTR* gene due to its reduced methylation [10] and, hence, to increased receptor sensitivity to oxytocin [11]. Multiple findings were reported on the effect of this SNP on developing psychiatric disorders [12] and pro-social behavior [11, 13] including socio-emotional information processing [14]. Considering a negative correlation between oxytocin level in cerebrospinal fluid (CSF) and individual history of suicide attempts and aggression [15], it was suggested that enhanced *OXTR* gene expression related to rs53576 G-allele could be a predictor of a lower risk for manifesting antisocial behavior due to a compensatory effect of low oxytocin level [11].

However, the development of antisocial behavior is a very complex process, which is also attributed to the fine regulation of gene expression through epigenetic changes affected by social and adverse environment in ontogenesis [3]. Therefore, one of the prominent

functional SNPs candidate in the *OXTR* gene is rs2228485 (c.171C>T, p.Asn57) due to its location in one of the CpG islands (according to Methyl Primer Express Software v.1.0, Applied Biosystems). In particular, this SNP may be involved in the regulation of *OXTR* gene expression via allele-specific differential methylation. According to our recent study [16], *OXTR* rs2228485 G-allele and GGG haplotype (rs53576, rs2228485, and rs237911) was statistically more frequent in mentally healthy students from the Republic of Bashkortostan with a decreased aggression score (measured with the Buss-Perry Aggression Questionnaire), and this effect was ethnicity-specific. Therefore, we hypothesize that the same direction of association (i.e. reduced frequency of rs53576 and rs2228485 G-alleles) has to be observed in individuals with violent criminal behavior.

Interesting findings have been recently demonstrated by Staes et al. (2020), who reported a species-specific existence of rs2228485 A-allele between two close great apes' species [17]. The A-allele became fixed in chimpanzees (*Pan paniscus*) but only ancestral G-allele is present in bonobos (*Pan troglodytes*). The authors suggested that this observation might be attributed to the differences in theory of mind and social causality between the *Pan* species. From the evolutionary perspective rs2228485 A-allele was fixed in chimpanzees due to selection of this allele, which probably facilitated stronger male-male bonding in this species [17]. Therefore, we suggest that *OXTR* rs2228485 A-allele may be attributed to male aggressive behavior in humans too.

Association studies indicated the effect of polymorphic variants rs53576 and rs2228485 in the *OXTR* [4, 12, 18-22] and *AVPR1B* [23] genes on antisocial and aggressive behavior and callous-unemotional traits. However, a recently published meta-analysis, which was based on 15 samples in 12 studies (N = 12,236) examining the association of 8 different *OXTR* SNPs on antisocial behavior, confirmed the effect of rs237887 and examined phenotype only, while the effect of the most studied rs53576 on aggression-related

traits failed to be confirmed [24]. However, the authors indicated the high levels of heterogeneity between the studies and were concerned on the quality control, thus providing a rationale to conduct the study with more severe antisocial behavior.

Recent neurobiological research indicated the existence of genotype-related differences in brain functional connectivity and hippocampal- [25] and amygdala-related [26] manifestation of social behavior. To be more precise, a male-specific effect of functional rs53576 in the *OXTR* gene was observed on the disruption of integrity in a large-scale intrinsic brain and altered functional connectivity in brain regions, which was profound in AA-homozygote compared with G-allele carriers [27]. In addition, adolescent girls, who reported higher childhood adversity level and bearing rs53576 AA-genotype, had a reduced left hippocampal volumes compared to those with minimal adversity [25]. In line, rs53576 GG-homozygous boys had larger left hippocampal volumes compared to A-allele carriers [9]. Moreover, the presence of callous-unemotional traits in childhood was shown to interact with the level of *OXTR* methylation, thus affecting brain systems involved in decoding and integrating socio-affective information and causing the development of conductive disorder [28]. These observations provide a rationale for the examination of *OXTR* genotype with respect to different aspects of social adversity.

The *AVPR1B* is known to mediate the secretion of the adrenocorticotrophic hormone, which represents an important component of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, thus explaining its relation to adaptive and prosocial behaviors, as well as aggression-related traits [8]. According to evolutionary research, specific sites in the *AVPR1B* gene were under positive selection related to domestication [29] – a process involving the accumulation of prosocial traits. In addition, functional research indicated the relation of a reduced level of aggression in *AVPR1b* knockout mice [6]. Recent findings indicated the association between an impaired social behavior and altered expression of *AVPR1B*

and *OXTR* genes in murine brain as a response to antibiotic treatment [30]. According to association studies, SNPs in the *AVPR1B* were implicated in individual differences in emotional empathy and prosociality [31], depressive [32] and aggressive traits in humans [16] and in rhesus macaques [33]. Considering these observations, the analysis of *AVPR1B* gene variants with respect to antisocial behavior is of high relevance.

Despite a recent trend toward the study of certain environmental conditions, mainly including stressful life events [34], specificity of childhood rearing [35, 36], childhood abuse [37], peers' delinquency [18] and socioeconomic status [20] separately, which can affect molecular-genetic mechanisms underlying empathy, prosocial and aggressive behavior, the data on the other potential confounders is scarce. Moreover, the number of studies examining gene-by-environment interactions in severe types of antisocial behavior (i.e. murders) is limited, thus pointing to the necessity to analyze the potential role of genetic predisposition in such group of criminal offenders.

The aim of the study. Considering multiple contradictory findings reporting the effect of different allelic variants in the *OXTR* gene on developing antisocial and conduct behavior, which is also mediated by specific environment, we aimed to clarify the accumulation of certain alleles of promising variants in the *OXTR* (rs53576 and rs2228485) and *AVPR1B* (rs33911258) genes in individuals with violent criminal behavior. Moreover, we sought to evaluate both the main effect of polymorphic variants and haplotypes of the *OXTR* and *AVPR1B* genes on manifesting exaggerated antisocial traits in the total sample of offenders and in the groups stratified by adverse/non-adverse environment. Third, we attempted to detect a modulating effect of environmental parameters on SNP-based genetic associations under gene-by-environment interaction models.

Materials and methods. The study sample comprised of 189 criminal offenders (7% women) of different ethnicity (89 Russians, 63 Tatars and 34 Bashkirs) (mean age

41.53 ± 14.41 years), who underwent a forensic psychiatric examination in a criminal case related to the commission of serious crimes (murders) in the Republican Clinical Psychiatric Hospital (Ufa, Russia). Criminal offenders were recognized by the Court as sane persons and were sent to serve their sentences in places of derention. A control group consisted of 254 mentally healthy individuals (12% women), who corresponded to the group of criminal offenders by age (mean age 37.10 ± 18.38 years), sex and ethnic background (117 Russians, 91 Tatars and 45 Bashkirs), were not registered in the psychiatric database before and had no family history of mental disorders. All the enrolled individuals signed an informed consent for the participation in the study after they were acquainted with experimental procedures. The present study was approved by the local bioethical committee at the Institute of Biochemistry and Genetics (Ufa, Russia).

DNA was extracted from the peripheral blood leukocytes according to the phenol-chloroform extraction approach. PCR with end-point KASP fluorescent detection (Max-Medical, Moscow, Russia) on CFX96 DNA-Analyzer (BioRad, USA) was used for the genotyping of the *OXTR* (rs2228485, rs53576) and *AVPR1B* (rs33911258) gene variants.

Statistical analysis included the correspondence of the observed allele and genotype frequencies to the expected Hardy-Weinberg equilibrium. The main effect of gene variants and haplotypes in the total sample, as well as in groups stratified by the environmental parameters on an individual risk for developing AB was carried out under additive, dominant, and recessive models of logistic regression (PLINK v.1.09). The estimation of the effect of gene-by-environment interaction on manifesting antisocial behavior was based on the inclusion of examined gene SNPs and environmental parameters (sex, ethnicity, family structure, childhood adversity, smoking, alcohol addiction, income level, birth order, education level, the presence of severe somatic disorders and familial history of psychopathologies) as predictors in multi-

ple regression models, while the presence/absence of AB served as an outcome. False discovery rate (FDR) procedure and 10000 permutation approach were used to control for multiple comparisons (PLINK v.1.09).

Results and discussion. The distribution of allele and genotype frequencies of the *OXTR* (*rs2228485*, *rs53576*), *AVPR1B* (*rs33911258*) gene SNPs corresponded to the Hardy-Weinberg equilibrium (Table 1).

Table 1

Genotype frequencies and the Hardy-Weinberg equilibrium in studied groups

Gene	SNP	Minor/major allele	Group	Genotype frequency			P _{HWE}
<i>AVPR1B</i>	<i>rs33911258</i>	G/A	In total	0.009	0.252	0.739	0.238
			AB	-	0.257	0.743	0.078
			Control	0.018	0.247	0.735	1
<i>OXTR</i>	<i>rs53576</i>	A/G	In total	0.199	0.490	0.311	0.912
			AB	0.192	0.485	0.323	0.875
			Control	0.206	0.494	0.300	1
	<i>rs2228485</i>	G/A	In total	0.042	0.335	0.623	1
			AB	0.036	0.287	0.676	0.792
			Control	0.047	0.382	0.571	0.678

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

According to the results obtained under a series of multiple logistic regression analyses, we observed a statistically significant effect of several environmental parameters with a risk for manifesting antisocial behavior, which included the presence of severe somatic diseases ($\beta = 1.086$, $P < 0.001$), low education level ($\beta = 2.160$, $P < 0.001$), smoking ($\beta = 1.105$, $P < 0.001$), birth order ($\beta = 0.640$, $P = 0.008$), sex (men, $\beta = 1.228$, $P = 0.001$), and age ($\beta = -2.149$, $P < 0.001$). At the same time, ethnic background, aggression type, family history of psychopathologies, alcohol addiction, income level, childhood adversity, and family structure demonstrated no significant impact on increased aggression (Table 2). Accordingly, we included age, sex and ethnicity as covariates in subsequent logistic regression models.

Since there were no statistically significant differences in allele and genotype frequencies distribution of the examined SNPs between individuals of different ethnic subgroups ($P > 0.05$), we conducted the association analysis in total sample controlling for age, sex and ethnicity in logistic regression models. As a result of statistical testing of

SNPs effect on manifesting AB under various models (additive, dominant, and recessive), we detected a reduced frequency of *OXTR* *rs2228485* G-allele and GG-genotype ($P = 0.045$; OR = 0.63) as well as *AVPR1B* *rs33911258* G-allele ($P = 0.004$; OR = 0.95) in a group of criminal offenders compared to the population control group in the total sample. This effect was also exaggerated in the subsample of criminal offenders stratified by environmental parameters: in those with severe somatic disorders ($P = 0.035$; OR = 0.56), alcohol addiction ($P = 0.034$; OR = 0.61), familial history of psychopathologies ($P = 0.025$; OR = 0.52), and high income level ($P = 0.023$; OR = 0.32) (Table 2). It should be mentioned, that a trend of a lower frequency of *OXTR* *rs2228485* GG-genotype was also evident in a group of individuals with anti-social behavior, who were characterized by high education level ($P = 0.076$; OR = 0.57), absence of lifetime smoking ($P = 0.072$; OR = 0.53) and childhood adversity ($P = 0.081$; OR = 0.664), reared in a complete family ($P = 0.080$; OR = 0.656), and being third children in a family ($P = 0.074$; OR = 0.56) compared to population control (Table 2).

Table 2

Characteristics of the studied sample and logistic regression in various groups

Environmental parameter	β (P-value)	Group	AVPR1B	OXTR	
			rs33911258	rs53576	rs2228485
			G/A**	A/G**	G/A**
Sex	1,228 (0.001)	Men (N = 176)	0.666 (1.124)	0.290 (0.761)	0.15 (0.703)
		Women (N = 13)	-	-	-
Ethnicity	-0.008 (0.957)	Russians (N = 89)	0.706 (1.148)	0.760 (1.075)	0.170 (0.667)
		Tatars (N = 63)	0.591 (0.791)	0.132 (0.534)	0.415 (0.725)
		Bashkirs (N = 34)	0.476 (0.690)	0.527 (1.255)	0.195 (0.550)
Aggression type	23.854 (0.994)	Proactive (N = 175)	0.693 (0.909)	0.673 (0.935)	0.121 (0.736)
		Reactive (N = 14)	-	-	-
Somatic diseases	1.086 (<0.001)	Yes (N = 117)	0.932 (0.976)	1 (1)	0.035* (0.569)
		No (N = 72)	0.324 (0.716)	0.194 (0.753)	0.566 (0.861)
Education level	-2.160 (<0.001)	High (N = 76)	0.900 (1.042)	0.379 (1.339)	0.076* (0.577)
		Low (N = 113)	0.615 (0.871)	0.528 (0.894)	0.162 (0.729)
Smoking	1.105 (<0.001)	Yes (N = 133)	0.909 (0.971)	0.292 (0.830)	0.123 (0.714)
		No (N = 56)	0.570 (0.804)	0.722 (0.883)	0.072* (0.531)
Alcohol addiction	22.387 (0.995)	Yes (N = 130)	0.418 (0.806)	0.817 (0.961)	0.034 (0.615)
		No (N = 59)	0.740 (1.113)	0.588 (0.883)	0.332 (0.763)
Familial psycho-pathology	1.384 (<0.001)	Yes (N = 68)	0.826 (0.932)	0.919 (1.022)	0.025 (0.512)
		No (N = 121)	0.603 (0.870)	0.456 (0.877)	0.301 (0.800)
Income level	0.063 (0.940)	Low (N = 26)	0.838 (1.096)	0.370 (1.335)	0.183 (0.555)
		Average (N = 133)	0.789 (0.933)	0.422 (0.874)	0.314 (0.811)
		High (N = 30)	0.105 (0.366)	0.884 (0.957)	0.023 (0.324)
Childhood adversity	-0.448 (0.694)	Yes (N = 26)	0.312 (0.572)	0.610 (0.850)	0.098 (0.461)
		No (N = 163)	0.902 (1.032)	0.710 (0.913)	0.081* (0.664)
Birth order	0.640 (0.008)	1 (N = 77)	0.138 (0.598)	0.567 (0.886)	0.178 (0.699)
		2 (N = 58)	0.216 (1.473)	0.684 (0.911)	0.421 (0.796)
		>3 (N = 54)	0.786 (0.908)	0.673 (1.102)	0.074* (0.560)
Family structure	-0.022 (0.984)	Complete family (N = 150)	0.793 (1.071)	0.476 (0.838)	0.080* (0.656)
		Incomplete family (N = 39)	0.238 (0.581)	0.856 (0.952)	0.093 (0.531)

Note: P-values (ORs) for additive logistic regression model are reported except for *, which stands for dominant regression model. Statistically significant logistic regression models ($P < 0.05$) are shown in bold. Dashes stand for low sample size groups, which could cause type I and II errors. **Minor/major alleles of examined SNPs are indicated.

Linkage disequilibrium testing revealed a high LD between *OXTR* rs2228485 and rs53576 in the total sample, as well as in groups differing in sex and ethnicity ($D' > 0.845$). We observed the following haplotype frequencies in criminal offenders group and in population controls: GA (0.014 and 0.014), AA (0.420 and 0.439), GG (0.166 and 0.224), and AG (0.400 and 0.323), respectively. A statistically significant increase in the frequency of *OXTR* AG haplotype (based on rs2228485 and rs53576) was observed in a group of criminal offenders compared to control group ($P = 0.047$; $P_{\text{perm}} = 0.049$; $\beta = 3.94$; $OR = 1.38$) (Fig.). The following analysis of

haplotype-by-environment interactions indicated that the inclusion of such environmental parameters as sex ($P = 0.040$; $P_{\text{perm}} = 0.037$; $\beta = 4.22$; $OR = 1.40$), ethnicity ($P = 0.030$; $P_{\text{perm}} = 0.026$; $\beta = 4.71$; $OR = 1.43$) and familial history of psychopathologies ($P = 0.049$; $P_{\text{perm}} = 0.046$; $\beta = 3.88$; $OR = 1.41$) demonstrated a slightly higher level of predicting enhanced aggression in *OXTR* AG haplotype carriers. Moreover, higher education level demonstrated a significant positive effect on association of *OXTR* GG haplotype and a reduced risk of demonstrating antisocial behavior ($P = 0.019$; $P_{\text{perm}} = 0.027$; $\beta = 5.46$; $OR = 0.57$).

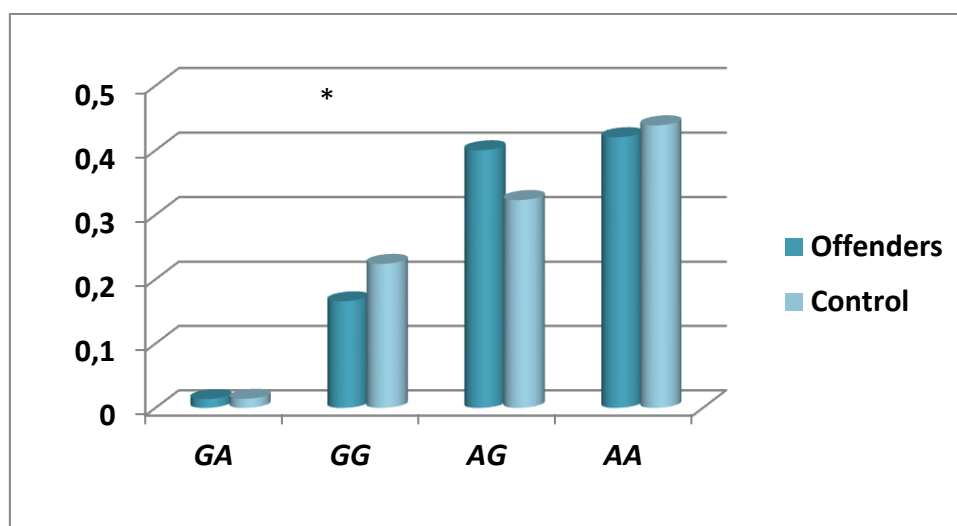


Fig. The distribution of *OXTR* haplotype frequencies (based on rs2228485 and rs53576) in the total sample. The effect of *OXTR* AG haplotype is shown with an asterisk ($P < 0.05$).

In summary, in the present study we observed that allelic variant in the *OXTR* rs2228485 was a predictor of antisocial behavior in the total sample and in the subgroups stratified by the presence of severe somatic disorders, alcohol addiction, familial history of psychopathologies and income level. Previously Lucht et al. (2009) demonstrated the effect of this SNP on individual variance in emotional loneliness, hostility, distress, irritability, nervousness, which was associated with *OXTR* GGG haplotype (rs53576/rs2254298/rs2228485) compared to carriers of GGA haplotype [4]. At the same time, a significant increase in positive symptoms such as interest, activity, and excitement

(assessed via the Positive and Negative Affect Schedule) was relevant for carriers of *OXTR* AGA (rs53576/rs2254298/rs2228485) haplotype compared to those bearing GAG, GAA, GGG, and GGA haplotypes [4]. Based on the mentioned haplotype frequency distribution it can be suggested that rs2228485 has a higher impact on developing negative symptoms (such as aggression and irritability), while rs53576 variant is more significant for the positive social behavior. From the evolutionary point of view, rs2228485 A-allele has been fixed in one great ape species (*Pan paniscus*, chimpanzee), while it was eliminated in another one (*Pan troglodytes*, bonobo) [17]. Such A-allele accumulation was sug-

gested to be attributed to male-male relations in chimpanzee compared to male-female bonds that are characteristic for bonobos. Therefore, our findings also indicate the accumulation of aggressive traits in humans related to the presence of rs2228485 A-allele.

The rs2228485 represents a synonymous substitution in the exon 3 of the *OXTR* gene, which is probably involved in splicing and regulates for mRNA stability [16] probably due to its location in one of CpG islands. Although no functional studies, which can clarify the allelic effect of rs2228485 on *OXTR* gene methylation, have been published to date, the development of antisocial behavior, which manifest under unfavorable adversity, may be partially caused by the differences in the *OXTR* gene methylation [3, 10, 38]. The impact of another examined SNP (rs53576) on epigenetic regulation of *OXTR* expression was reported. To be more precise, reduced *OXTR* methylation was related to the *OXTR* rs53576 GG-genotype [10]. Another epigenetic research also indicated that *OXTR* rs53576 GG-genotype might modulate the positive effect of exogenous oxytocin on mentalizing, attention and reward processing during social interactions [38]. In addition, maternal addiction, criminal behavior and psychopathology during pregnancy may be attributed to the offspring's *OXTR* hypermethylation and an enhanced risk for developing callous-unemotional traits later in life [39]. Considering that rs2228485 and rs53576 were shown to be in a high linkage disequilibrium, and rs53576 G-allele correlates with less methylation of the *OXTR* gene [21], based on the observation of AA/GG haplotypic phase we can assume the possible correlation of rs2228485 G-allele with higher *OXTR* gene expression. According to the reported findings, this allele (under haplotype-based tests) was associated with a decreased risk of manifesting aggression, which is congruent to the relation of lower oxytocin level in CSF and enhanced antisocial behavior [7].

Since we reported an opposite effect of *OXTR*-based (rs2228485, rs53576) AG and GG haplotypes on an increased and decreased risk for developing aggressive behavior, re-

spectively, which is additionally affected by differences in education level, it can be supposed that rs2228485 has a higher impact to predict antisocial behavior compared to the rs53576. In turn, we showed that rs53576 G-allele (under haplotype-based effect) was associated with a lower risk for developing violent criminal behavior under the conditions of favorable environment (i.e. higher level of education). Multiple findings indicate the association of rs53576 A-allele with higher antisocial traits, and G-allele with enhanced prosocial behavior. Namely, a significant association of rs53576 AA-genotype and physical aggression and hostility was obtained in boys compared to other genotype carriers as a response to stressful life events [19]. In agreement with the above mentioned data other scientists demonstrated the relation of rs53576 GG-genotype to higher social support and empathy, which was specific to socioeconomic status [20]. It seems that the development of antisocial behavior and enhanced aggression may be relevant to the formation of callous unemotional traits in childhood caused by unfavorable environments. For instance, the frequency of rs53576 A-allele was higher in children with enhanced score on callous-unemotional traits and stressful lifetime conditions than of GG-genotype [34]. Therefore, in our study we reported the association of rs53576 G-allele and a reduced risk of manifesting antisocial behavior in those with high level of education, representing a favorable environmental condition, which at some extent is congruent with published gene-by-environment interactions. Moreover, such unfavorable conditions as maternal high verbal aggression early in childhood may have a detrimental effect on individual's internalizing problems later in life [35]. Interestingly, in the focus of child-parent relationship qualities in the Finnish cohort consisting of two parent generations there was a pronounced positive effect of maternal emotional warmth (G1 generation) on the transmission of the same pattern of rearing of their children (G2 generation) on their offspring (G3 generation) only under the condition of *OXTR* rs53576 AA/AG-genotypes [40]. Therefore, a reduced oxyto-

cin-related functioning may benefit from the positive parental rearing. And vice versa, more supportive social behavior in midlife was observed in rs53576 GG-carriers compared to A-allele carriers under the history of unfavorable conditions (experience of higher level of emotional abuse in childhood) [37].

Although in the present study we succeed to observe a male-specific effect of *OXTR* rs53576 G-allele on a lower risk of developing outward-directed aggression under favorable environment (since the main proportion of our examined sample included men), it seems that this observation can be extrapolated to women, as was shown by other research groups [41]. In the longitudinal sample of females, the presence of at least one copy of the rs53576 A-allele and greater emotional dysregulation predicted a higher risk of developing antisocial personality disorder [41].

According to the results of haplotype-based association with AB revealed in the present study, there was a significant effect of controlling for ethnicity in logistic regression model. This observation seems to be congruent with the results of a recent meta-analysis (N = 8933, 18-98 years), which revealed ethnicity-specific differential effects of rs53576 G-allele on higher cognitive empathy in Asian cohorts and affective empathy in European cohorts [42]. Interestingly, the association of GG-homozygotes on improved empathy was evident only in young to middle-aged adults, thus indicating the necessity to control for both ethnocultural effects and advanced age, while analyzing *OXTR*-related phenotypes. Nevertheless, another research group demonstrated a homogenous pattern of association of the *OXTR* rs53576 GG variant and higher altruism even in traditional societies of East Africa [43].

Although in the present study we didn't observe the association of the examined SNPs and aggression depending on the type of AB (proactive vs. reactive aggression), there is some evidence of interaction between *OXTR* variants and delinquency in peers on proactive aggression in adolescents [18]. In turn, the presence of empathy (which oppositely

correlates with antisocial behavior) in rs53576 GG-carriers was associated with a higher risk for manifesting a reactive type of aggressive behavior under the conditions of distress compared to individuals with rs53576 A-allele [44]. Unfortunately, we were unable to control for deviant peer affiliation due to the lack of such data in our group of offenders.

In the present study we also indicated the effect of *AVPR1B* rs33911258 G-allele on a decreased risk for manifesting antisocial behavior, while AA-genotype was associated with an increased risk. According to our previous findings [45], rs33911258 A-allele (due to haplotype-based effect) was more frequent in mentally healthy young adults, who reported lower self-transcendence. Since lower self-transcendence correlates with worse empathy [46], it seems that the results from our both studies are in one direction, thus providing evidence for a positive selection of rs33911258 G-allele to facilitate transmission of empathy-related traits. Other scientific groups also point to the involvement of *AVPR1B* gene variants in developing aggression even in childhood [23]. Moreover, our findings seem to be in line with evolutionary data obtained in *Platyrrhini* [47], which indicated that 4% of *AVPR1B* sites may be under positive selection for accumulation of certain prosocial traits. In addition, the same research group reported that a positive selection related to domestication was attributed to the fixation of specific sites in the *AVPR1B* gene [29]. Despite scientific interest toward the *AVPR1B* gene variants and prosocial behavior, we have demonstrated the effect of rs33911258, which is located in the promoter region of the *AVPR1B* gene and, hence, is probably responsible for differential gene expression, on severe type of antisocial behavior for the first time.

Conclusion. In conclusion, reported findings indicate the involvement of several gene variants of HPA-axis together with environmental parameters in probable modulation of *OXTR* and *AVPR1B* gene methylation, thus causing a weakened self-control and violent antisocial behavior. From the other side, the existence of certain gene variants, which were

reported to be related to aggressive behavior in previous research, may demonstrate the opposite effect under adverse environments, which evidence in the significant modulating role of environmental factors in genetic associations with antisocial traits.

Together with the impact of genotype-by-environment interaction, we succeeded to determine a significant modulating effect of certain environmental parameters (i.e. familial history of psychopathologies and education level) on haplotype-based association with manifesting aggression. The data obtained clarified the possible shift in the *OXTR* allele effect on antisocial behavior under favorable and adverse environments.

It should be noted that the present study continues our previous research, which suggests a significant role of child-parent relationships in modulating the association of *OXTR* gene variants and affective-related traits in non-criminal young adults [16, 32]. In turn, identification of certain gene-by-environment interactions attributing to AB liability may facilitate the future research of exogenous treatment with neuropeptides to eliminate the aggression. Such studies have already reported the successful oxytocin administration aimed to control for antisocial traits depending on the genetic background of individual *OXTR* genotypes [48].

Financial support

The study was supported by the State Contract of the Ministry of Science and Education of RF (№АААА-А21-121011990119-1). 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.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Davydova JD, Litvinov SS, Enikeeva RF, et al. Recent advances in genetics of aggressive behavior. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2018;22(6):716-725. DOI: <https://doi.org/10.18699/VJ18.415>
2. Portal of legal statistics of the Prosecutor General's Office of the Russian Federation: crime rates in Russia [Internet]. Russia: the Prosecutor General's Office of the Russian Federation; 2021 [cited 2021 Apr 29]. Available from: <http://www.crimestat.ru>
3. Mustafin RN, Khusnutdinova EK, Kazantseva AV, et al. Epigenetics of aggressive behavior. *Russian Journal of Genetics*. 2019;55(9):1051-1060. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1022795419090096>
4. Lucht MJ, Barnow S, Sonnenfeld C, et al. Associations between the oxytocin receptor gene (*OXTR*) and affect, loneliness and intelligence in normal subjects. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2009;33(5):860-866. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.04.004>
5. Tan O, Musullulu H, Raymond JS, et al. Oxytocin and vasopressin inhibit hyper-aggressive behaviour in socially isolated mice. *Neuropharmacology*. 2019;156:107573. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.03.016>
6. Witchey SK, Stevenson EL, Caldwell HK. Genotypic differences in intruder-evoked immediate early gene activation in male, but not female, vasopressin 1b receptor knockout mice. *BMC Neuroscience*. 2016;17(1):75. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12868-016-0310-7>
7. Lee R, Ferris C, Van de Kar LD, et al. Cerebrospinal fluid oxytocin, life history of aggression, and personality disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(10):1567-1573. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.06.002>
8. Caldwell HK, Aulino EA, Rodriguez KM, et al. Social Context, Stress, Neuropsychiatric Disorders, and the Vasopressin 1b Receptor. *Frontiers in Neuroscience*. 2017;11:567. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00567>
9. Acosta H, Tuulari JJ, Kantojärvi K, et al. A variation in the infant oxytocin receptor gene modulates infant hippocampal volumes in association with sex and prenatal maternal anxiety. *Psychiatry Research - Neuroimaging*. 2021;307:111207. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2020.111207>
10. Womersley JS, Hemmings SMJ, Ziegler C, et al. Childhood emotional neglect and oxytocin receptor variants: Association with limbic brain volumes. *World Journal of Biological Psychology*. 2021;22(6):716-725. DOI: <https://doi.org/10.18699/VJ18.415>

chiatry. 2020;21(7):513-528. DOI: <https://doi.org/10.1080/15622975.2019.1584331>

11. Parris MS, Grunebaum MF, Galfalvy HC, et al. Attempted suicide and oxytocin-related gene polymorphisms. *Journal of Affective Disorders*. 2018;238:62-68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.05.022>

12. Zhang M, Liu N, Chen H, et al. Oxytocin receptor gene, childhood maltreatment and borderline personality disorder features among male inmates in China. *BMC Psychiatry*. 2020;20(1):332. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-020-02710-0>

13. Oksman E, Rosenström T, Hintsanen M, et al. A Longitudinal Multilevel Study of the "Social" Genotype and Diversity of the Phenotype. *Frontiers in Psychology*. 2018;9:2034. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.02034>

14. Meixner F, Montag C, Herbert C. Affective Language, Interpretation Bias and Its Molecular Genetic Variations: Exploring the Relationship Between Genetic Variations of the OXTR Gene (rs53576 and rs2268498) and the Emotional Evaluation of Words Related to the Self or the Other. *Frontiers in Psychology*. 2019;10:68. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00068>

15. Jokinen J, Chatzittofis A, Hellström C, et al. Low CSF oxytocin reflects high intent in suicide attempters. *Psychoneuroendocrinology*. 2012;37(4):482-490. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.07.016>

16. Davydova YD, Kazantseva AV, Enikeeva RF, et al. The role of oxytocin receptor (OXTR) gene polymorphisms in the development of aggressive behavior in healthy individuals. *Russian Journal of Genetics*. 2020;56(9):1129-1138. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1022795420090057>

17. Staes N, Guevara EE, Helsen P, et al. The Pan social brain: An evolutionary history of neurochemical receptor genes and their potential impact on sociocognitive differences. *Journal of Human Evolution*. 2021;152:102949. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2021.102949>

18. Fragkaki I, Cima M, Verhagen M, et al. Oxytocin receptor gene (OXTR) and deviant peer affiliation: A gene-environment interaction in adolescent antisocial behavior. *Journal of Youth and Adolescence*. 2019;48(1):86-101. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10964-018-0939-x>

19. Shao D, Zhang HH, Long ZT, et al. Effect of the interaction between oxytocin receptor gene polymorphism (rs53576) and stressful life events on aggression in Chinese Han adolescents.

Psychoneuroendocrinology. 2018; 96:35-41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.06.002>

20. Sun R, Vuillier L, Hui BPH, et al. Caring helps: Trait empathy is related to better coping strategies and differs in the poor versus the rich. *PLoS ONE*. 2019;14(3):e0213142. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213142>

21. Chagnon YC, Potvin O, Hudon C, et al. DNA methylation and single nucleotide variants in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and oxytocin receptor (OXTR) genes are associated with anxiety/depression in older women. *Frontiers in Genetics*. 2015;6:230. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00230>

22. Tost H, Kolachana B, Hakimi S, et al. A common allele in the oxytocin receptor gene (OXTR) impacts prosocial temperament and human hypothalamic-limbic structure and function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(31):13936-13941. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1003296107>

23. Zai CC, Muir KE, Nowrouzi B, et al. Possible genetic association between vasopressin receptor 1B and child aggression. *Psychiatry Research*. 2012;200(2-3):784-788. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.07.031>

24. Poore HE, Waldman ID. The Association of Oxytocin Receptor Gene (OXTR) Polymorphisms with Antisocial Behavior: A Meta-analysis. *Behavior Genetics*. 2020;50(3):161-173. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10519-020-09996-6>

25. Malhi GS, Das P, Outhred T, et al. Interactions of OXTR rs53576 and emotional trauma on hippocampal volumes and perceived social support in adolescent girls. *Psychoneuroendocrinology*. 2020;115:104635. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2020.104635>

26. Waller R, Corral-Frías NS, Vannucci B, et al. An oxytocin receptor polymorphism predicts amygdala reactivity and antisocial behavior in men. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*. 2016;11(8):1218-26. DOI: <https://doi.org/10.1093/scan/nsw042>

27. Wang J, Zhang Y, Zhu D, et al. A common variant in OXTR rs53576 impacts topological patterns of brain functional networks. *European Child and Adolescent Psychiatry*. 2020;29(7):993-1002. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00787-019-01414-5>

28. Aghajani M, Klapwijk ET, Colins OF, et al. Interactions Between Oxytocin Receptor Gene Methylation and Callous-Unemotional Traits Impact Socioaffective Brain Systems in

- Conduct-Disordered Offenders. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*. 2018;3(4):379-391. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2017.12.010>
29. Fam BSO, Paré P, Felkl AB, et al. Oxytocin and arginine vasopressin systems in the domestication process. *Genetics and Molecular Biology*. 2018;41(1 suppl 1):235-242. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2017-0069>
30. Champagne-Jorgensen K, Mian MF, Kay S, et al. Prenatal low-dose penicillin results in long-term sex-specific changes to murine behaviour, immune regulation, and gut microbiota. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2020;84:154-163. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.11.020>
31. Wu N, Shang S, Su Y. The arginine vasopressin V1b receptor gene and prosociality: Mediation role of emotional empathy. *PsyCh Journal*. 2015;4(3):160-5. DOI: <https://doi.org/10.1002/pchj.102>
32. Kazantseva A, Davydova Yu, Enikeeva R, et al. AVPR1A main effect and OXTR-by-environment interplay in individual differences in depression level. *Heliyon*. 2020;6(10):e05240. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05240>
33. Madlon-Kay S, Montague MJ, Brent LJN, et al. Weak effects of common genetic variation in oxytocin and vasopressin receptor genes on rhesus macaque social behavior. *American Journal of Primatology*. 2018;80(10):e22873. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajp.22873>
34. Ezpeleta L, Penelo E, de la Osa N, et al. Association of OXTR rs53576 with the Developmental Trajectories of Callous-Unemotional Traits and Stressful Life Events in 3- to 9-Year-Old Community Children. *Journal of Abnormal Child Psychology*. 2019;47(10):1651-1662. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10802-019-00548-z>
35. Smarius LJCA, Strieder TGA, Doreleijers TAH, et al. Maternal verbal aggression in early infancy and child's internalizing symptoms: interaction by common oxytocin polymorphisms. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. 2020;270(5):541-551. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00406-019-01013-0>
36. Liu J, Shang S, Pei M, et al. Influence of Two Single-Nucleotide Polymorphisms of the Oxytocin Receptor Gene (OXTR) on Empathy: the Mediation Role of a Primary Emotion, CARE. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2021;71(2):252-261. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12031-020-01644-2>
37. Ebbert AM, Infurna FJ, Luthar SS, et al. Examining the link between emotional childhood abuse and social relationships in midlife: The moderating role of the oxytocin receptor gene. *Child Abuse and Neglect*. 2019;98:104151. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chiabu.2019.104151>
38. Chen X, Nishitani S, Haroon E, et al. OXTR methylation modulates exogenous oxytocin effects on human brain activity during social interaction. *Genes, Brain and Behavior*. 2020;19(1):e12555. DOI: <https://doi.org/10.1111/gbb.12555>
39. Cecil CA, Lysenko LJ, Jaffee SR, et al. Environmental risk, Oxytocin Receptor Gene (OXTR) methylation and youth callous-unemotional traits: a 13-year longitudinal study. *Molecular Psychiatry*. 2014;19(10):1071-1077. DOI: <https://doi.org/10.1038/mp.2014.95>
40. Savelieva K, Hintsanen M, Dobewall H, et al. The role of oxytocinergic genes in the intergenerational transmission of parent-child relationship qualities. *Hormones and Behavior*. 2019;114:104540. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2019.06.004>
41. Byrd AL, Tung I, Manuck SD, et al. An interaction between early threat exposure and the oxytocin receptor in females: Disorder-specific versus general risk for psychopathology and social-emotional mediators. *Development and Psychopathology*. 2020;1-16. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954579420000462>
42. Chander RJ, Mather KA, Cleary R, et al. The influence of rs53576 polymorphism in the oxytocin receptor (OXTR) gene on empathy in healthy adults by subtype and ethnicity: a systematic review and meta-analysis. *Reviews in the Neurosciences*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1515/revneuro-2021-0038>
43. Butovskaya ML, Karelin DV, Dronova DA, et al. Strategies for Sharing Limited Resources among Children and Adolescents in Three Traditional Societies of East Africa: Sociocultural and Genetic Factors. *Doklady Biological Sciences*. 2020;494(1):219-224. DOI: <https://doi.org/10.1134/S001249662004002X>
44. Buffone AE, Poulin MJ. Empathy, target distress, and neurohormone genes interact to predict aggression for others-even without provocation. *Personality and Social Psychology Bulletin*. 2014;40(11):1406-1422. DOI: <https://doi.org/10.1177/0146167214549320>
45. Kazantseva AV, Kutlumbetova YY, Malykh SB, et al. Arginine-vasopressin receptor

gene (AVPR1A, AVPR1B) polymorphisms and their relation to personality traits. *Russian Journal of Genetics*. 2014;50(3):298-307. DOI: <https://doi.org/10.7868/S0016675814030047>

46. Kazantseva AV, Malykh SB, Khusnutdinova EK. Molecular-genetic studies of personality traits: from candidate genes to genome-wide association studies. In: Malykh SB, Kovas YV, Gaysina DA, editors. *Behavior genetics: children development and education*. Tomsk: Tomsk State University; 2016:178-209.

47. Fam BSO, Reales G, Vargas-Pinilla P, et al. AVPR1b variation and the emergence of adaptive phenotypes in Platyrrhini primates. *American Journal of Primatology*. 2019;81(8):e23028. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajp.23028>

48. Zhao W, Luo R, Sindermann C, et al. Oxytocin modulation of self-referential processing is partly replicable and sensitive to oxytocin receptor genotype. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2020;96:109734. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.109734>

Received 29 April 2021

Revised 8 June 2021

Accepted 16 June 2021

Information about the authors

Anastasiya V. Kazantseva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; Associate Professor at the Department of Molecular Technologies, Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russia, E-mail: Kazantseva@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3744-8058>.

Julia D. Davydova, Research Associate, Post-graduate Student in scientific specialty 03.02.07 – Genetics, Institute of Biochemistry and Genetics, Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, E-mail: Julia.dmitrievna@list.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3508-4710>.

Renata F. Enikeeva, Cand. Sci. (Biology), Post-Doctoral Fellow, Institute of Biochemistry and Genetics, Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, E-mail: enikeevarf@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4301-5283>.

Rinat G. Valinurov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: valinurov_rkpb@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7284-0530>.

Anna E. Gareeva, Cand. Sci. (Medicine), Doct. Sci. (Biology), Senior Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, E-mail: an-nagareeva@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0254-3917>.

Natalya N. Khusnutdinova, Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, E-mail: KhusnutdinovaNN@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9047-9224>.

Elza K. Khusnutdinova, Doct. Sci. (Biology), Professor, Corresponding Member of RAE, Director of the Institute of Biochemistry and Genetics, Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, E-mail: Elzakh@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-4

УДК 575.174.015.3:616.379-008.64-092

Связь полиморфизма rs12449964 гена фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазы с развитием гипертриглицеридемии и ожирения у больных сахарным диабетом 2-го типа

Ю.Э. Азарова 

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

Резюме

Актуальность: Фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансфераза (PEMT) – это фермент липидного обмена, катализирующий серию трех последовательных реакций метилирования фосфатидилэтаноламина в фосфатидилхолин. Снижение активности данного процесса приводит к перераспределению субстратов-предшественников фосфолипидов и триглицеридов в пользу синтеза последних и увеличению риска развития ожирения, важнейшего фактора риска сахарного диабета 2 типа (СД2). **Цель исследования:** Изучить связь полиморфного варианта rs12449964 (C>T) в регуляторном участке гена *PEMT* с уровнем триглицеридов плазмы крови, а также риском развития ожирения и СД2 у жителей Центральной России. **Материалы и методы:** В исследование были включены 2060 неродственных индивидов славянского происхождения, из них 1024 пациентов с СД2 и 1036 условно здоровых добровольцев. Генотипирование полиморфизма rs12449964 гена *PEMT* было выполнено методом времяпролетной масс-спектрометрии на генетическом анализаторе MassArray Analyzer 4 (Agena Bioscience). Для статистического анализа полученных данных использовали программу SNPStats. **Результаты:** Линейный регрессионный анализ не выявил ассоциации rs12449964 гена *PEMT* с риском развития СД2 вне зависимости от индекса массы тела ($P>0,05$). Однако, генотип Т/Т изучаемого SNP связан с повышенным риском развития ожирения у пациентов с СД2 (OR 1,66; 95%CI 1,11-2,46; $P=0,011$ независимо от пола и возраста. Кроме того, носительство генотипа Т/Т было сопряжено с более высоким уровнем триацилглицеролов в плазме крови больных СД2, как при наличии ожирения, так и без него ($P<0,05$). По данным GTEx Portal, аллель rs12449964-Т ассоциирован со снижением экспрессии *PEMT* в различных тканях. **Заключение:** Впервые установлена ассоциация rs12449964 гена *PEMT* с гипертриглицеридемией и повышенным риском развития ожирения у больных СД2, что может быть обусловлено низ-

кой транскрипционной активностью гена фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазы у носителей альтернативного аллеля изучаемого SNP.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа; однонуклеотидный полиморфизм; *PEMT*; триглицериды; генетическая предрасположенность

Благодарности: Автор выражает благодарность своему учителю, научному руководителю профессору Алексею Валерьевичу Полоникову за критическое прочтение рукописи, а также младшему научному сотруднику НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии Елене Юрьевне Клёсовой за помощь в проведении лабораторной части работы.

Для цитирования: Азарова ЮЭ. Связь полиморфизма rs12449964 гена фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазы с развитием гипертриглицеридемии и ожирения у больных сахарным диабетом 2-го типа. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(3):245-256. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-4

The relationship between polymorphism rs12449964 of the phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase gene and hypertriglyceridemia and obesity in patients with type 2 diabetes

Iuliia E. Azarova 

Kursk State Medical University,
3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia
Corresponding author: Iuliia E. Azarova (azzzzar@yandex.ru)

Abstract

Background: Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (*PEMT*) is the enzyme of lipid metabolism that catalyzes the conversion of phosphatidylethanolamine to phosphatidylcholine in a series of three methylation reactions. Low activity of the enzyme can increase the availability of phosphatidic acid for triacylglycerol synthesis and thus favor obesity, one of the most important risk factors for type 2 diabetes (T2D). **The aim of the study:** To study the relationship of the rs12449964 (C>T) in the regulatory region of the *PEMT* (phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase) gene with blood plasma triglycerides, as well as the risk of obesity and T2D in population of Central Russia. **Materials and methods:** The study included 2060 unrelated individuals of Slavic origin, including 1024 patients with T2D and 1036 healthy volunteers. Genotyping of *PEMT* gene polymorphism (C>T, rs12449964) was performed by laser desorption / ionization time-of-flight mass spectrometry using the MassArray Analyzer 4 platform (Agena Bioscience). SNPStats online program was used for statistical analysis of the obtained data. **Results:** Linear regression analysis did not reveal an association of rs12449964 of the *PEMT* gene with a risk of devel-

oping T2D regardless of body mass index ($P > 0.05$). However, the T/T genotype of the studied SNP is associated with an increased risk of obesity in patients with type 2 diabetes (OR 1.66; 95% CI 1.11-2.46; $P = 0.011$, adjusted for sex and age, recessive model). In addition, carriage of the T/T genotype was associated with a higher level of triacylglycerols in the blood plasma of patients with T2D, both in the presence of obesity and without it ($P < 0.05$). According to GTEx Portal, the rs12449964T allele is associated with decreased *PEMT* expression in various tissues. **Conclusion:** The study revealed for the first time the association of rs12449964 of the *PEMT* gene with hypertriglyceridemia and an increased risk of obesity in patients with T2D, which may be due to the low transcriptional activity of the phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase gene in carriers of the alternative allele of the studied SNP.

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

Acknowledgments: The author expresses her gratitude to her teacher, scientific advisor Alexei Valerievich Polonikov, for critical reading of the manuscript, as well as to Elena Yurievna Klyosova, a junior researcher at the Research Institute of Genetic and Molecular Epidemiology, for her help in the laboratory part of the work.

For citation: Azarova IE. The relationship between polymorphism rs12449964 of the phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase gene and hypertriglyceridemia and obesity in patients with type 2 diabetes. Research Results in Biomedicine. 2021;7(3):245-256. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-4

Введение. Сахарный диабет 2 типа (СД2) – это серьезное хроническое заболевание, характеризующееся гипергликемией и вызванное преимущественной инсулинорезистентностью и относительной инсулиновой недостаточностью или преимущественным дефектом секреции инсулина с инсулинорезистентностью или без нее [1]. По оценке Международной диабетической Федерации (IDF), число больных диабетом в мире за последние 20 лет выросло в 3 раза и на конец 2019 года составляет 463 млн человек [2]. Схожими темпами растет и заболеваемость ожирением, важнейшим фактором риска развития СД2. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, ожирением страдают более 500 млн человек, и еще 1,6 млрд лиц старше 15 лет имеют избыточную массу тела [3]. В Российской Федерации распространенность избыточной массы тела и ожирения составляет 46,5% среди мужчин и 51,7% среди женщин [4], тогда как общее число больных диабетом превышает 8 млн человек и продолжает неуклонно расти [2].

Связь между эпидемиологией ожирения и СД2 с 70-х гг XX века описывают термином «diabesity», подчеркивая таким образом, важное предикторное значение ожирения в развитии СД2. И ожирение, и СД2 являются многофакторными заболеваниями, генетическая основа которых интенсивно изучается. Кандидатные и полногеномные ассоциативные исследования установили сотни общих для этих двух нозологий однонуклеотидных вариантов в генах, ответственных за дисфункцию бета-клеток поджелудочной железы (*TCF7L2*, *KCNJ11*, *GCKR*, *SLC30A8*, *IGF2BP2*, *HNF1A*, *HNF1B*, *HNF4A*, *PDX1*) и инсулинорезистентность (*FTO*, *PPARA*, *PPARG*, *IRS1*, *IRS2*, *PTEN*, *UCP2*), однако, место абсолютного большинства обнаруженных локусов в патогенезе СД2 неизвестно [5]. Одним из таких вариантов является SNP rs12449964 в регуляторном участке гена фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазы (*PEMT*), ассоциированный с повышенным риском развития СД2 [6], ишемической болезни сердца и инсульта [7]. Фермент катализирует трех-

кратное метилирование атома азота аминокислотной группы фосфатидилэтаноламина (кефалина) в фосфатидилхолин (лецитин). Этот путь синтеза фосфолипидов связан с синтезом триацилглицеролов (ТАГ), поскольку и нейтральные жиры, и фосфолипиды образуются из общего предшественника, - фосфатидной кислоты. В случае снижения скорости синтеза фосфолипидов из-за недостаточной активности PEMT или дефицита источника метильных групп, S-аденозилметионина, фосфатидная кислота используется для синтеза ТАГ. Следует особо подчеркнуть, что нарушения липидного обмена в виде гипертриглицеридемии являются характерной чертой инсулинорезистентности, присущей как ожирению, так и СД2 [8]. Однако, данные о связи гена *PEMT* с развитием ожирения, СД2 и гипертриглицеридемии в русской популяции на сегодняшний день отсутствуют.

Цель исследования. Изучение связи полиморфизма гена *PEMT* (rs12449964, C>T) с уровнем триглицеридов плазмы крови, а также риском развития ожирения и СД2 у жителей Центральной России.

Материалы и методы исследования. Протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом при КГМУ. В исследование вошли 1024 больных СД2 (367 мужчин и 657 женщин) со средним возрастом $61,1 \pm 6,9$ лет, находившихся на стационарном лечении в эндокринологическом отделении Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи с ноября 2016 по октябрь 2019 года. Диагноз СД2 устанавливали на основе критериев ВОЗ [9-10]. Группу контроля составили 1036 условно здоровых добровольцев (396 мужчин и 640 женщин) со средним возрастом $60,8 \pm 5,7$ лет, доноров Областной станции переливания крови, как было описано нами ранее [11-12]. У всех участников исследования на основе письменного информированного согласия проводили забор 5 мл венозной крови натощак в вакуумные пробирки Vacuette с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Геномную ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизма гена *PEMT*

(C>T, rs12449964) было с помощью лазерной десорбционно/ионизационной время-пролетной масс-спектрометрии на платформе MassArray Analyzer 4 (Agena Bioscience). Для проведения биохимических исследований 5 мл крови натощак 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 *PEMT*; GTEx Portal (<https://gtexportal.org>) для изучения тканеспецифичной экспрессии гена *PEMT*; mQTLDatabase (<http://www.mqtl.org>) для изучения влияния изучаемого SNP на статус метилирования гена. 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 $\text{Mean} \pm \text{St.Dv.}$ 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. Клинико-лабораторные показатели участников исследования приведены в таблице 1.

Больные СД2 имели значимо более высокий уровень глюкозы натощак, гликированного гемоглобина, ТАГ, общего холестерина и липопротеинов низкой плотности по сравнению со здоровыми лицами

($P < 0,05$). Кроме того, 627 пациентов (61,2%) имели $\text{ИМТ} \geq 30 \text{ кг/м}^2$, что классифицируется как ожирение. В группе контроля этот показатель составил 12,6% (131 человек).

Таблица 1

Клинико-лабораторные показатели участников исследования

Table 1

Clinical and laboratory parameters of the study participants

Больные СД2			Контроль		
Показатель	Значение параметра	n	Значение параметра	n	P
Возраст, ср, $\pm$ ст.от.	61,1 $\pm$ 6,9	1024	60,8 $\pm$ 5,7	1036	0,39
Мужчины, (%)	35,8	367	38,2	396	0,77
Стаж диабета, Ме [Q1; Q3]	9,0 [3,0; 15,0]	1024	-	1036	-
Индекс массы тела (кг/м^2), ср, $\pm$ ст.от.	31,9 $\pm$ 6,7	1024	27,2 $\pm$ 3,6	1036	0,001
Ожирение, %	61,2	627	12,6	131	<0,0001
HbA _{1c} , Ме [Q1; Q3], %	9,10 [7,90; 11,00]	1024	4,50 [4,10; 4,70]	1034	<0,001
Глюкоза натощак, Ме [Q1; Q3], ммоль/л	12,00 [9,49; 14,9]	1024	4,90 [4,40; 5,00]	1034	<0,001
Общий холестерин (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	5,10 [4,27; 6,09]	972	3,06 [2,86; 3,12]	449	<0,0001
ЛПН (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	3,03 [2,40; 4,05]	546	1,74 [1,60; 1,79]	446	<0,0001
ЛВП (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	0,85 [0,74; 1,07]	546	1,47 [1,36; 1,62]	446	<0,0001
ТАГ (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	2,20 [1,55; 3,00]	758	1,15 [0,98; 1,23]	438	<0,0001

Примечания: HbA_{1c} – гликированный гемоглобин; ЛПН – липопротеины низкой плотности; ЛВП – липопротеины высокой плотности; ТАГ – триацилглицеролы; **жирным** выделены статистически значимый P
Note: HbA_{1c} – glycated hemoglobin; ЛПН – low density lipoproteins; ЛВП – high density lipoproteins; ТАГ – triacylglycerols; **bold** is statistical significant P values

Таблица 2

Частоты генотипов и аллелей rs12449964 гена *PEMT* у больных СД2 и здоровых лиц

Table 2

Genotype and allele frequencies for rs12449964 in the *PEMT* gene in T2D patients and controls

Генотип	Контроль, n (%)	Больные СД2, n (%)	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)*	P*
Общая выборка						
C/C	386 (37,3)	381 (37,2)	1,00	0,49	1,00	0,80
C/T	517 (49,9)	501 (48,9)				
T/T	133 (12,8)	142 (13,9)			1,09 (0,85-1,41)	
T	37,8	38,3	1,02 (0,90-1,16)	0,72	-	-
ИМТ<30						
C/C	331 (36,6)	151 (39)	1,00	0,26	1,00	0,24
C/T	458 (50,6)	195 (50,4)				
T/T	116 (12,8)	41 (10,6)			0,81 (0,55-1,18)	
T	38,1	35,8	0,90 (0,76-1,08)	0,26	-	-
ИМТ ≥30						
C/C	55 (42)	226 (36)	1,00	0,38	1,00	0,38
C/T	59 (45)	301 (48)				
T/T	17 (13)	100 (15,9)			1,27 (0,73-2,21)	
T	35,5	40,0	1,21 (0,92-1,60)	0,18	-	-

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

Исследованный SNP находился в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга ($P > 0,05$). Частоты аллелей изучаемого SNP гена *PEMT* были сопоставимы с европейскими популяциями согласно данным проекта «1000 Genomes», депонированных в Ensembl (<https://www.ensembl.org>). В таблице 2 представлены данные по частотам аллелей и генотипов *PEMT* у здоровых лиц и больных СД2. Линейный регрессионный анализ не выявил ассоциации rs12449964 гена *PEMT* с риском развития СД2. Стратифициро-

ванный анализ по ИМТ также не обнаружил ассоциации изучаемого варианта с риском СД2 ни среди лиц с ожирением ($ИМТ \geq 30 \text{ кг/м}^2$), ни среди лиц без него ($ИМТ < 30$).

В таблице 3 представлены результаты анализа ассоциаций rs12449964 с риском развития ожирения у пациентов с СД2. Как оказалось, генотип rs12449964-T/T связан с повышенным риском развития ожирения у больных СД2 (OR 1,66; 95%CI 1,11-2,46; $P = 0,011$, рецессивная модель).

Таблица 3

Частоты аллелей и генотипов rs12449964 гена *PEMT* у больных СД2 с ожирением и без ожирения

Table 3

Genotype and allele frequencies for rs12449964 in the *PEMT* gene in T2D patients with and without obesity

Генотип	Больные СД2		OR (95% CI)*	P*
	ИМТ < 30, n (%)	ИМТ ≥ 30, n (%)		
T	35,7	39,9	1,20 (1,00-1,44)	0,055
C/C	154 (39,1)	227 (36,1)	1,00	0,041^{CD}
C/T	199 (50,5)	302 (48)	1,03 (0,78-1,35)	
T/T	41 (10,4)	100 (15,9)	1,65 (1,09-2,51)	
C/C	154 (39,1)	227 (36,1)	1,00	0,34 ^D
C/T-T/T	240 (60,9)	402 (63,9)	1,14 (0,88-1,47)	
C/C-C/T	353 (89,6)	529 (84,1)	1,00	0,012^R
T/T	41 (10,4)	100 (15,9)	1,63 (1,10-2,40)	
C/C-T/T	195 (49,5)	327 (52)	1,00	0,44 ^{OD}
C/T	199 (50,5)	302 (48)	0,90 (0,70-1,16)	
---	---	---	1,21 (1,00-1,46)	0,05 ^{AD}

Примечание: Модели: CD – кодоминантная; D – доминантная; R – рецессивная; OD – сверхдоминантная; AD – Log-аддитивная; OR* (95% CI) – отношение шансов и доверительный интервал при поправке на пол и возраст; P* – уровень значимости при поправке на пол и возраст

Note: Models: CD – codominant; D – dominant; R – recessive; OD – overdominant; AD – log-additive; OR* (95% CI) – odds ratio and confidence interval when adjusted for gender and age; P* – significance level when adjusted for gender and age.

Кроме того, при анализе взаимосвязей между генотипами *PEMT* и биохимическими показателями углеводного и липидного обмена больных СД2 было обнаружено, что носительство генотипа rs12449964-T/T сопряжено с более высоким уровнем триацилглицеролов в плазме крови, как при наличии ожирения, так и без него ($P < 0,05$, таблица 4).

С помощью ресурса KEGG Pathways стала возможной идентификация фермента

фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазы (2.1.1.71) на метаболической карте липидного обмена (рис. 1). Фермент катализирует три реакции метилирования, последовательно превращая фосфатидилэтаноламин (кефалин) сначала в моно-, затем в ди-, и, наконец, в триметилфосфатидилэтаноламин (фосфатидилхолин, или лецитин).

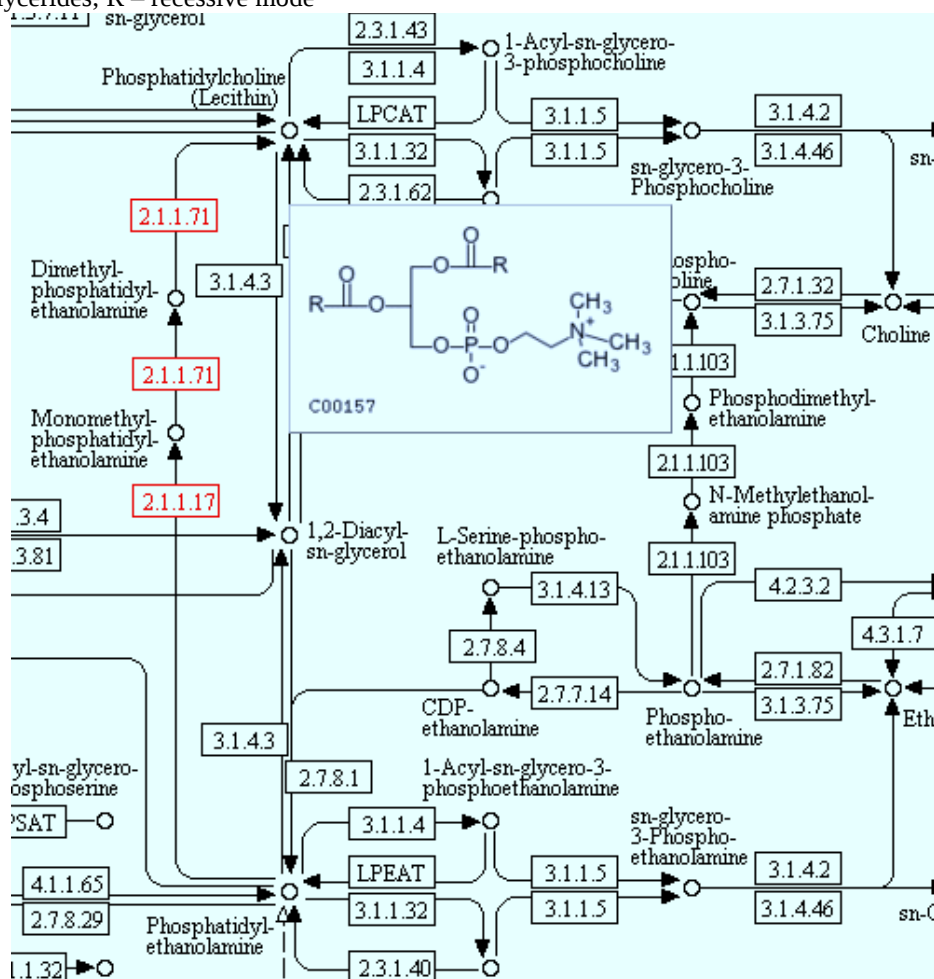
Таблица 4
Ассоциации генотипов *PEMT* с уровнем триглицеридов плазмы крови больных СД2
Table 4

Associations of the *PEMT* genotypes with the triglyceride plasma levels of T2D patients

Генотип	n	Концентрация ТГ, ср.±ст.откл., ммоль/л	Отличие (95% CI)	P
Все пациенты с СД2				
C/C	269	2,46 (0,08)	0,00	0,0037 ^R
C/T	366	2,4 (0,07)		
T/T	113	2,88 (0,22)		
ИМТ<30				
C/C	104	2,22 (0,14)	0,00	0,037 ^R
C/T	135	2,18 (0,08)		
T/T	31	2,66 (0,23)		
ИМТ ≥30				
C/C	165	2,61 (0,11)	0,00	0,048 ^R
C/T	231	2,53 (0,09)		
T/T	82	2,96 (0,29)		

Примечание: ТГ – триглицериды; R – рецессивная модель.

Note: TG – triglycerides; R – recessive mode



Примечание: красным отмечены три реакции, катализируемые *PEMT* (данные KEGG pathways <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)

Note: three reactions catalyzed by *PEMT* are marked in red (KEGG pathways data <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)

Рис. 1. Метаболизм фосфолипидов

Fig. 1. Phospholipid metabolism

Функциональные партнеры PEMT (данные STRING) формируют интерактивную сеть из 10 белков, 4 из которых обеспечивают синтез лецитина (холинэтанолминфосфотрансфераза 1, CEPT1; холинфосфотрансфераза 1, CHPT1; лизофосфолипидацетилтрансфераза 5, LPCAT3 и холиндегидрогеназа, CHDH), 3 белка катализируют образование кефалина (фосфатидилсериндекарбоксилаза, PISD;

этанолминфосфотрансфераза 1, EPT1; лизофосфолипидацетилтрансфераза 2, MBOAT2), и еще 3 функциональных партнера PEMT вовлечены в синтез фосфатидилхолина (лизофосфолипидацетилтрансфераза 1, MBOAT1; фосфатидилсеринсинтаза 1, PTDSS1; фосфатидилсеринсинтаза 2, PTDSS2).

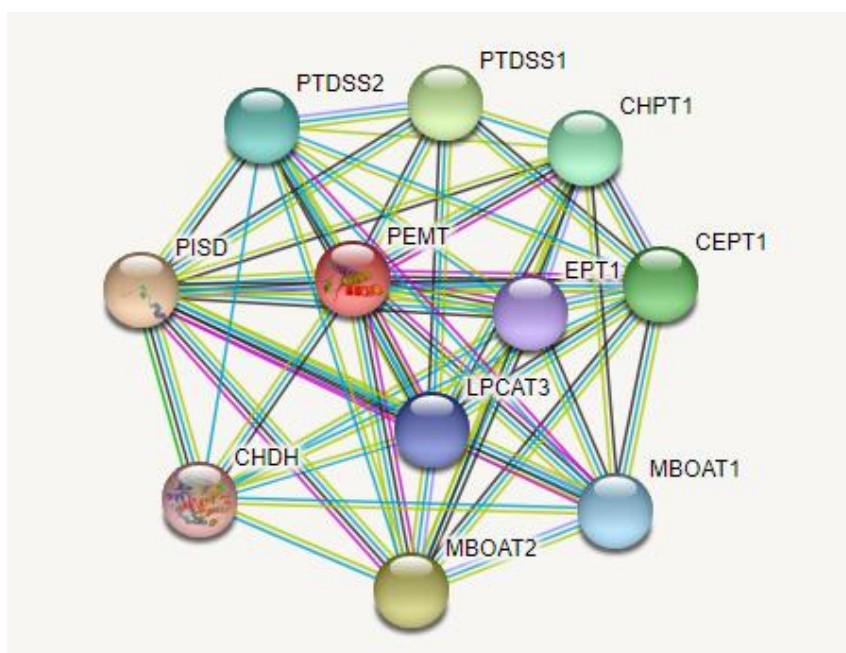


Рис. 2. Сеть белковых партнеров PEMT
Fig. 2. PEMT protein network

Настоящее исследование выявило взаимосвязь полиморфного локуса rs12449964 в регуляторном участке гена *PEMT* с повышенным риском развития ожирения у больных СД2, демонстрируя тем самым потенциальную вовлеченность гена фосфатидилэтанолмин-N-метилтрансферазы в патогенез заболевания. В литературе есть единичные исследования роли *PEMT* в формировании предрасположенности к ишемической болезни сердца, ишемическому инсульту [7], острому панкреатиту [13, 14] и обсессивно-компульсивному синдрому [15]. Также описаны ассоциации *loss-of-function* вариантов *PEMT* с уровнем ТАГ плазмы крови

(rs11656215) [16] и отношением объема талии к объему бедер: rs4646404 [17], rs9944423 [18]. Изучаемый SNP также оказался ассоциированным с риском СД2 в когорте UK Biobank, включающей 19860 больных СД2 и 432404 здоровых лиц [6]. Тем не менее, ассоциация rs12449964 с риском СД2 не была подтверждена в настоящей работе.

Согласно экспериментальным данным GTEx Portal, аллель rs12449964T ассоциирован со снижением экспрессии *PEMT* в печени, висцеральной и подкожной жировой ткани, наиболее активно синтезирующих ТАГ и ФЛ по сравнению с другими клетками (рис. 3).

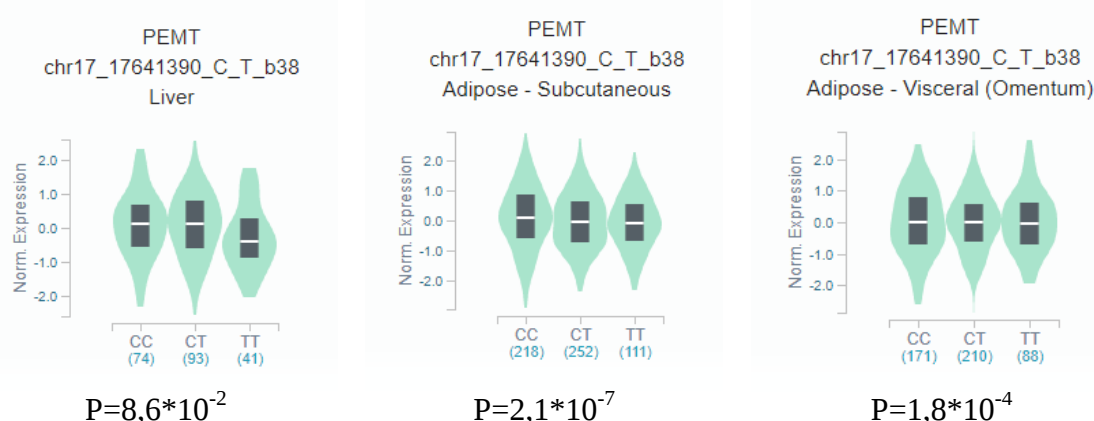


Рис. 3. Экспрессия PEMT в различных тканях
Fig. 3. Expression of PEMT in various tissues

Кроме того, оценка эффектов rs12449964 на статус метилирования генов (mQTL) показала, что альтернативный аллель Т связан с гиперметилованием *PEMT*, а значит, со снижением экспрессии этого гена в детском и взрослом возрасте. Уменьшение активности синтеза лецитина, самого распространенного фосфолипида, может приводить к перераспределению пула фосфатидной кислоты, — общего субстрата для синтеза фосфолипидов и ТАГ, в пользу образования последних, способствуя таким образом, накоплению в клетках нейтральных жиров, и увеличению массы тела. В данной работе впервые показана взаимосвязь между генотипом rs12449964-Т/Т и более высоким содержанием ТАГ в плазме крови больных СД2 всех весовых категорий. Следует отметить, что увеличение концентрации ТАГ, особенно в сочетании со снижением уровня липопротеинов высокой плотности, считается маркером инсулинорезистентности [8, 19]. Так, в десятилетнем проспективном исследовании А. Tirosh [20] было показано, что увеличение содержания ТАГ в плазме крови от низкого до высокого тертиля в течение 5 лет увеличивает риск развития СД2 в 12 раз независимо от индекса массы тела (ИМТ) участников исследования. Циркулирующие в крови ТАГ служат потенциальным источником свободных жирных кислот, ухудшающих

чувствительность периферических тканей к инсулину и замыкающих порочный круг между гипертриглицеридемией и инсулинорезистентностью, составляющей патогенетический фундамент СД2 [21, 22]. Повышение уровня ТАГ и свободных жирных кислот активирует апоптоз бета-клеток поджелудочной железы, снижая их функциональную массу, — эффект липотоксичности, который в сочетании с глюкозотоксичностью способствует поражению различных органов и систем, в первую очередь, глаз, почек, сосудов и нервов нижних конечностей [1].

Заключение. Таким образом, проведенное исследование обнаружило ассоциацию rs12449964 гена *PEMT* с гипертриглицеридемией и повышенным риском развития ожирения у больных СД2, что может быть обусловлено низкой транскрипционной активностью гена фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазы у носителей альтернативного аллеля Т изучаемого однонуклеотидного полиморфизма. Полученные результаты также свидетельствуют о том, что сахарный диабет, *diabetes mellitus*, главным диагностическим критерием которого по-прежнему служит хроническая гипергликемия, серьезно поражает не только углеводный, но и липидный обмен, и может по праву называться *diabetes mellipidus*.

Информация о финансировании

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-15-00227).

Financial support

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

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа: проблемы и решение. 2-е издание. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
2. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. Diabetes research and clinical practice. 2019;157:107843. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>
3. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. Nature Reviews Endocrinology. 2019;15(5):288. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
4. Аметов АС, Пашкова ЕЮ, Рамазанова ЗД, и др. Ожирение как неинфекционная эпидемия XXI века. Современные представления о патогенезе, рисках и подходах к фармакотерапии. Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2019;8(2):57-66. DOI: <https://doi.org/10.24411/2304-9529-2019-12007>
5. 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>
6. Bycroft C, Freeman C, Petkova D, et al. The UK Biobank resource with deep phenotyping and genomic data. Nature. 2018;562(7726):203-209. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0579-z>
7. Dichgans M, Malik R, König IR, et al. Shared genetic susceptibility to ischemic stroke and coronary artery disease: a genome-wide analysis of common variants. Stroke. 2014;45(1):24-36. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.002707>
8. Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. Science. 2007;316(5829):1331-1336. DOI: 10.1126/science.1142358
9. 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.
10. World Health Organization. Global report on diabetes: executive summary (No. WHO/NMH/NVI/16.3). World Health Organization; 2016.
11. Azarova I, Bushueva O, Konoplya A, et al. Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene-gene and gene-smoking interactions in disease susceptibility. Journal of Diabetes. 2018;10(5):398-407. DOI: <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12623>
12. Азарова ЮЭ, Клёсова ЕЮ, Самгина ТА, и др. Роль полиморфных вариантов гена CYBA в патогенезе сахарного диабета 2 типа. Медицинская генетика. 2019;18(8):37-48. DOI: <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.08.37-48>
13. Самгина ТА, Азарова ЮЭ, Канищев ЮВ, и др. Роль полиморфизма гена РЕМТ фосфатидилэтанолламин-N-метилтрансферазы rs12449964 в развитии острого панкреатита и его осложнений. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2019;29(5):21-25. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-5-21-25>
14. Самгина ТА, Азарова ЮЭ, Канищев ЮВ, и др. Роль полиморфизма гена фосфатидилэтанолламин-N-метилтрансферазы rs12449964 в развитии острого панкреатита. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2019;3:28-33. DOI: <https://doi.org/10.21626/vestnik/2019-3/04>
15. Den Braber A, Zilhao NR, Fedko IO, et al. Obsessive-compulsive symptoms in a large population-based twin-family sample are predicted by clinically based polygenic scores and by genome-wide SNPs. Translational psychiatry. 2016;6(2):e731-e731. DOI: <https://doi.org/10.1038/tp.2015.223>

16. Klarin D, Damrauer SM, Cho K, et al. Genetics of blood lipids among ~ 300,000 multi-ethnic participants of the Million Veteran Program. *Nature genetics*. 2018;50(11):1514-1523. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0222-9>

17. Shungin D, Winkler TW, Croteau-Chonka DC, et al. New genetic loci link adipose and insulin biology to body fat distribution. *Nature*. 2015;518(7538):187-96. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14132>

18. Tachmazidou I, Süveges D, Min JL, et al. Whole-genome sequencing coupled to imputation discovers genetic signals for anthropometric traits. *The American Journal of Human Genetics*. 2017;100(6):865-884. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.04.014>

19. McLaughlin T, Reaven G, Abbasi F, et al. Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease? *The American journal of cardiology*. 2005;96(3):399-404. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.03.085>

20. Tirosh A, Shai I, Bitzur R, et al. Changes in triglyceride levels over time and risk of type 2 diabetes in young men. *Diabetes care*. 2008;31(10):2032-2037. DOI: <https://doi.org/10.2337/dc08-0825>

21. Patel PS, Sharp SJ, Jansen E, et al. Fatty acids measured in plasma and erythrocyte-membrane phospholipids and derived by food-frequency questionnaire and the risk of new-onset type 2 diabetes: a pilot study in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Norfolk cohort. *The American journal of clinical nutrition*. 2010;92(5):1214-1222. DOI: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.29182>

22. Hodge AM, English DR, O'Dea K, et al. Plasma phospholipid and dietary fatty acids as predictors of type 2 diabetes: interpreting the role of linoleic acid. *The American journal of clinical nutrition*. 2007;86(1):189-197. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/86.1.189>

References

1. Ametov AS. Type 2 diabetes mellitus: problems and solution. The 2nd edition. M.: GEOTAR-media; 2013. Russian.

2. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice*. 2019;157:107843. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>

3. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019;15(5):288. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>

4. Ametov AS, Pashkova EYu, Ramazanova ZD, et al. [Obesity as a non-infectious epidemic of the XXI century. Modern ideas about the pathogenesis, risks and approaches to pharmacotherapy]. *Endocrinology: News, Opinions, Training*. 2019;8(2):57-66. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24411/2304-9529-2019-12007>

5. 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>

6. Bycroft C, Freeman C, Petkova D, et al. The UK Biobank resource with deep phenotyping and genomic data. *Nature*. 2018;562(7726):203-209. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0579-z>

7. Dichgans M, Malik R, König IR, et al. Shared genetic susceptibility to ischemic stroke and coronary artery disease: a genome-wide analysis of common variants. *Stroke*. 2014;45(1):24-36. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.002707>

8. Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science*. 2007;316(5829):1331-1336. DOI: [10.1126/science.1142358](https://doi.org/10.1126/science.1142358)

9. 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.

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

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

12. Azarova YuE, Klyosova EYu, Samgina TA, et al. Role of CYBA gene polymorphisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Medical Genetics*. 2019;18(8):37-48. Russian. DOI:

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.08.37-48>

13. Samgina TA, Azarova YuE, Kanishchev YuV, et al. The Role of Phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase (PEMT) Gene rs12449964 Polymorphism in the Development of Acute Pancreatitis and its Complications. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2019;29(5):21-25. Russian. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-5-21-25>

14. Samgina TA, Azarova YE, Kanishchev YV, et al. The role of polymorphism of the phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase gene rs12449964 in the risk of acute pancreatitis. Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health". 2019;3:28-33. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21626/vestnik/2019-3/04>

15. Den Braber A, Zilhao NR, Fedko IO, et al. Obsessive-compulsive symptoms in a large population-based twin-family sample are predicted by clinically based polygenic scores and by genome-wide SNPs. Translational psychiatry. 2016;6(2):e731-e731. DOI: <https://doi.org/10.1038/tp.2015.223>

16. Klarin D, Damrauer SM, Cho K, et al. Genetics of blood lipids among ~ 300,000 multi-ethnic participants of the Million Veteran Program. Nature genetics. 2018;50(11):1514-1523. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0222-9>

17. Shungin D, Winkler TW, Croteau-Chonka DC, et al. New genetic loci link adipose and insulin biology to body fat distribution. Nature. 2015;518(7538):187-96. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14132>

18. Tachmazidou I, Süveges D, Min JL, et al. Whole-genome sequencing coupled to imputation discovers genetic signals for anthropometric traits. The American Journal of Human Genetics. 2017;100(6):865-884. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.04.014>

19. McLaughlin T, Reaven G, Abbasi F, et al. Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease? The American journal of cardiology. 2005;96(3):399-404. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.03.085>

20. Tirosh A, Shai I, Bitzur R, et al. Changes in triglyceride levels over time and risk

of type 2 diabetes in young men. Diabetes care. 2008;31(10):2032-2037. DOI:

<https://doi.org/10.2337/dc08-0825>

21. Patel PS, Sharp SJ, Jansen E, et al. Fatty acids measured in plasma and erythrocyte-membrane phospholipids and derived by food-frequency questionnaire and the risk of new-onset type 2 diabetes: a pilot study in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Norfolk cohort. The American journal of clinical nutrition. 2010;92(5):1214-1222. DOI: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.29182>

22. Hodge AM, English DR, O'Dea K, et al. Plasma phospholipid and dietary fatty acids as predictors of type 2 diabetes: interpreting the role of linoleic acid. The American journal of clinical nutrition. 2007;86(1):189-197. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/86.1.189>

Статья поступила в редакцию 8 апреля 2021 г.

Поступила после доработки 23 мая 2021 г.

Принята к печати 31 мая 2021 г.

Received 8 April 2021

Revised 23 May 2021

Accepted 31 May 2021

Информация об авторе

Юлия Эдуардовна Азарова, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии, заведующая лабораторией биохимической генетики и метаболизма НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: azzzzar@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8098-8052>.

Information about the author

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



DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-5

УДК 575:616-053.2

Синдром делеции короткого плеча хромосомы 18 (18p-) у детей: возможности цитогенетической и молекулярно-цитогенетической диагностики

С.Г. Ворсанова^{1,2} , Ю.Б. Юров^{1,2} , И.А. Демидова^{1,2} , В.С. Кравец^{1,2} ,
А.Д. Колотий^{1,2} , К.С. Васин^{1,2} , И.В. Соловьев² , И.Ю. Юров^{1,2,3}

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»,

ул. Талдомская, д. 2, г. Москва, 125412, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья»,

Каширское ш., д. 34, г. Москва, 115522, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»,

ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, г. Москва, 125993, Российская Федерация

Авторы для переписки: С.Г. Ворсанова (svorsanova@mail.ru),

И.Ю. Юров (ivan.iourov@gmail.com)

Резюме

Актуальность: Синдром делеции короткого плеча хромосомы 18 (18p-) связан с различными потерями хромосомного материала короткого плеча (частичная моносомия), но чаще всего с полной потерей короткого плеча хромосомы 18. Частота синдрома 18p- в популяции составляет 1:60000; цитогенетически и клинически он достаточно гетерогенен. Клинические проявления значительно варьируемы: от лёгких форм с врождёнными пороками и микроаномалиями развития до грубых пороков головного мозга; редко наблюдаются расстройства аутистического спектра, эпилепсия. Точки разрыва при делеции разнообразны, так что синдром требует корректного исследования больших групп больных детей с применением современных геномных технологий. **Цель исследования:** Использование цитогенетических и молекулярно-цитогенетических технологий для определения критических точек разрыва и, по возможности, корреляции фенотипа и генотипа при синдроме 18p-. **Результаты:** В данной публикации мы описываем собственные наблюдения 15-ти пациентов (9 мальчиков и 6 девочек) с синдромом делеции короткого плеча хромосомы 18, выявленных в обширной когорте обследованных пациентов (n=8536). Средний возраст детей составил 5,1г; соотношение полов был в пользу мальчиков (1,5:1) в отличие от литературных данных. Критических точек, связанных с этим синдромом и локализованных в коротком плече хромосомы 18, не выявлено. Вероятно, клиническая картина синдрома ассоциирована со многими точками разрыва в корот-

ком плече 18(p11.1->pter). Частота синдрома 18p- в исследуемой группе детей с задержкой развития, и умственной отсталостью, врождёнными пороками и микроаномалиями развития составила 0,2%. Обсуждаются диагностические аспекты данной патологии и возможности применения молекулярно-цитогенетических методов в исследовании синдрома. **Заключение:** Подчёркивается персонализированный подход к диагностике синдрома для корректного медико-генетического консультирования с целью улучшения качества жизни больного ребёнка и для дальнейшего изучения корреляций фенотип-кариотип.

Ключевые слова: синдром 18p-; цитогенетические методы; молекулярно-цитогенетическая диагностика; умственная отсталость; врождённые пороки и аномалии развития

Благодарности: Авторы выражают благодарность с.н.с. О.С. Куриной, лаборантам-исследователям Н.С. Якушеву и В.Ю. Юровой за техническую помощь в подготовке статьи к публикации.

Для цитирования: Ворсанова СГ, Юров ЮБ, Демидова ИА, и др. Синдром делеции короткого плеча хромосомы 18 (18p-) у детей: возможности цитогенетической и молекулярно-цитогенетической диагностики. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(3):257-271. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-5

Chromosome 18p deletion syndrome (18p-) in children: the value of cytogenetic and molecular cytogenetic diagnosis

Svetlana G. Vorsanova^{1,2} , Yuri B. Yurov^{1,2} , Irina A. Demidova^{1,2} ,
Victor S. Kravets^{1,2} , Alexey D. Kolotii^{1,2} , Kirill S. Vasin^{1,2} ,
Ilia V. Soloviev² , Ivan Y. Iourov^{1,2,3} 

¹ Pirogov Russian National Research Medical University,

2 Taldomskaya St., Moscow, 125412, Russia

² Mental Health Research Center,

34 Kashirskoe Highway, Moscow, 115522, Russia

³ Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education,

2/1 bld. 1, Barrikadnaya str., Moscow, 125993, Russia

Corresponding author: Svetlana G. Vorsanova (svorsanova@mail.ru),

Ivan Y. Iourov (ivan.iourov@gmail.com)

Abstract

Background: Chromosome 18p deletion syndrome (18p-) is associated with a loss of chromosomal material of the short arm (partial monosomy); however, the whole short arm is lost in the majority of cases. The frequency of 18p- syndrome is 1:60000. The syndrome is cytogenetically and clinically heterogeneous. The clinical manifestations vary extremely from mild forms with congenital anomalies and developmental delays to severe brain malformations. Rare cases demonstrate epilepsy and autism spectrum disorders. The deletion breakpoints are also variable. Accord-

ingly, the syndrome needs the analysis of large groups of diseased children by current genomic technologies. **Aim of the study:** The evaluation of cytogenetic and molecular-cytogenetic technologies for defining critical breakpoints and possible phenotype-genotype correlations. **Results:** Here, we describe our observations of 15 patients (9 boys and 6 girls) with 18p deletion syndrome, revealed in a large cohort of patients (n=8536). The mean age was 5.1 years; the sex ratio was in favor of boys (1.5:1) in contrast to the literature data. Critical breakpoints associated with this syndrome within the short arm of chromosome 18 were not revealed. It is possible that the clinical features of the syndrome are associated with many breakpoints in chromosome 18 short arm (p11.1->pter). The frequency of 18p- syndrome in children with intellectual disability, developmental delays, and congenital anomalies was 0.2%. The diagnostic aspects of this pathology and the value of molecular cytogenetic methods in studying the syndrome are discussed. **Conclusion:** We highlight personalized approach to diagnosis of the syndrome for correct genetic counseling for the improvement the life quality and establishing phenotype-karyotype correlations.

Keywords: 18p- syndrome; cytogenetic methods; molecular cytogenetic diagnosis; mental retardation; congenital anomalies.

Acknowledgements: The authors are grateful to the senior researcher O.S. Kurinaia, the research-technicians N.S. Yakushev and V.I. Iurova for technical assistance in preparing the manuscript.

For citation: Vorsanova SG, Yurov YB, Demidova IA, et al. Chromosome 18p deletion syndrome (18p-) in children: the value of cytogenetic and molecular cytogenetic diagnosis. Research Results in Biomedicine. 2021;7(3):257-271. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-5

Введение. В 1960-х годах прошлого века были описаны синдромы, связанные с аномалиями хромосомы 18, в том числе синдромы 18p- и 18q-, а также синдром кольцевой хромосомы 18 (r18) [1, 2]. Основные патологические проявления синдрома делеции короткого плеча хромосомы 18 (18p-) связаны с различными психомоторными и другими врождёнными пороками и микроаномалиями развития. Учёные из разных стран, исследовавшие большое число детей с данной аномалией, отмечают значительный цитогенетический и клинический полиморфизм, частые стёртые формы синдрома, нерешённые проблемы корреляции фенотип-генотип, что затрудняет медико-генетическое консультирование, коррекционную терапию, прогноз для пациентов, и требует применения самых современных цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов для более эффективного изучения данного синдрома [2].

Минимальными диагностическими признаками этого синдрома считают умственную отсталость от лёгкой до тяжёлой степени, задержку роста, мышечную гипотонию, крупные деформированные ушные раковины, аномалии скелета. Выделяют два основных фенотипических варианта данного синдрома: 1) с грубыми пороками аринэнцефалической системы; 2) с отсутствием пороков мозга. Типичны также следующие признаки: низкая масса тела при рождении, задержка роста, укороченные конечности, различные МАР: микроцефалия, гипертелоризм глазных щелей, птоз, эпикант, катаракта, косоглазие, широкий плоский нос, микрогнатия, расщелины губы и нёба, большие оттопыренные ушные раковины, нарушения строения челюстно-зубного аппарата, множественный кариес, клинодактилия, синдактилия; нередко короткая шея, широкая вдавленная грудная клетка; алопеция, гипопигментация кожи, аномалии позвоночника, вальгусная деформация локтевых суставов, ко-

солапость, врождённый вывих бедра, гипоплазия мошонки и полового члена у мальчиков и малых половых губ у девочек, паховая грыжа, ВПС. Все больные значительно отстают в психомоторном развитии, страдает речь (афазия или дисфазия, фразовая речь часто отсутствует до 7-9 лет). Встречаются грубые пороки головного мозга при первом варианте заболевания (аринэнцефалия, проэнцефалические пороки, гипоплазия гипофиза - гипопитуитаризм, циклопия, цебоцефалия) [3, 4, 5]. У этих пациентов снижена продолжительность жизни. Частота синдрома составляет 1:60000, девочки болеют чаще мальчиков (соотношение полов по разным данным: М:Ж – 1:1,5 - 1:2) [6, 7, 8]. Большинство случаев описаны как спорадические; семейные случаи редки и обычно ассоциированы со сбалансированными перестройками родителей при участии 18p. Редко несбалансированная перестройка наследуется от одного из родителей со сбалансированной аномалией, связанной с 18p, и тогда родители могут иметь подобные клинические симптомы синдрома в лёгкой форме [9]. Прогноз для жизни у больных с пороками головного мозга неблагоприятен, возможна гибель таких пациентов в первые месяцы и даже дни жизни, у больных без пороков мозга продолжительность жизни нормальна или снижена незначительно (известны случаи смерти в возрасте 65 лет) [2]. Отдельные больные хорошо адаптируются и даже способны к деторождению. Родители больных детей в среднем несколько старше обычного и их возраст составляет на момент рождения ребёнка более 35-36 лет. Поскольку у многих пациентов с делецией короткого плеча хромосомы 18 клинические признаки весьма вариабельны, диагностика синдрома нередко затруднительна и требует подтверждения молекулярно-цитогенетическими методами [4, 10, 11].

Подробное изучение генов в коротком плече хромосомы 18 позволяет анализировать их участие в геномных сетях, которое, в свою очередь, может быть предметом обсуждения при поиске корреляций

генотип-фенотип при этом синдроме. По данным исследований [4], в коротком плече хромосомы 18 содержится 118 генов, 57 из которых индексированы в базе данных OMIM [Online Mendelian Inheritance in Man]. Большинство из них не участвуют в формировании патологического фенотипа при данном синдроме. Авторам удалось идентифицировать 10 генов, которые, с большой вероятностью, участвуют в формировании фенотипа при данном синдроме: *TGIF1*, *LAMA1*, *GNAL*, *AFG3L2*, *SMCHD1*, *PTPN2*, *TWSG1*, *DLGAP1*, *ANKRD12* и *IMPA2*. Тем не менее, многие исследователи полагают, что у данного синдрома нет критического участка или же критический участок расположен от теломеры до точки разрыва в каждом конкретном случае. Для отдельно взятых патологических симптомов (тугоухость, страбизм, птоз, нистагм, сколиоз/кифоз, крипторхизм, судороги) такие сегменты хромосомы 18 определены [7, 12, 13]. Нередко детям с синдромом 18p- клинически ставят диагноз синдром Шерешевского-Тернера, имея ввиду низкий рост, короткую шею, аномалии гениталий [14, 15, 16]. Цитогенетически синдром достаточно гетерогенен. Обычно делеция происходит с потерей всего короткого плеча, размер которого составляет 16000000-16500000 пар нуклеотидов, включая гетерохроматин центромеры. Реже разрывы при делеции наблюдаются в различных сегментах участка 18p11.21->pter. Известно также, что не выявлено ни одного случая интерстициальных делеций в коротком плече хромосомы 18.

В настоящей работе представлены цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования детей с различными формами синдрома 18p-.

Материалы и методы исследования. Цитогенетически обследованы 8536 детей с ЗППР, ЗПМР, умственной отсталостью, ЗФР, ВПР и МАР, среди которых мальчиков - 4575, девочек – 3961. Соотношение полов М:Ж – 1,15:1. Кариотипирование было проведено всем пациентам путём GTG- и CBG-окрашивания по стан-

дартным протоколам [2]. Запись кариотипов проводилась согласно классификации и номенклатуры ISCN 2016 и 2020 [17, 18].

Молекулярно-цитогенетические исследования (FISH) проводились с помощью оригинальных методов и с применением оригинальных сайт-специфичных и околоцентромерных ДНК проб, а также в отдельных случаях - пэйтинговой пробы, по стандартным протоколам [19, 20].

Молекулярное кариотипирование проводили с помощью SNParray (CytoScan HD, Affymetrix), содержащей около 2,7 млн проб, по стандартным протоколам. Полученные данные визуализировались с использованием Affymetrix ChAS (Chromosome Analysis Suite, Array Version 4.1.0.90/r29400) [21, 22].

Результаты и их обсуждение. В результате цитогенетических исследований 8536 детей с ЗПМР (умственной отсталостью), различными ВПР и МАР было выявлено 15 детей (9 мальчиков и 6 девочек) с синдромом короткого плеча хромосомы 18. Соотношение полов - 1,5:1,0 было в пользу мальчиков в отличие от литературных данных, где всегда преобладают девочки. Средний возраст детей с синдромом делеции короткого плеча хромосомы 18 (18p-) составил 5 лет 1 месяц (от 3 месяцев до 12 лет). Частота детей с синдромом делеции короткого плеча хромосомы 18 (синдром 18p-) составила 0,2% от общего числа пациентов (15 пациентов из 8536 детей). При цитогенетическом анализе делеция (потеря хромосомного материала короткого плеча хромосомы 18) выявлена, как с точками разрыва, локализованными в районе 18p11.1 с участием околоцентромерного гетерохроматина, так и в участках 18p11.2 – 18p11.3 до 18pter (табл. 1). У 11-ти детей обнаружена делеция короткого плеча хромосомы 18, у 2х – кольцевая хромосома 18 с потерей хромосомного материала короткого плеча, у одного ребёнка – транслокация при участии хромосомы 18 с потерей части материала короткого плеча. Транслокация и кольцевые хромосомы (табл.1, случаи 3, 10 и 11) подтверждены и уточнены с помощью FISH исследований

при применении сайт-специфических ДНК проб. В 5-ти из 15-ти случаев было утрачено всё короткое плечо хромосомы 18 (табл. 1). В одном случае выявлена мозаичная форма синдрома. Клинические симптомы у всех пациентов были разнообразны: умственная отсталость, ЗППР, ЗПМР, ЗФР, РАС, анэнцефалия, различные ВПР и МАР, в том числе микроцефалия, низкий рост, глазокожный альбинизм, алопеция, гипертелоризм глазных щелей, расщелины губы и нёба и другие различные МАР (табл. 1). Степень тяжести патологических проявлений, включая пороки мозга и судороги, значительно варьировала; при этом, не все перечисленные аномалии (кроме ЗПМР и ЗППР) встречались у больных детей [12, 23, 24]. Корреляция между размерами утраченного участка и тяжестью клинических проявлений отчётливо не прослеживалась, что объяснимо некоторой стёртостью клинической картины и разнообразием патологических симптомов у пациентов из данной группы (табл. 1). Практически, во всех случаях проводили FISH исследования, а в отдельном случае и молекулярное кариотипирование, и с помощью этих методов делеция короткого плеча хромосомы 18 была подтверждена. По цитогенетическим и FISH исследованиям из 15ти случаев обнаружены, как регулярные хромосомные аномалии, у 14ти пациентов, так и у одного ребёнка - мозаичная форма синдрома с клонами 46,XU,18p-/47,XU,+mar(derX) (последний клон обнаружен в небольшом количестве). Кроме того, у одного ребёнка выявлена транслокация с участием хромосом 15 и 18 с потерей короткого плеча хромосомы 18, и два случая с кольцевой хромосомой 18 также с потерей короткого плеча. При молекулярном кариотипировании обнаружена и частичная дупликация хромосомы 7 (табл. 1, случай 14). Результаты цитогенетических исследований представлены на рисунках 1, 2, 3. Причём, на рисунке 3 представлена панель гомологов хромосомы 18 из разных кариотипов, один из гомологов которых с 18p- указан стрелкой. FISH исследования представлены на рисунке 4.

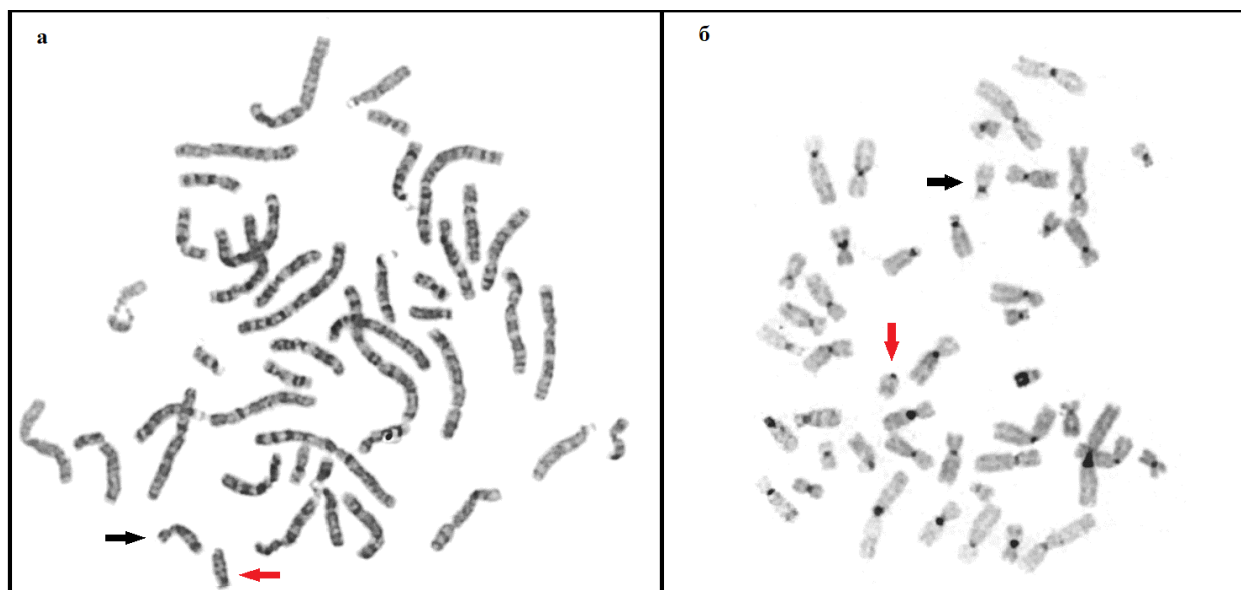


Рис. 1. Метафазные пластинки мальчика с синдромом делеции короткого плеча хромосомы 18 (18p-). Кариотип - 46,XY,del(18)(p11.1): а) G – окрашивание хромосом; б) С – окрашивание хромосом (красными стрелками отмечены хромосомы 18 с делециями; черными – хромосомы 18 без делеций).

Fig. 1. Metaphase spreads of a boy with chromosome 18 short arm deletion syndrome (18p-). The karyotype was 46,XY,del(18)(p11.1): a) GTG-chromosomal banding; b) CBG-chromosomal banding (red arrows show deleted chromosomes 18; black arrows — chromosomes 18 without deletions)

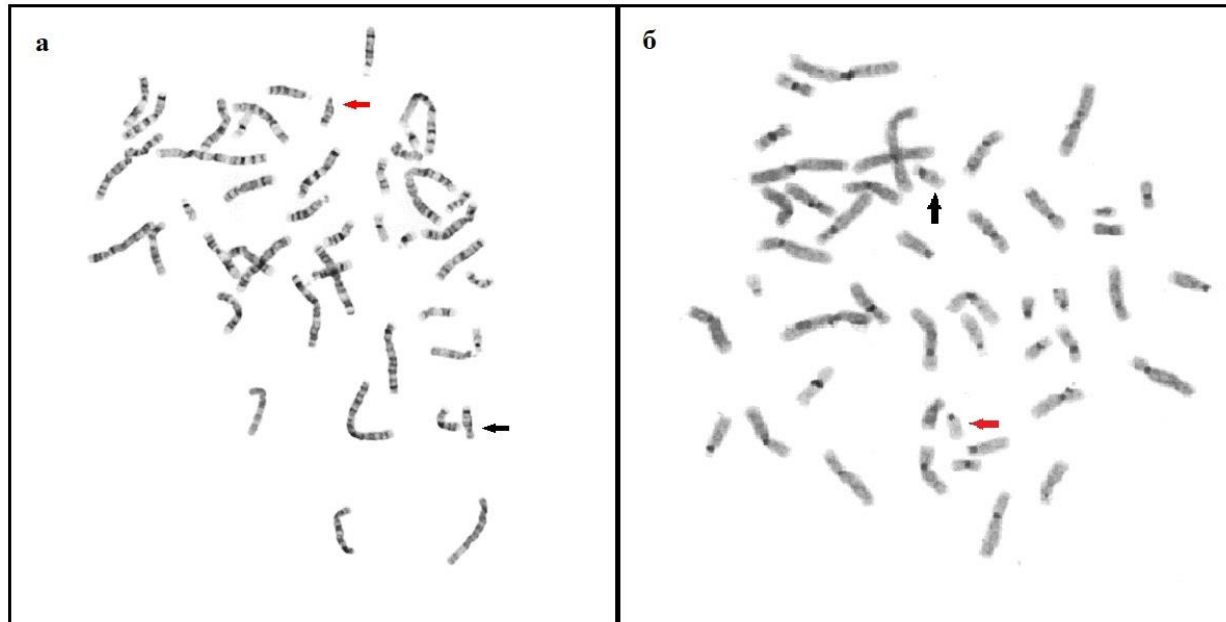


Рис. 2. Метафазные пластинки девочки с синдромом делеции короткого плеча хромосомы 18 (18p-). Кариотип - 46,XX,del(18)(p11.21): а) G – окрашивание хромосом; б) С – окрашивание хромосом (красными стрелками отмечены хромосомы 18 с делециями; черными – хромосомы 18 без делеций).

Fig. 2. Metaphase spreads of a girl with chromosome 18 short arm deletion syndrome (18p-). The karyotype was 46,XX,del(18)(p11.21): a) GTG-chromosomal banding; b) CBG-chromosomal banding (red arrows show deleted chromosomes 18; black arrows – chromosomes 18 without deletions)

В одном случае (табл. 1) пациенту с 18p- было вместо FISH исследования проведено молекулярное кариотипирование (SNParray), которое не только подтвердило делецию короткого плеча хромосомы 18,

но и позволило выявить другие геномные аномалии, в том числе дупликацию хромосомы 7 и CNV, которые, возможно, внесли свой вклад в клиническую картину синдрома.

Таблица 1 (начало)

Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования детей с аномалиями короткого плеча хромосомы 18 (синдром 18p-)

Beginning of Table 1

Cytogenetic and molecular cytogenetic analyses of children with anomalies of the short arm of chromosome 18 (18p-)

№ п/п	Возраст	Симптомы	Кариотип	Молекулярно-цитогенетические исследования
1	3м	Анэнцефалия, короткая шея, монголоидный разрез и гипертелоризм глазных щелей, широкая уплощ. спинка носа, низко располож. деформир. ушн. раковины, расщелины губы и нёба, короткая шея, вдавлен. грудная клетка, гипертелоризм сосков, хейлогнатопалатосхиз, клинодактилия, гипоплазия полового члена.	46,XY,18p-	FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(D18Z1-)
2	2г	ЗПМР, микроцефалия, гипертелоризм глазных щелей, эпикант, деформ. ушн. раковины, микрогнатия короткая шея, клинодактилия.	46,XY,18p-	FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(D18Z1-)
3	5л	Умственная отсталость, спастическая атаксия, низкий рост, судороги; МАР: птоз, эпикант, низко располож. ушн. раковины, короткая шея, крипторхизм.	45,XYqh+,t(15;18) 46,XY,t(15;18) (15qter->15p11.1:: cen->18p11.2->18qter)	FISH: 46,XY.ish del(18)(MCG-T-01-); FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(D18Z1+)
4	7л	Умственная отсталость, дистония, низкий рост, нарушение глотания, МАР: птоз, деформир. ушные раковины, клинодактилия.	46,XX,18p- 46,XX,del(18p-)(p11.21:)	FISH: 46,XX.ish del(18)(MCG-T-01-)
5	1г3м	ЗПМР, голопрозэнцефалия, сколиоз/кифоз, МАР: эпикант, катаракта, гипертелоризм глазных щелей, деформир. ушн. раковины.	46,XY,18p-	FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(D18Z1-); FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(pcp-)
6	2г8м	ЗПМР, ЗППР; МАР: птоз, катаракта, расщелины губы и нёба, микрогнатия, деформир. ушн. раковины, судороги.	46,XY,18p-	FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(D18Z1-) FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(pcp-)
7	5л	Умственная отсталость, алопеция, ЗРР, сколиоз/кифоз, МАР: птоз, деформир. ушн. раковины; ВПС.	46,XX,18p-	FISH: 46,XX.ish del(18)(MCG-T-01-); FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(D18Z1+)
8	5л	ЗПМР, низкий рост, дистония; МАР: гипертелоризм глазных щелей, эпикант, оттопыренные ушн. раковины, гипоплазия мошонки.	46,XX,del(18)(p?11.2),9qh+ Кариотип после FISH: 46,XY,del(18)(p11.22),9qh+	FISH: 46,XX.ish del(18)(MCG-T-01-); FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(D18Z1+)
9	7л	ГЗППР, ЗППР, низкий рост, альбинизм; МАР: птоз, микрогнатия, клинодактилия, синдактилия, гипоплазия мошонки.	46,XY,del(18)(p?11.3) Кариотип после FISH: 46,XY,del(18)(p11.23)	FISH: 46,XX.ish del(18)(MCG-T-01-); FISH: 46,XY.ish del(18)(p11.1:)(D18Z1+)

Таблица 1 (окончание)

Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования детей с аномалиями короткого плеча хромосомы 18 (синдром 18p-)

End of Table 1

Cytogenetic and molecular cytogenetic analyses of children with anomalies of the short arm of chromosome 18 (18p-)

№ п/п	Возраст	Симптомы	Кариотип	Молекулярно-цитогенетические исследования
10	5л	ЗППР, МВПР, МАР: эпикант, катаракта, деформир. ушные раковины, вдавлен. грудная клетка; кифосколиоз.	46,XX,r(18),1phqh Кариотип после FISH: 46,XX,r(18)(p11.31q23),1phqh	FISH: 46,XX.ish del(18)(MCG-T-01-)
11	10л	Умственная отсталость, низкий рост, судороги, ЗППР; МАР: микроцефалия, птоз, кифоз; гипоплазия мошонки.	46,XYqh+,r(18)(p?11.2q23) Кариотип после FISH: 46,XYqh+,r(18)(p11.23q23)	FISH: 46,XY.ish del(18)(MCG-T-01-)
12	2г5м	ЗППР, ЗФР, ВПС, низкий рост; МАР: эпикант, нистагм, катаракта, расщелины губы/нёба, деформир. ушн. раковины, микрогнатия, крипторхизм, гипоспадия.	47,XY,del(18)(p?11.2->pter),+mar[2]/46,XY,del(18)(p?11.2->pter)[18]	FISH: 46,XY.ish del(18)(MCG-T-01-) Кариотип после FISH: 47,XY,del(18)(p11.2->pter),+mar (derX)/46,XY,del(18)(p11.2->pter)
13	4г	ЗПМР, ЗППР, ВПС, мышечная гипотония; МАР: птоз, расщелины губы и нёба, деформир. ушные раковины, клинодактилия, синдактилия.	46,XX,del(18),1phqh, 1phqh Кариотип после FISH: 46,XY,del(18)(p11.21:)	FISH: 46,XY.ish del(18)(MCG-T-01-)
14	8л	Умственная отсталость, ЗППР, РАС, СДВГ; МАР: эпикант, деформир. ушн. раковины, микрогнатия; нефроптоз, аномалия шейного отдела позвоночника, ВПС.	46,XY,del(18)(p?11.1)	arr dup(7)(q11.22 q11.23)(71997191_72310480)x3,del(18)(p11.1)(18p11.32p11.21)(136226_15154053)x1
15	12л	Умственная отсталость, ЗППР, логопедические нарушения, МАР: телекант, катаракта, низко расположен. ушные раковины, короткая шея.	46,XX,del(18)(p11.2)	—

Примечание: * – оригинальное название ДНК пробы: pBRHS13 [23].

Note: * – original name of DNA sample: pBRHS13 [23].

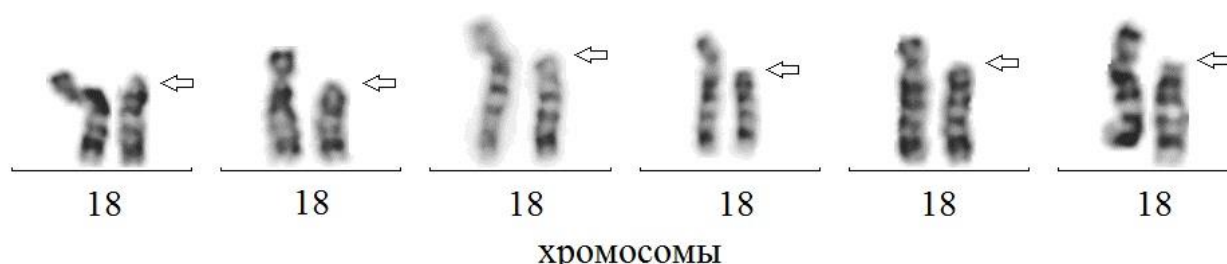


Рис. 3. Панель гомологов хромосомы 18 с делецией короткого плеча (18p-).

В правом гомологе хромосома 18p- указана стрелкой.

Fig. 3. The panel of homologous chromosomes 18 with short arm deletion (18p-).

The arrow (right homologue) shows chromosome 18p-

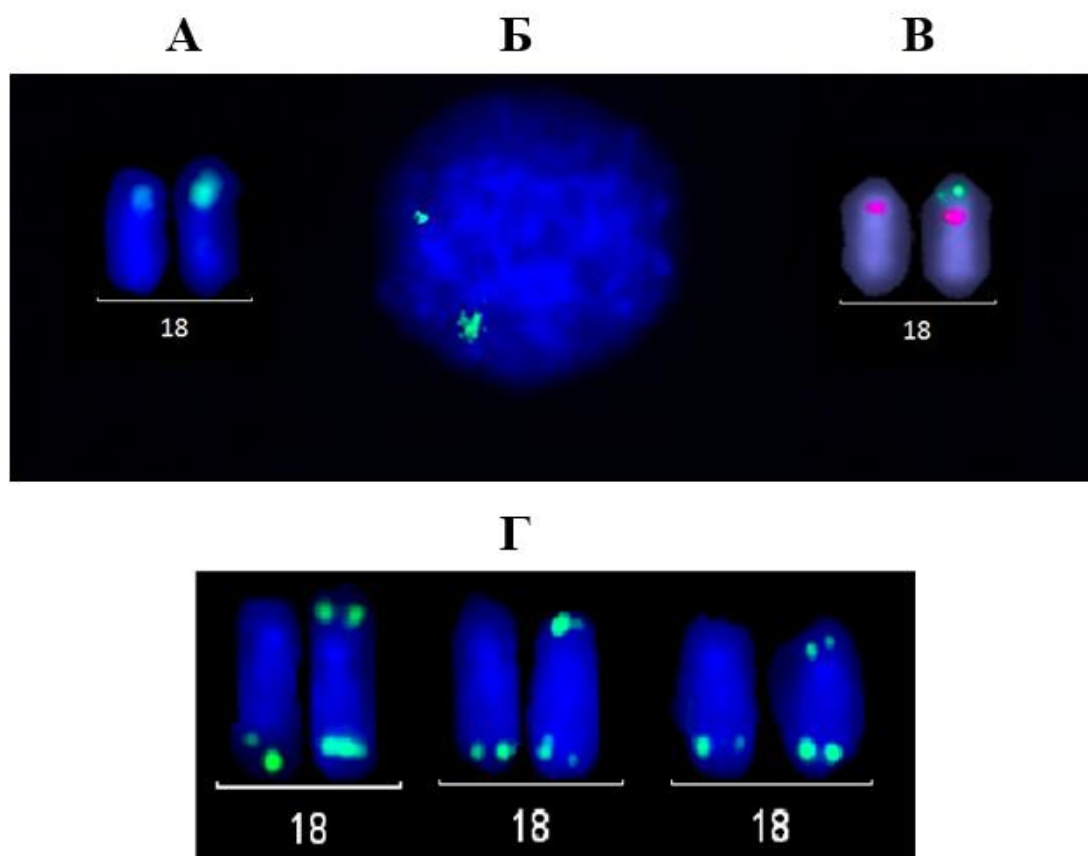


Рис. 4. Результаты FISH исследования пациентов с делецией короткого плеча хромосомы 18: а) исследование с ДНК пробой, метящей короткое плечо хромосомы 18 целиком (пейнтинговая проба рср), в левом гомологе заметно уменьшение сигнала; б) та же ДНК проба в интерфазном ядре, заметно уменьшение верхнего сигнала; в) исследование с ДНК пробой на субтеломерный участок короткого плеча хромосомы 18 (зеленые сигналы) и с центромерной ДНК пробой (розовые сигналы), сигнал на делетированной хромосоме 18 (левый гомолог) отсутствует; г) исследование с ДНК пробой на все теломеры: сигнал на делетированной хромосоме 18 (в левых гомологах панели из трёх кариотипов) отсутствует.

Fig. 4. Results of FISH analysis of patients with chromosome 18 short arm deletion: a) the analysis using DNA probe, labelling the whole short arm of chromosome 18 (painting probe pcp), the left homologue demonstrates notable decrease of signal; b) the same DNA probe in an interphase nucleus, the decrease of upper signal is notable; c) the analysis using DNA probe labelling chromosome 18 short arm subtelomeric region (green signals), and using centromeric DNA probe (pink signals), the signal in the deleted chromosome 18 (left homologue) is absent; d) the analysis using DNA probe labelling all telomeres: the signal in the deleted chromosome 18 (left homologues of the panel of 3 karyotypes) is absent

FISH исследования представлены в таблице и на рисунке 4. В качестве примера диагностики методом молекулярного кариотипирования можно привести 14й случай из таблицы у мальчика 8ми лет, которому были проведены цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое исследования. Клинические признаки у ребёнка были следующие: ЗППР, СДВГ, черты

аутизма, левосторонний нефроптоз, функциональные нарушения ЖКТ, синусовая тахикардия, диффузный зоб, аномалия шейного отдела позвоночника. Для поиска геномных аномалий и для уточнения точек разрыва при делеции 18р пробанду провели молекулярное кариотипирование (SNParay). Запись результатов молекулярного кариотипа (ISCN 2016):

arr[CRCh37]7q11.22q11.23(71997191_72310480)×3,18p11.32p11.21(136226_15154053)×1. Молекулярный анализ показывает, что в случае 14 утрачено практически всё короткое плечо хромосомы 18 (более 15 млн пар нуклеотидов). В полученных данных невозможно выявить критические участки, где локализованы гены, контролирующие синдром 18p-. Биоинформатический анализ выявил гены, связанные с отдельными клиническими признаками. В основном, это следующие гены: *AFG3L2*, *LPIN2*, *MC2R*, *SBDSP1*, частично ассоциированные с синдромом 18p-.

В результате молекулярного кариотипирования у данного пациента (табл. 1, случай 14) была не только подтверждена делеция 18p, но и выявлена микродупликация хромосомы 7, что, несомненно, внесло свой патологический вклад в клиническую картину пробанда. Известно, что размер всего короткого плеча хромосомы 18 – 16000000-16500000 пар нуклеотидов, включая гетерохроматин центромеры. В коротком плече хромосомы 18 содержится 118 генов, 57 из которых индексированы в базе данных OMIM. Выявленные у ребёнка гены лишь частично ассоциированы с клинической картиной. Необходимы дальнейшие молекулярно-цитогенетические исследования данного синдрома (18p-) с целью определения критических участков.

Результаты наших исследований демонстрируют, что (1) тяжесть клинических проявлений у пациентов с данным синдромом могут сильно варьировать в зависимости от точек разрыва при формировании делеции и, соответственно, от размера делетированного участка и локализованных в нём генов; (2) у пациентов с делецией 18p могут быть геномные аномалии, связанные с другими хромосомами, которые выявляются молекулярно-цитогенетическими методами (FISH, молекулярное кариотипирование), и эти аномалии могут; несомненно, вносить свой патологический вклад в клиническую картину; (3) необходимы дальнейшие молекулярно-цитогенетические исследования делеции короткого плеча хромосомы 18 для

определения критических участков при синдроме 18p-.

Заключение. Исследования синдрома 18p- показывают, что эта хромосомная аномалия клинически связана, прежде всего, с возможной аномалией мозга и с различными формами умственной отсталости у детей, а также с ВПР и МАР. При диагностике этого заболевания необходимо применение современных молекулярно-цитогенетических методов исследования. Возможные аномалии генома часто имеют небольшие размеры, не позволяющие увидеть их при стандартном кариотипировании, но они могут значительно влиять на клиническую картину, а в сочетании с другими нарушениями могут увеличить тяжесть патологических проявлений, что необходимо знать для корректного эффективного медико-генетического консультирования семьи, т.е. речь идёт о персонализированном подходе к обследованию больного ребёнка. При этом диагностические технологии данной патологии и возможности применения молекулярно-цитогенетических подходов к исследованию синдрома важны в изучении корреляций фенотип-генотип [14, 19, 21, 22, 25].

Проведение цитогенетических и молекулярно-цитогенетических исследований данной хромосомной патологии не только позволит точнее охарактеризовать данный синдром, но и определить молекулярные механизмы патологических процессов, связанных с умственной отсталостью и пороками мозга, выявить критические участки синдрома делеции (частичной моносомии) короткого плеча хромосомы 18.

Информация о финансировании

Работа была частично поддержана грантом РФФИ и СИТМА в соответствии с исследовательским проектом № 18-515-34005, ГОСЗАДАНИЕМ Минздрава России №. 121031000238-1, а также Правительственным заданием Министерства науки и высшего образования России №. АААА-А19-119040490101-6.

Financial support

The research was partially supported by RFBR and CITMA (Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente de la República de Cuba) according to the research project No. 18-515-34005, partially it was supported by the Government Assignment of the Russian Ministry of Health, Assignment 121031000238-1, and also by the Government Assignment of the Russian Ministry of Science and Higher Education, Assignment AAAA-A19-119040490101-6.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. De Grouchy J. The 18p, 18q and 18 syndromes. Birth defects Orig ArtSer; 1969:74-87.
2. Ворсанова СГ, Юров ЮБ, Чернышов ВН Медицинская цитогенетика (учебное пособие). М: «МЕДПРАКТИКА-М»; 2006.
3. Mello CB, Bueno OFA, Benedetto LM, et al. Intellectual, adaptive and behavioural characteristics in four patients with 18p deletion syndrome. Journal of Intellectual Disability Research. 2019;63(3):225-232. DOI: <https://doi.org/10.1111/jir.12568>
4. Hasi-Zogaj M, Sebold C, Heard P, et al. A review of 18p deletions. American Journal of Medical Genetics. Part C (Seminars in Medical Genetics). 2015;169(Is.3):251-264. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31445>
5. Yang A, Kim J, Cho SY, et al. A case of *de novo* 18p deletion syndrome with panhypopituitarism. Annals of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 2019;24(1):60-63. DOI: <https://doi.org/10.6065/apem.2019.24.1.60>
6. Turleau C. Monosomy 18 p. Orphanet Journal of Rare Diseases. 2008;3-4:5. DOI: <https://doi.org/10.1186/1750-1172-3-4>
7. Tekeli H, Kendirli MT, Şenol MG, et al. A case with 18p deletion and dystonia and review of the literature. Neurology Asia. 2015;20(3):287-290.
8. Sebold C, Soileau B, Heard PL, et al. Whole Arm Deletions of 18p: Medical and Developmental Effects American Journal of Medical Genetics. Part A. 2015;167(Is.2):313-323. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36880>
9. Kasasbeh FA, Shawabkeh MM, Hawamdeh AA Deletion of 18p Syndrome. Laboratory Medicine. 2011;42 (7):436-438. DOI: <https://doi.org/10.1309/LMAPLK2TVJBX5K9M>
10. Goyal M, Mayuri JM, Singhal S, et al. 18p deletion syndrome: Case report with clinical consideration and management. Contemporary Clinical Dentistry. 2017;8(4):632-636. DOI: https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_129_17
11. Crosiers D, Blaumeiser B, Van Goe-them G. Spectrum of Movement Disorders in 18p Deletion Syndrome. Movement Disorders. Clinical Practice. 2019;6(1):70-73. DOI: <https://doi.org/10.1002/mdc3.12707>
12. Демидова ИА, Ворсанова СГ, Куринная ОС, и др. Молекулярное кариотипирование хромосомных аномалий и вариаций числа копий последовательностей ДНК (CNVs) при идиопатических формах умственной отсталости и эпилепсии. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(2):172-197. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-2-0-3>
13. Balog J, Goossens R, Lemmers RJLF, et al. Monosomy 18p is a risk factor for facioscapulohumeral dystrophy. Movement Disorders. Clinical Practice. 2018;7:469-478. DOI: <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2017-105153>
14. Vorsanova SG, Kolotii AD, Kurinnaia OS, et al. Turner's syndrome mosaicism in girls with neurodevelopmental disorders: a cohort study and hypothesis. Molecular Cytogenetics. 2021;14(1):1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-021-00529-2>
15. Chen CP, Lin SP, Chern SR, et al. A 13-year-old girl with 18p deletion syndrome presenting Turner syndrome - like clinical features of short stature, short webbed neck, low posterior hair line, puffy eyelids and increased carrying angle of the elbows. Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology. 2018;57(4):583-587. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.06.019>
16. Sun H, Wan N, Wang X, et al. Genotype-phenotype analysis, neuropsychological assessment, and growth hormone response in a patient with 18p deletion syndrome. Cytogenetic and genome research. 2018;154(2):71-78. DOI: <https://doi.org/10.1159/000487371>
17. McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M. ISCN 2016: an international system for human cytogenomic nomenclature. Basel:

Karger; 2016. DOI:
<https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-06861-0>

18. McGowan-Jordan J, Hastings RJ, Moore S editors. ISCN 2020 – an international system for human cytogenomic nomenclature. Basel: Karger; 2020.

19. Ворсанова СГ, Юров ИЮ, Колотий АД, и др. Хромосомный мозаицизм в материале спонтанных аборт: интерфазный молекулярно-цитогенетический анализ 650 случаев. Генетика. 2010;46(10):1356-1359.

20. Yurov YB, Soloviev IV, Vorsanova SG, et al. High resolution multicolor fluorescence *in situ* hybridization using cyanine and fluorescein dyes: rapid chromosome identification by directly fluorescently labeled alphoid DNA probes. Human Genetics. 1996;97(3):390-398.

21. Ворсанова СГ, Юров ИЮ, Куринная ОС, и др. Геномные аномалии у детей с умственной отсталостью и аутизмом: использование технологии сравнительной геномной гибридизации на хромосомах *in situ* (HRCGH) и молекулярного кариотипирования на ДНК-микроматрицах (array CGH). Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2013;113(8):46-49.

22. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB, et al. The cytogenomic "theory of everything": chromohelkosis may underlie chromosomal instability and mosaicism in disease and aging. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(21):8328. DOI:
<https://doi.org/10.3390/ijms21218328>

23. Vorsanova SG, Yurov YB, Alexandrov IA, et al. 18p- Syndrome: an unusual case and diagnosis by *in situ* hybridization with chromosome 18-specific alphoid DNA sequence. Human Genetics. 1986;72:185-187.

24. Xu LJ, Wu LX, Yuan Q, et al. A case of 18p deletion syndrome after blepharoplasty. International medical case reports journal. 2017;10:15-18. DOI:
<https://doi.org/10.2147/IMCRJ.S123938>

25. Heard PL, Carter EM, Crandall AC, et al. High Resolution Analysis of 18q- Using Oligo-Microarray Comparative Genomic Hybridization (aCGH). American Journal of Medical Genetics. Part A. 2009;149(7):1431-1437. DOI:
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32900>

References

1. De Grouchy J. The 18p, 18q and 18 syndromes. Birth defects Orig ArtSer; 1969:74-87.

2. Vorsanova SG, Yurov YB, Chernyshov VN. Medical cytogenetics (training manual). M: "MEDPRACTICA-M"; 2006. Russian.

3. Mello CB, Bueno OFA, Benedetto LM, et al. Intellectual, adaptive and behavioural characteristics in four patients with 18p deletion syndrome. Journal of Intellectual Disability Research. 2019;63(3):225-232. DOI:
<https://doi.org/10.1111/jir.12568>

4. Hasi-Zogaj M, Sebold C, Heard P, et al. A review of 18p deletions. American Journal of Medical Genetics. Part C (Seminars in Medical Genetics). 2015;169(Is.3):251-264. DOI:
<https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31445>

5. Yang A, Kim J, Cho SY, et al. A case of *de novo* 18p deletion syndrome with panhypopituitarism. Annals of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 2019;24(1):60-63. DOI:
<https://doi.org/10.6065/apem.2019.24.1.60>

6. Turleau C. Monosomy 18 p. Orphanet Journal of Rare Diseases. 2008;3-4:5. DOI:
<https://doi.org/10.1186/1750-1172-3-4>

7. Tekeli H, Kendirli MT, Şenol MG, et al. A case with 18p deletion and dystonia and review of the literature. Neurology Asia. 2015;20(3):287-290.

8. Sebold C, Soileau B, Heard PL, et al. Whole Arm Deletions of 18p: Medical and Developmental Effects American Journal of Medical Genetics. Part A. 2015;167(Is.2):313-323. DOI:
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36880>

9. Kasasbeh FA, Shawabkeh MM, Hawamdeh AA Deletion of 18p Syndrome. Laboratory Medicine. 2011;42 (7):436-438. DOI:
<https://doi.org/10.1309/LMAPLK2TVJBX5K9M>

10. Goyal M, Mayuri JM, Singhal S, et al. 18p deletion syndrome: Case report with clinical consideration and management. Contemporary Clinical Dentistry. 2017;8(4):632-636. DOI:
https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_129_17

11. Crosiers D, Blaumeiser B, Van Goe-them G. Spectrum of Movement Disorders in 18p Deletion Syndrome. Movement Disorders. Clinical Practice. 2019;6(1):70-73. DOI:
<https://doi.org/10.1002/mdc3.12707>

12. Demidova IA, Vorsanova SG, Kurinaia OS, et al. Molecular karyotyping of chromosomal anomalies and copy number variations (CNVs) in idiopathic forms of intellectual disability and epilepsy. Research Results in Biomedicine. 2020;6(2):172-197. Russian. DOI:
<https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-2-0-3>

13. Balog J, Goossens R, Lemmers RJLF, et al. Monosomy 18p is a risk factor for faci-

oscapulohumeral dystrophy. Movement Disorders. Clinical Practice. 2018;7:469-478. DOI: <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2017-105153>

14. Vorsanova SG, Kolotii AD, Kurinnaia OS, et al. Turner's syndrome mosaicism in girls with neurodevelopmental disorders: a cohort study and hypothesis. Molecular Cytogenetics. 2021;14(1):1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-021-00529-2>

15. Chen CP, Lin SP, Chern SR, et al. A 13-year-old girl with 18p deletion syndrome presenting Turner syndrome - like clinical features of short stature, short webbed neck, low posterior hair line, puffy eyelids and increased carrying angle of the elbows. Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology. 2018;57(4):583-587. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.06.019>

16. Sun H, Wan N, Wang X, et al. Genotype-phenotype analysis, neuropsychological assessment, and growth hormone response in a patient with 18p deletion syndrome. Cytogenetic and genome research. 2018;154(2):71-78. DOI: <https://doi.org/10.1159/000487371>.

17. McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M. ISCN 2016: an international system for human cytogenomic nomenclature. Basel: Karger; 2016. DOI: <https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-06861-0>

18. McGowan-Jordan J, Hastings RJ, Moore S editors. ISCN 2020 – an international system for human cytogenomic nomenclature. Basel: Karger; 2020.

19. Vorsanova SG, Iourov IY, Kolotii AD, et al. Chromosomal Mosaicism in Spontaneous Abortions: Analysis of 650 Cases. Russian Journal of Genetics. 2010;46(10):1356-1359. Russian.

20. Yurov YB, Soloviev IV, Vorsanova SG, et al. High resolution multicolor fluorescence *in situ* hybridization using cyanine and fluorescein dyes: rapid chromosome identification by directly fluorescently labeled alphoid DNA probes. Human Genetics. 1996;97(3):390-398.

21. Vorsanova SG, Iurov Iu, Kurinnaia OS, et al. Genomic abnormalities in children with mental retardation and autism: the use of comparative genomic hybridization *in situ* (HRCGH) and molecular karyotyping with DNA-microchips (array CGH). Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni SS Korsakova. 2013;113(8):46-9.

22. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB, et al. The cytogenomic "theory of everything": chromohelkosis may underlie chromosomal instability and mosaicism in disease and aging. International Journal of Molecular Sciences.

2020;21(21):8328.

DOI:

<https://doi.org/10.3390/ijms21218328>

23. Vorsanova SG, Yurov YB, Alexandrov IA, et al. 18p- Syndrome: an unusual case and diagnosis by *in situ* hybridization with chromosome 18-specific alphoid DNA sequence. Human Genetics. 1986;72:185-187.

24. Xu LJ, Wu LX, Yuan Q, et al. A case of 18p deletion syndrome after blepharoplasty. International medical case reports journal. 2017;10:15-18. DOI:

<https://doi.org/10.2147/IMCRJ.S123938>

25. Heard PL, Carter EM, Crandall AC, et al. High Resolution Analysis of 18q- Using Oligo-Microarray Comparative Genomic Hybridization (aCGH). American Journal of Medical Genetics. Part A. 2009;149(7):1431-1437. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32900>

Список сокращений

ВПП – врождённые пороки развития

ВПС – врожденный порок сердца

ГЗПМР – грубая задержка психомоторного развития

ЗПМР – задержка психомоторного развития

ЗППР – задержка психоречевого развития

ЗРР – задержка речевого развития

ЗФР – задержка физического развития

МАР – микроаномалии развития

МВПП – множественные врождённые пороки развития

РАС – расстройства аутистического спектра

СДВГ – синдром дефицита внимания и гиперактивности

Статья поступила в редакцию 17 июня 2021 г.

Поступила после доработки 23 июля 2021 г.

Принята к печати 30 июля 2021 г.

Received 17 June 2021

Revised 23 July 2021

Accepted 30 July 2021

Информация об авторах

Светлана Григорьевна Ворсанова, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАЕ, заведующая лабораторией молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»; главный научный сотрудник

ник лаборатории молекулярной генетики и цитогеномики мозга им. профессора Ю.Б. Юрова ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: svorsanova@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4869-5361>.

Юрий Борисович Юров, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, заведующий лабораторией цитогенетики и геномики психических заболеваний ФГБНУ «Научный центр психического здоровья» (до 2017г); главный научный сотрудник лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» (до 2017 г), г. Москва, Российская Федерация, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9251-2286>.

Ирина Александровна Демидова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и цитогеномики мозга им. профессора Ю.Б. Юрова ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: demidovaia@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8143-7604>.

Виктор Сергеевич Кравец, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и цитогеномики мозга им. профессора Ю.Б. Юрова ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: victorskravets@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6345-3993>.

Алексей Дмитриевич Колотий, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной цитогене-

тики нервно-психических заболеваний ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и цитогеномики мозга им. профессора Ю.Б. Юрова ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: kolotiyad@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7672-588X>.

Кирилл Сергеевич Васин, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и цитогеномики мозга им. профессора Ю.Б. Юрова ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»; научный сотрудник лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: vasin-ks@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2799-3706>.

Илья Владимирович Соловьев, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории цитогенетики и геномики психических заболеваний ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: svorsanova@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5982-8983>.

Иван Юрьевич Юров, доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией молекулярной генетики и цитогеномики мозга им. профессора Ю.Б. Юрова ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»; главный научный сотрудник лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»; профессор кафедры медицинской генетики ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: ivan.iourov@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4134-8367>.

Information about the authors

Svetlana G. Vorsanova, Doct. Sci. (Biology), Professor, Honored Scientist of Russia, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of Laboratory «Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Disease» Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Principal Researcher of Laboratory named after Professor Y.B. Yurov Molecular Genetics and Cytogenomics of the Brain Mental Health Research Center, Moscow, Russia, E-mail: svorsanova@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4869-5361>.

Yuri B. Yurov, Doct. Sci. (Biology), Professor, Honored Scientist of Russia, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of Laboratory of Cytogenetics and Genomics of Mental diseases Mental Health Research Center (before 2017), Principal Researcher of Laboratory «Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases» Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University (before 2017), Moscow, Russia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9251-2286>.

Irina A. Demidova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of Laboratory «Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases» Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Leading Researcher of Laboratory named after Professor Y.B. Yurov Molecular Genetics and Cytogenomics of the Brain Mental Health Research Center, Moscow, Russia, E-mail: demidovaia@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8143-7604>.

Victor S. Kravets, Cand. Sci. (Biology), Researcher at Laboratory «Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases» Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Senior Researcher at Laboratory named after Professor Y.B. Yurov Molecular Genetics and Cytogenomics of the Brain Mental Health

Research Center, Moscow, Russia, E-mail: victorskravets@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6345-3993>.

Alexey D. Kolotii, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at Laboratory «Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases» Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Senior Researcher at Laboratory named after Professor Y.B. Yurov Molecular Genetics and Cytogenomics of the Brain Mental Health Research Center, Moscow, Russia, E-mail: kolotiyad@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7672-588X>.

Kirill S. Vasin, Cand. Sci. (Medicine), Researcher at Laboratory named after Professor Y.B. Yurov Molecular Genetics and Cytogenomics of the Brain Mental Health Research Center, Researcher at Laboratory «Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases» Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia, E-mail: vasin-ks@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2799-3706>.

Ilia V. Soloviev, Cand. Sci. (Medicine), Researcher of Laboratory of Cytogenetics and Genomics of Mental diseases Mental Health Research Center, Moscow, Russia, E-mail: svorsanova@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5982-8983>.

Ivan Y. Iourov, Doct. Sci. (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of Laboratory named after Professor Y.B. Yurov Molecular Genetics and Cytogenomics of the Brain Mental Health Research Center, Principal Researcher of Laboratory «Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Disease» Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Professor of the Medical Genetics Department of Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education, Moscow, Russia, E-mail: ivan.iourov@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4134-8367>.

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ
PHARMACOLOGY



DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-6

УДК 57.084.1

Correction of hypertensive retinal changes in rats with Semax

Sergey S. Lugovskoy¹ , Sofia S. Chernyaeva¹ , Anna A. Peresyphkina¹ ,
Anna S. Pobeda¹ , Nikolai V. Solovov² , Kristina V. Shchurovskaya¹ ,
Igor N. Iezhitsa³

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

² Ophthalmological Clinical Hospital - Ophthalmological Center,
42a Sadovaya St., Kursk, 305004, Russia

³ International Medical University,
126 Jln Jalil Perkasa 19, Bukit Jalil, 57000, Malaysia

Corresponding author: Anna A. Peresyphkina (peresyphkina_a@bsu.edu.ru)

Abstract

Background: Currently, there are no drugs for the specific treatment of hypertensive retinal changes. The main therapy is for the treatment of a systemic disease – hypertensive disease. Therefore, the search for ways of specific pharmacological correction of hypertensive retinal changes is of great interest. **The aim of the study:** To evaluate the correction possibility of retinal injuries with Semax in a rat model of hypertensive neuroretinopathy. **Materials and methods:** The model was performed by injection of N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) at a dose of 1.25 mg/100 g of rat mass within 28 days and a single increase in intraocular pressure (IOP) to 110 mmHg for 5 min. The retinoprotective effect of Semax at a dose of 7.2 µg/100 g of rat mass, in comparison with Picamilon at a dose of 3 mg/100 g of rat mass, was estimated by laser Doppler flowmetry (LDF) and electroretinography (ERG). **Results:** The use of Semax led to an increase in retinal perfusion by 62.7%, $p < 0.05$, in comparison with the group with the model, and by 9.9%, $p < 0.05$, in comparison with Picamilon; an increase in the b/a coefficient by 31.4% in comparison with the group with the model, $p < 0.05$, and by 14.6%, $p < 0.05$ in comparison with Picamilon. **Conclusion:** The neuroretinoprotective effect of Semax in correction of hypertensive retinal changes in rats may be due to the presence of neuroprotective, neurometabolic, antioxidant and endothelioprotective effects in Semax. Thus, Semax can be a promising agent in hypertensive neuroretinopathy treatment.

Keywords: Semax; hypertensive neuroretinopathy; rats; laser doppler flowmetry; electroretinography

For citation: Lugovskoy SS, Chernyaeva SS, Peresypkina AA, et al. Correction of hypertensive retinal changes in rats with Semax. Research Results in Biomedicine. 2021;7(3):272-280. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-6

Introduction. With long-term, advanced hypertensive disease, the target organs (retina, kidneys, brain) are affected. Hypertension can affect the eyes in several ways, including the development of retinopathy and optic neuropathy. Hypertension is a risk factor for other eye diseases, including occlusion of the central retinal artery (CRA) and its branches, macroaneurysms of the retinal arteries and others [1, 2].

Published data indicate a 3-14% prevalence of hypertensive retinopathy in patients over 40 years of age. The pathogenetic link of hypertensive retinopathy is retinal ischemia, which can lead to the optic nerve atrophy [3, 4, 5]. In 63 % of patients with hypertension, there are manifestations of hypertensive angiopathy. Vascular endothelium is attributed to the most early damaged target organ in hypertension, as well as to the cause of increased blood pressure [6, 7].

Special interest is paid to the development of short-chain peptide drugs for the cytoprotection [8, 9, 10, 11, 12], in particular, neuroprotection [13, 14]. One of the actively studied classes of peptide regulators are melanocortins, which accelerate regeneration in the neuromuscular system, have a protective effect on damage to the central nervous system. Melanocortins have hormonal activity, positive effect on the development of the nervous system, etc. This class of peptides includes an analog of adrenocorticotrophic hormone (ACTH)₍₄₋₁₀₎ with prolonged action Semax. To date, Semax is the only widely used in clinic neurotropic drug developed on the basis of melanocortins. Semax has no hormonal activity and retains a significant part of the spectrum of neurotropic effects of natural melanocortins. The heptapeptide Semax is a synthetic analogue of ACTH₍₄₋₁₀₎ which exerts marked nootropic and neuroprotective activities [15], protects effectively the brain against ischemic stroke [14]. Semax promotes the survival of neurons during glutamate excitotoxicity [16], protects against the

optic nerve atrophy and optic neuritis of inflammatory or toxic-allergic etiology [17].

At present, the spectrum of physiological and pharmacological activity of Semax is actively being studied, because many aspects of the therapeutic effects of this drug remain unknown. Based on literature data, tripeptide Pro-Gly-Pro (PGP) was predominant in a mixture of Semax derivatives in rat blood plasma and brain tissues just 1 h after intraperitoneal administration of Semax [18]. Independent effects of PGP were revealed recently, including an effect on cell culture survival in oxidative stress [19]. The effect of Semax and PGP previously was shown on the expression of genes that encode neurotrophic factors and their receptors in a model of brain ischemia in rats [20]. However, despite the advances described above, the molecular mechanisms underlying the Semax neuroprotective action and the degree of PGP participation in them remain obscure [15].

In cerebral ischemia, Semax showed neuroprotective, neurometabolic and antioxidant effects, and also promotes the synthesis of BDNF and NGF in the brain [13]. It was shown that Semax and PGP increased proliferation of the neuroglia, endothelium, and progenitor cells in the subventricular zone. Semax influences the genes expression associated with the vasodilation of arteries. It was shown that capillary bore dilation was observed as early as 15 min after the administration of Semax [20].

Under transient middle cerebral artery occlusion (tMCAO) conditions, it was found that Semax initiated mRNA expression that counteracted ischaemia-reperfusion (IR). In particular, Semax suppressed inflammatory and activated neurotransmitter genes, whereas the genetic response initiated by IR activates inflammatory and suppresses neurotransmitter genes. It was revealed that significant compensation effects of Semax peptide on inflammatory and neurotransmitter genetic responses after tMCAO, which may account for

the neuroprotective action of Semax under IR conditions. Thus, an important feature of Semax is the normalization of mRNA expression patterns that are disturbed during ischaemia [21].

An important feature of Semax is the speed of the onset of the therapeutic effect, the absence of drug dependence and withdrawal syndrome. After intranasal administration, Semax penetrates the blood-brain barrier within a few minutes, and with a single administration, the therapeutic effect lasts up to 24 hours. The prolonged action of Semax is due to its sequential transformation, while most of the properties of the drug are preserved in its fragments EHFGP and HFGP. These fragments are quite stable and independently modulate cholinergic neurotransmission and nitric oxide synthesis [13].

Intranasal administration of Semax over the 7-day treatment course resulted in a 25% decrease of infarct volume in the prefrontal cortex and cognitive function recovery over the long term [22]. Recently, it was shown that Semax activates and induces PGC-1 α in the penumbral neurons in a model of focal ischemia and exert neuroprotective effects through these mechanisms. The target molecule – the PGC-1 α transcriptional coactivator is known for its pleiotropic potentiating effect on neuron viability and functionality. This study was performed in a model of photochemically induced thrombosis of prefrontal cortex blood vessels, mimicking the pathogenesis of acute ischemic stroke. Indeed, on the third day after photochemical-induced thrombosis, signs of degenerative changes in the microcirculatory bed were detected, such as multiple hemorrhages, pronounced vasodilation, and erythrocyte stasis. Secondary post-stroke perfusion disturbances led to a significant progression of the penumbra, while the administration of Semax limited the disturbances of peri-infarction microcirculation observed after photochemical-induced thrombosis [23].

The intramuscular injection of Semax at a dose of 200 μ g/kg for 10 days in animals with diabetes did not significantly influence the content of circulating endothelial cells and

stable metabolites of NO, but the concentration of von Willebrand factor and endothelin-1 was significantly reduced (by 16.8 and 15.4%, respectively, $p < 0.01$) as compared to the control [24].

In addition, it was shown that the administration of Semax had antioxidant action and caused the increase in the antioxidant enzymes activity in a model of diabetes mellitus. Under the influence of Semax, the content of ceruloplasmin was lower. The administration of Semax and Sulodexid had antioxidant action, similar to Semax injection only. The decrease in the content of malondialdehyde was 17.8% ($p < 0.01$), and acylhydroperoxides – by 28.4% ($p < 0.01$). The drug had a stimulating action on the activity of superoxide dismutase (SOD) (by 32.7% compared to the control, $p < 0.01$) and catalase – by 23.6% ($p > 0.05$). The received results show the antioxidant action of Semax in diabetes mellitus and confirm the prospect of their use in the endothelial dysfunction correction as a separate drug or in the combination with some other endothelioprotectors [25].

Studying the new perspective ways of neuroprotection in retinal injuries, in particular, developing in hypertension, is of great interest [26]. Therefore, an important task is to find specific and effective agents for treatment of hypertensive neuroretinopathy. To study the new pharmacological properties of drugs, it is necessary to conduct further studies in vivo [27, 28, 29, 30] on the adequate experimental pathology models [31].

Thus, it is perspective to study the possibility of pharmacological correction of hypertensive retinal changes with Semax in laboratory rats.

The aim of this research is to evaluate the correction possibility of retinal injuries with Semax in a rat model of hypertensive neuroretinopathy.

Materials and Methods

Animals. The experiments were conducted on 40 Wistar rats of average weight 250 g. For the study, the healthy animals were taken, having passed the quarantine. Ethical principles of conducting experiments on laboratory rats were observed in accordance

with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes, CETS No. 123. Manipulations on animals were performed under general anaesthesia with intraperitoneal (i.p.) administration of chloral hydrate solution at a dose of 30 mg/100 g of rat mass.

Design of the Experiment. The experiment included the following groups:

1) a control (with i.p. saline for 28 days) (n = 10);

2) a group with simulated hypertensive neuroretinopathy (HNRP) (n = 10);

3) a group with Semax at a dose of 7.2 µg/100 g in the model of HNRP (n = 10);

4) a group with Picamilon at a dose of 3 mg/100 g in the model of HNRP (n = 10).

HNRP simulation was conducted by daily i.p. administration of N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) (Sigma, Germany) at a dose of 1.25 mg/100 g of rat mass in a solution form within 28 days and a single increase in intraocular pressure (IOP) to 110 mmHg by applying mechanical pressure to the anterior chamber of the eye for 5 min on the 26th day of the experiment [26]. The increase in IOP was conducted under general anaesthesia (i.p. chloral hydrate, 30 mg/100 g of rat mass).

For the study, Semax nasal drops, 0.1% (PEPTOGEN Innovative Research and Production Center) were used. In diseases of the optic nerve, Semax is instilled 2-3 drops in each nasal passage 2-3 times/day. The daily dose is 600-900 µg. The course of treatment is 7-10 days [32]. 1 drop of the standard solution contains 50 µg of the active substance, 0.05 ml of the solution. The conversion factor for an adult with a body weight of 70 kg is 39. For a rat weighing 250 g, the conversion factor is 7.0. Thus, the estimated dose (ED) of Semax was calculated:

$$ED_{vol} = 0.9 \cdot 39 / 70 \cdot 7 = 0,072 \text{ (ml/kg/day)}$$

$$ED_m = 0.072 \cdot 50 / 0.05 = 72 \text{ (µg/kg/day)} = 7.2 \text{ (µg/100 g/day)}$$

A solution of nasal drops was administered into the nasal cavity using a micropipette once a day daily for 7 days, from the 22nd to the 28th days of the experiment.

The administration of Picamilon (a reference drug) at a dose of 3 mg/100 g (Pharmstandard-UfaVITA JSC, Russia) was conducted 60 minutes before L-NAME administration, from the 22nd to the 28th days of the experiment, inclusive. Picamilon was daily administered intragastrically (i.g.). The choice of Picamilon as a reference drug in the hypertensive neuroretinopathy model, the dose and route of its administration to rats is based on its effectiveness in previously conducted experimental studies at the Research Institute of Pharmacology of Living Systems (BelSU) and published data [26].

The effectiveness of the pharmacological correction with Semax and Picamilon was evaluated on the 29th day of the experiment by the b/a coefficient and retinal microcirculation level.

Laser Doppler Flowmetry. 72 hours after the increase in IOP, the retinal perfusion in rats was measured by LDF. LDF is a non-invasive method for assessing the blood flow in tissues. In LDF, a coherent laser beam illuminates the vascular tissue and measures the Doppler shift caused by the movement of red blood cells. The movement of red blood cells causes a shift in the frequency of scattered light, and the walls of the vessels produce static scattering without any shift in the frequency of light and serve as a reference signal. The registration was performed using MP150 production Biopac System, Inc. (Goleta, USA), a computer-based data acquisition system with the AcqKnowledge 4.2 software, and a TSD-144 needle-type sensor (Biopac System, Inc., Goleta, USA). After the rats were anaesthetized, the retinal perfusion was measured at 10 points on the circumference of the eye [4].

Electroretinography. ERG is the electrical response of the retina to light stimulation. A flash of light causes a two-phase negative-positive waveform. Wave a, which occurs at the photoreceptor level, is the initial large negative wave. The b wave that occurs

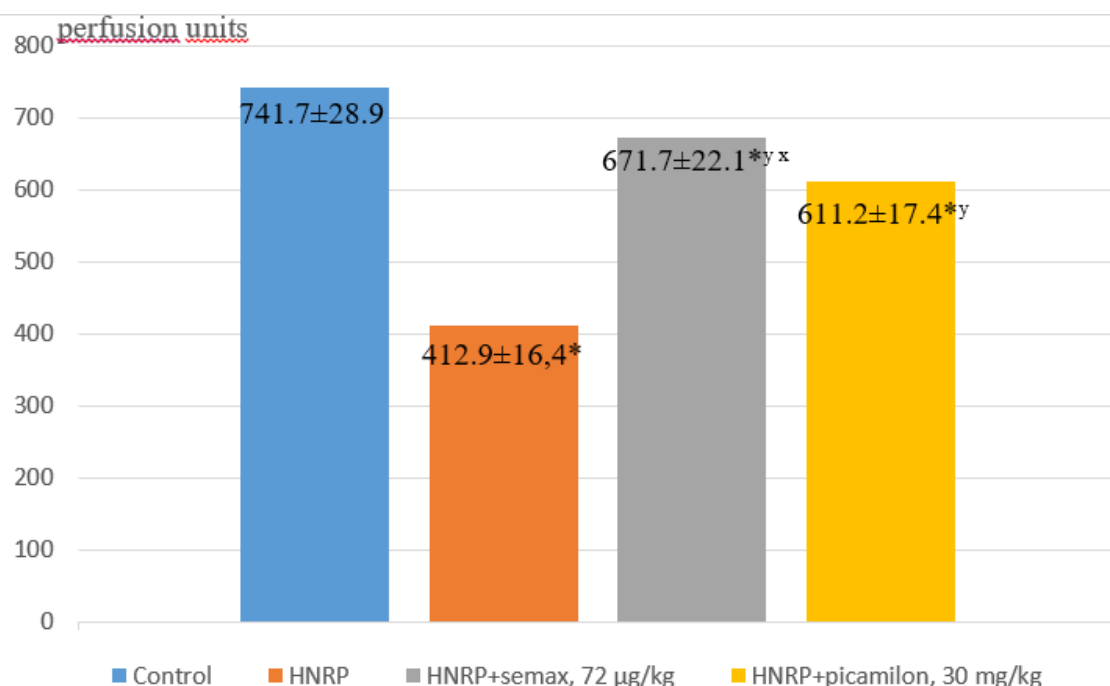
in the inner retina is the next big positive component. The effects of drug therapy can be detected and quantified using ERG [33]. The assessment of retinal functional activity was conducted with a- and b-wave amplitudes. ERG was performed in rats with our previously published method [2, 4]. The ratio of the amplitudes of the b- and a-waves, the b/a coefficient, was calculated.

Statistical Data Processing. The data were checked for type of distribution. In normal distribution, the average value (M) and standard error of the mean (m) were calculated. In abnormal distribution, the median (Me) and the quartile range (QR) were calculated. Between-group differences were analyzed by parametric (t-Student criterion) or non-parametric (Mann-Whitney U-test) methods. The differences were determined at a 0.05 significance level. The statistical analyses were performed using Statistica 10.0 software.

Results.

LDF results. Results of retinal microcirculation evaluation are presented in Figure 1. In the group with the HNRP simulation, the retinal perfusion decreased by 44.3% ($p < 0.05$) in comparison with the control. When correcting HNRP with Semax at a dose of $7.2 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, perfusion level differed significantly (by 9.4%, $p < 0.05$) from the mean value of the control group, increased by 62.7% ($p < 0.05$) in comparison with the group with HNRP and differed significantly (by 9.9%, $p < 0.05$) from the mean of the group with Picamilon at a dose of $3 \text{ mg}/100 \text{ g}$.

When correcting HNRP with Picamilon, the microcirculation level in the retina differed significantly (by 17.6%, $p < 0.05$) from the mean of the control group, increased by 48.0% ($p < 0.05$) in comparison with the group with HNRP simulation.



HNRP – hypertensive neuroretinopathy; * $p < 0.05$ compared to the control;
^y $p < 0.05$ compared to the group with simulated hypertensive neuroretinopathy;
^x $p < 0.05$ compared to the group with Picamilon

Fig. 1. Retinal microcirculation level in experimental groups

Results of the ERG, and b/a Counting. The influence of Semax and Picamilon on the values of amplitudes of a- and b-waves in

groups is presented in Table 1. Further, the b/a coefficient was calculated, the values of which are presented in Table 2. In the group

with HNRP simulation, the b/a coefficient decreased by 26.8% in comparison with the control group ($p < 0.05$). Against the background of Semax, the b/a coefficient increased by 31.4% in comparison with the group with no treatment ($p < 0.05$), and by 14.6% in com-

parison with the group with Picamilon ($p < 0.05$). In the group with Picamilon, the b/a coefficient did not reach the target values, but increased by 14.7% in comparison with the group with no treatment ($p < 0.05$).

Table 1

Influence of Semax and Picamilon on the a- and b- wave amplitudes when correcting experimental hypertensive neuroretinopathy ($M \pm m$; $n = 10$), mV

Experimental Groups	The a-Wave Amplitude ($n = 10$)	The b-Wave Amplitude ($n = 10$)
Control	0.36 ± 0.03	0.94 ± 0.07
HNRP	0.34 ± 0.02	$0.65 \pm 0.05^*$
HNRP+Semax, 7.2 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$	0.35 ± 0.03	0.88 ± 0.07^y
HNRP+Picamilon, 3 mg/100 g	0.36 ± 0.04	$0.79 \pm 0.06^{*y}$

Note: HNRP – hypertensive neuroretinopathy; * $p < 0.05$ compared to the control; $^y p < 0.05$ compared to the group with simulated HNRP; $^x p < 0.05$ compared to the group with Picamilon.

Table 2

Influence of Semax and Picamilon on the value of the b/a coefficient when correcting experimental hypertensive neuroretinopathy ($M \pm m$; $n = 10$), R.U.

Experimental Groups	b/a ($n = 10$)
Control	2.61 ± 0.08
HNRP	$1.91 \pm 0.06^*$
HNRP+Semax, 7.2 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$	2.51 ± 0.12^{yx}
HNRP+Picamilon, 3 mg/100 g	$2.19 \pm 0.11^{*y}$

Note: R.U. – relative units; HNRP – hypertensive neuroretinopathy; * $p < 0.05$ compared to the control; $^y p < 0.05$ compared to the group with simulated HNRP; $^x p < 0.05$ compared to the group with Picamilon.

In our opinion, the protective effect of Semax in correction of hypertensive retinal changes in rats may be associated with the presence of neuroprotective, neurometabolic antioxidant and endothelioprotective effects in Semax. Based on the obtained data of the retinal perfusion in the animal groups in the model of hypertensive neuroretinopathy, it follows that a positive effect on the state of the retinal perfusion in descending order has Semax at a dose of 7.2 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, then Picamilon at a dose of 3 mg/100 g. Based on the obtained values of the b/a coefficient, it follows that a positive effect on the electrophysiological state of the retina in the correction of hypertensive neuroretinopathy in descending order has Semax at a dose of 7.2 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, then Picamilon at a dose of 3 mg/100 g.

It is well known, that the key link in the pathogenesis of endothelial dysfunction is NO deficiency, and the use of drugs that increase NO production has an endothelioprotective effect. Oxidative stress in the retina, which

occurs in hypertensive neuroretinopathy, leads to a decrease in NO production, acceleration of its breakdown, and suppression of the expression of endothelial NO synthase (eNOS) [34]. The reasons for the decrease in bioavailability of NO under oxidative stress are an increased level of dimethylarginine formation, which is an endogenous competitive inhibitor of eNOS, as well as a violation of the penetration of L-arginine into endothelial cells under the influence of oxidized low-density lipoproteins [35]. In connection with the above, the study of the retinoprotective effect of Semax as a potential corrector of endothelial dysfunction is of particular interest in the model of hypertensive neuroretinopathy.

It is planned to study endothelioprotective effect of Semax at a dose of 7.2 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ of rat mass in the retinal vessels in correction of hypertensive retinal changes in rats using immunohistochemistry, namely the influence on eNOS expression.

Conclusion. Thus, when correcting HNRP with Semax at a dose of 7.2 µg/100 g, retinal perfusion increased by 62.7% ($p < 0.05$) in comparison with the group with no correction and differed significantly (by 9.9%, $p < 0.05$) from the mean value of the group with Picamilon at a dose of 3 mg/100 g.

In the group with Semax, the b/a coefficient increased by 31.4% in comparison with the group with no correction ($p < 0.05$), and by 14.6% in comparison with the group with Picamilon ($p < 0.05$). Therefore, Semax can be a promising agent in the treatment of hypertensive neuroretinopathy.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Fraser-Bell S, Symes R, Vaze A. Hypertensive eye disease: a review. *Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2017;45(1):45-53. DOI: <https://doi.org/10.1111/ceo.12905>
2. Akbar S, Akram MU, Sharif M, et al. Arteriovenous ratio and papilledema based hybrid decision support system for detection and grading of hypertensive retinopathy. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 2018;154:123-141. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2017.11.014>
3. Stryjewski TP, Papakostas TD, Vavvas D. Proliferative Hypertensive Retinopathy. *Journal of the American Medical Association ophthalmology*. 2016;134(3):345-346. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2015.5583>
4. Peresyphkina A, Pazhinsky A, Danilenko L, et al. Retinoprotective Effect of 2-Ethyl-3-hydroxy-6-methylpyridine Nicotinate. *Biology (Basel)*. 2020;9(3):45. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology9030045>
5. Bhargava M, Ikram MK, Wong TY. How does hypertension affect your eyes? *Journal of human hypertension*. 2012;26(2):71-83. DOI: <https://doi.org/10.1038/jhh.2011.37>
6. Konstantinidis L. Hypertension and the eye. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2016;27(6):514-521. DOI: <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000307>
7. Kolman SAM, van Sijl AM, van der Sluijs FA, et al. Consideration of hypertensive retinopathy as an important end-organ damage in patients with hypertension. *Journal of Human Hypertension*. 2017;31(2):121-125. DOI: <https://doi.org/10.1038/jhh.2016.49>
8. Antsiferov OV, Korokin MV, Gureev VV, et al. Eleven-amino acid peptides that mimic the erythropoietin α -helix B increases cell survival in endotheliocyte culture. *Archivos Venezolanos de Farmacologia y Terapeutica*. 2020;39(5):533-537. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4155554>
9. Golubev IV, Gureev VV, Korokin MV, et al. Endothelial protective properties of short-chain peptides that mimic α -helix b of erythropoietin in experimental preeclampsia. *Archivos Venezolanos de Farmacologia y Terapeutica*. 2020;39(5):573-577. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4265179>
10. Korokin M, Gureev V, Gudyrev O, et al. Erythropoietin Mimetic Peptide (pHSP) Corrects Endothelial Dysfunction in a Rat Model of Preeclampsia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(18):6759. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21186759>
11. Pokrovskii MV, Soldatov VO, Zatulokina MA, et al. Relation of EPOR/CD131-mediated neuroprotection with modulated gene expression of autophagy, apoptosis, neuroinflammation and neural regeneration in rats under chronic ethanol exposure conditions. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2021;84(2):91-98. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2021-84-2-91-98>
12. Korokin MV, Soldatov VO, Tietze AA, et al. 11-amino acid peptide imitating the structure of erythropoietin α -helix b improves endothelial function, but stimulates thrombosis in rats. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(6):312-320. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2019-7-6-312-320>
13. Gusev EI, Martynov MY, Kostenko EV, et al. The efficacy of Semax in the treatment of patients at different stages of ischemic stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2018;118(3. Vyp. 2):61-68. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/jnevro20181183261-68>
14. Medvedeva EV, Dmitrieva VG, Limborska SA, et al. Semax, an analog of ACTH((4-7)), regulates expression of immune response genes during ischemic brain injury in rats. *Molec-*

ular Genetics and Genomics. 2017;292(3):635-653. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00438-017-1297-1>

15. Glazova NY, Manchenko DM, Volodina MA, et al. Semax, synthetic ACTH(4-10) analogue, attenuates behavioural and neurochemical alterations following early-life fluvoxamine exposure in white rats. *Neuropeptides*. 2020;86:102114. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.npep.2020.102114>

16. Storozhevyykh TP, Tukhbatova GR, Senilova YE, et al. Effects of Semax and its Pro-Gly-Pro fragment on calcium homeostasis of neurons and their survival under conditions of glutamate toxicity. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2007;143(5):601-604. DOI: [10.1007/s10517-007-0192-x](https://doi.org/10.1007/s10517-007-0192-x)

17. Polunin GS, Nurieva SM, Baiandin DL, et al. Evaluation of therapeutic effect of new Russian drug Semax in optic nerve disease. *Vestnik Oftalmologii*. 2000; 116(1):15-18. Russian.

18. Dolotov OV, Zolotarev IA, Dorokhova EM, et al. The binding of Semax, ACTH 4–10 heptapeptide, to plasma membranes of the rat forebrain basal nuclei and its biodegradation. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2004;30(3):241-246. Russian. DOI: [http://doi.org/10.1023/b:rubi.0000030127.46845.f0](https://doi.org/10.1023/b:rubi.0000030127.46845.f0)

19. Martynova KV, Andreeva LA, Klimova PA, et al. Structural-functional study of glycine- and proline-containing peptides (glyprolines) as potential neuroprotectors. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2009;35(2):165-171. DOI: [http://doi.org/10.1134/s1068162009020022](https://doi.org/10.1134/s1068162009020022)

20. Stavchansky VV, Yuzhakov VV, Botsina AY, et al. The effect of Semax and its C-end peptide PGP on the morphology and proliferative activity of rat brain cells during experimental ischemia: a pilot study. *Journal of Molecular Neurosciences*. 2011;45(2):177-185. DOI: [http://doi.org/10.1007/s12031-010-9421-2](https://doi.org/10.1007/s12031-010-9421-2)

21. Filippenko IB, Stavchansky VV, Denisova AE, et al. Novel Insights into the Protective Properties of ACTH(4-7)PGP (Semax) Peptide at the Transcriptome Level Following Cerebral Ischaemia-Reperfusion in Rats. *Genes*. 2020;11:681. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes11060681>

22. Tang Y, Le W. Differential roles of M1 and M2 microglia in neurodegenerative diseases. *Molecular Neurobiology*. 2015;53:1181-1194. DOI: [http://doi.org/10.1007/s12035-014-9070-5](https://doi.org/10.1007/s12035-014-9070-5)

23. Shakova FM, Kirova YI, Silachev DN, et al. Protective Effects of PGC-1 α Activators on Ischemic Stroke in a Rat Model of Photochemically Induced Thrombosis. *Brain Sciences*. 2021;11:325. DOI: <https://doi.org/10.3390/brainsci11030325>

24. Elagina AA, Lyashev YuD, Artyushkova EB, et al. Peptide preparations protect endothelium against dysfunction caused by diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2020;83(11):12-15. Russian. DOI: [http://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-11-12-15](https://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-11-12-15)

25. Elagina AA, Lyashev YuD, Artyushkova EB, et al. Antioxidant effect of peptide drugs in diabetes mellitus. *Vestnik NovSU*. 2020;4(120):70-74. Russian. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2020.4\(120\).70-74](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2020.4(120).70-74)

26. Gubareva VO, Pazhinsky AL, Zhernakova NI, et al. Protective effects of 11-amino acid darbepoetin fragment in the experimental hypertensive neuroretinopathy. *Drug Invention Today*. 2019;12(11):2726-2730.

27. Alrashdi SF, Deliyanti D, Wilkinson-Berka JL. Intravitreal administration of endothelin type A receptor or endothelin type B receptor antagonists attenuates hypertensive and diabetic retinopathy in rats. *Experimental Eye Research*. 2018;176:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.06.025>

28. Reichhart N, Haase N, Crespo-Garcia S, et al. Hypertensive retinopathy in a transgenic angiotensin-based model. *Clinical Science*. 2016;130(13):1075-1088. DOI: <https://doi.org/10.1042/CS20160092>

29. Li Y, Wang Q, Muir ER, et al. Retinal Vascular and Anatomical Features in the Spontaneously Hypertensive Rat. *Current Eye Research*. 2020;45(11):1422-1429. DOI: <https://doi.org/10.1080/02713683.2020.1752738>

30. McDonald L, Lee GR, Degooey TE, et al. Effects of an endothelin receptor antagonist on a model of hypertensive retinopathy. *Ophthalmic Research*. 2010;43(2):99-107. DOI: <https://doi.org/10.1159/000247594>

31. Peresypkina AA, Pazhinsky AL, Pobeda AS, et al. The development of hypertensive neuroretinopathy model. *Indo American journal of pharmaceutical sciences*. 2017;4(10):3695-3700. DOI: [http://doi.org/10.5281/zenodo.1019417](https://doi.org/10.5281/zenodo.1019417)

32. Vidal [Internet]. [cited 2021 March 19]. Available from: https://www.vidal.ru/drugs/Semax__28676

33. Creel DJ. Electroretinograms. Handbook of Clinical Neurology. 2019;160:481-493. DOI: <http://doi.org/10.1016/B978-0-444-64032-1.00032-1>

34. Peresypkina AA, Pokrovskii MV, Gubareva VO, et al. Protective effect of carbamylated darbepoetin on the model of ischemic neuropathy of the optic nerve in rats. Experimental and Clinical Pharmacology. 2018;81:8-13. Russian. DOI: <http://doi.org/10.30906/0869-2092-2018-81-7-8-13>

35. Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: the Uber marker? Circulation. 2004;109(7):1813-1818. DOI: 10.1161/01.CIR.0000126823.07732.D5

Received 24 March 2021

Revised 22 May 2021

Accepted 4 June 2021

Information about the authors

Sergey S. Lugovskoy, Post-graduate Student in scientific specialty 14.03.06 – Pharmacology, Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: lug90@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5726-220X>.

Sofia S. Chernyaeva, Post-graduate Student in scientific specialty 14.03.06 – Pharmacology, Clinical Pharmacology, Belgorod State National

Research University, Belgorod, Russia, E-mail: sonyachernyaeva@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3937-2472>.

Anna A. Peresypkina, Doct. Sci. (Biology), Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: peresypkina_a@bsu.edu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2829-9860>.

Anna S. Pobeda, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: pobeda@bsu.edu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0541-8946>.

Nikolai V. Solovev, Ophthalmologist at the Consultative and Polyclinic Department, Ophthalmological Clinical Hospital – Ophthalmological Center, Kursk, Russia, E-mail: morkovkapro@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3824-9181>.

Kristina V. Shchurovskaya, Post-graduate Student in scientific specialty 14.03.06 – Pharmacology, Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: kristinka-i@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8205-750X>.

Igor N. Iezhitsa, Dr Sci Biol, PhD, Professor at the Department of Pharmacology & Therapeutics, School of Medicine of the International Medical University, Kuala Lumpur, Federal Territory of Kuala Lumpur, Malaysia, E-mail: iezhitsa@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2852-8486>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-7

УДК 615.076

Спектр фармакологической активности разных групп природных соединений листьев лавра обыкновенного и выбор оптимального экстрагента для извлечения эфирного масла из них

Ю.Е. Полоусова¹ , Д.И. Писарев² , О.О. Новиков² , Р.А. Абрамович² ,
К.М. Саканян³

¹ Закрытое акционерное общество «БИОКАД»,

ул. Тестовская, д. 10, г. Москва, 123317, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение

высшего образования «Российский университет дружбы народов»,

ул. Миклухо-Маклая, д. 6, г. Москва, 117198, Российская Федерация

³ Министерство здравоохранения Российской Федерации,

Рахмановский пер, д. 3, г. Москва, 127994, Российская Федерация

Автор для переписки: Д.И. Писарев (juniper05@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Лавр благородный – *Laurus nobilis* L., растение, листья которого широко используются в кулинарии и находят применение в народной медицине. Листья *L. nobilis* L. содержат более 80 летучих компонентов, представленных в основном моноциклическими монотерпенами. Выявление всё новых терапевтических свойств растения свидетельствует о неполноте нераскрытом его терапевтическом потенциале. Однако, несмотря на внушительный терапевтический потенциал у растения, в отечественной научной медицине его не используют. **Цель исследования:** Описание спектра видов фармакологической активности *L. nobilis* L. и выбор оптимального экстрагента для извлечения эфирного масла из листьев исследуемого объекта. **Материалы и методы:** В качестве исследуемого материала использовались листья лавра. Эфирное масло из листьев получали экстракцией фреонами, в качестве которых выбраны метоксинонафторбутан и фторкетон. Экстрагентом сравнения являлся н-гексан. Методом исследования эфирных масел явилась хромато-масс-спектрометрия. Хроматографирование проводили на газовом хроматографе – масс-спектрометре – *GCMS-QP2010 Ultra*, «Shimadzu», Япония. Ионизация осуществляется в режиме электронного удара, детекция по полному ионному току (SCAN) в режиме программируемых температур. **Результаты:** Согласно литературным данным, эфирное масло листьев *L. nobilis* L. обладает выраженным антибактериальным, антиоксидантным и противовоспалительным действием. Полифенольные соединения листьев *L. nobilis* L., представлены флавоноидами, производными кемпферола и кверцетина. При этом считается, что флавоноиды

ответственны за гипогликемический, инсулярнопротекторный, антиоксидантный эффекты. Результаты хроматографирования показали, что эфирное масло представлено в основном 12 соединениями, доминирующими из которых оказались 1,8-цинеол (эвкалиптол), альфа-терпенилацетат и метилэвгенол. В ходе хроматографирования также установлено, что оптимальным экстрагентом является метоксинонафторбутан, экстрагирующий терпеноиды с наибольшим выходом. Показана перспективность использования фреонов в качестве агентов для получения эфирного масла из листьев лавра благородного. Методом хромато-масс-спектрометрии определён состав эфирного масла, выделенного фреонами из листьев лавра благородного. Результаты хроматографирования показали, что в полученных фреоновых извлечениях, доминирующими оказались 1,8-цинеол (эвкалиптол), альфа-терпенилацетат и метилэвгенол, что близко по составу к нативному эфирному маслу, согласно литературным данным.

Заключение: Показана перспективность использования фреонов в качестве агентов для получения эфирного масла из листьев лавра благородного. В ходе хроматографирования установлено, что оптимальным экстрагентом является метоксинонафторбутан, экстрагирующий летучие компоненты с наибольшим выходом, по сравнению с фторкетонами и н-гексаном, кроме того, метоксифторбутан нетоксичен по сравнению с н-гексаном.

Ключевые слова: фармакологическая активность листьев лавра; фреоны; эфирное масло; хромато-масс-спектрометрия

Для цитирования: Полоусова ЮЕ, Писарев ДИ, Новиков ОО, и др. Спектр фармакологической активности разных групп природных соединений листьев лавра обыкновенного и выбор оптимального экстрагента для извлечения эфирного масла из них. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(3):281-295. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-7

The spectrum of pharmacological activity of different groups of natural compounds of laurel leaves and the choice of the optimal extractant for the extraction of essential oil from them

Yulia E. Polousova¹ , Dmitry I. Pisarev² , Oleg O. Novikov² ,
Rimma A. Abramovich² , Karen M. Sakanyan³ 

¹ BIOCAD,

10 Testovskaya St., Moscow, 123317, Russia

² Peoples' Friendship University of Russia,

6 Miklukho-Maklaya St., Moscow, 17198, Russia

³ Ministry of Health of Russian Federation,

3 Rakhmanovskiy Ln., Moscow, 127994, Russia

Corresponding author: Dmitry I. Pisarev (juniper05@mail.ru)

Abstract

Background: Laurel noble – *Laurus nobilis* L., a plant whose leaves are widely used in cooking and are used in folk medicine. *L. nobilis* L. leaves contain more than 80 volatile components, represented mainly by monocyclic monoterpenes. The identification of more and more new therapeutic properties of the plant testifies to its incompletely undisclosed therapeutic potential. However, despite the impressive therapeutic potential of the plant, it is not used in domestic scientific medicine. **The aim of the study:** To describe the spectrum of types of pharmacological activity of *L. nobilis* L. and selection of the optimal extractant for the extraction of essential oil from the leaves of the object under study. **Materials and methods:** Laurel leaves were used as the test material. The essential oil from the leaves was obtained by extraction with freons, which are methoxynonafluorobutane and fluoroketone. The extractant for comparison was n-hexane. The method of studying essential oils was chromatography-mass spectrometry. Chromatography was performed on a gas chromatograph – mass spectrometer – GCMS-QP2010 Ultra, Shimadzu, Japan. Ionization is carried out in the electronic shock mode, detection by the total ionic current (SCAN) in the programmed temperature mode. **Results:** According to the literature, the essential oil of *L. nobilis* L. leaves have a pronounced antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory effect. Polyphenolic compounds of *L. nobilis* L. leaves are represented by flavonoids, derivatives of kaempferol and quercetin. It is believed that flavonoids are responsible for hypoglycemic, insular protective, antioxidant effects. The results of chromatography showed that the essential oil is represented mainly by 12 compounds, the dominant of which were 1,8-cineole (eucalyptol), alpha-terpenyl acetate and methyleugenol. During chromatography, it was also found that the optimal extractant is methoxynonafluorobutane, which extracts terpenoids with the highest yield. The prospects of using freons as agents for obtaining essential oil from laurel leaves have been shown. The composition of the essential oil isolated by freons from the leaves of laurel was determined by the method of gas chromatography-mass spectrometry. The results of chromatography showed that in the obtained freon extracts, 1,8-cineole (eucalyptol), alpha-terpenyl acetate and methyleugenol were dominant, which is close in composition to the native essential oil, according to literature data. **Conclusion:** The prospects of using freons as agents for extracting essential oil from *L. nobilis* L. leaves were shown. During chromatography, it was found that the optimal extractant is methoxynonafluorobutane, which extracts volatile components with the highest yield compared to fluoroketone and n-hexane; in addition, methoxyfluorobutane is non-toxic compared to n-hexane.

Keywords: pharmacological activity of laurel leaves; freons; essential oil; gas chromatography-mass spectrometry

For citation: Polousova YE, Pisarev DI, Novikov OO, et al. The spectrum of pharmacological activity of different groups of natural compounds of laurel leaves and the choice of the optimal extractant for the extraction of essential oil from them. Research Results in Biomedicine. 2021;7(3):281-295. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-7

Введение. Лавр благородный – *Laurus nobilis* L., растение, листья которого широко используются в кулинарии как пряно-ароматическое. Листья растения также находят широкое применение в ка-

честве лекарственного в народной медицине [1].

Вместе с тем, опубликовано большое количество научных исследований, подтверждающих наличие у растения выра-

женных антибактериальных свойств, связанных с присутствием в листьях довольно высокого содержания эфирного масла. Установлено, что листья *L. nobilis* L. содержат более 80 летучих компонентов, представленных в основном моноциклическими монотерпенами, причём доминирующим является 1,8-цинеол, известный своим высоким антибактериальным действием [2].

Имеется ряд работ, подтверждающих антиоксидантную активность растения [3-5]. Показано, что водно-этанольный экстракт *L. nobilis* L. за счёт наличия флавоноидов, имеет выраженные антиоксидантные и ангиопротекторные свойства, оказывает нормализующее действие на углеводный обмен, гастропротективное, протекторное действие на инсулярный аппарат [6].

Исследование эфирного масла *L. nobilis* L. показало, что оно может использоваться в пищевой и фармацевтической промышленности в качестве антиоксиданта и противомикробного агента. В частности, образцы эфирного масла листьев лавра благородного из Сербии и России были протестированы на предмет антиоксидантной и противомикробной активности. Образец из Сербии обладал более выраженным антиоксидантным и противомикробным действием, чем образец из России. Образец из России оказался эффективным в отношении все протестированных бактерий и дрожжей, но не обладал каким-либо ингибирующим действием в отношении грибов [7].

Проводилось сравнительное исследование антиоксидантной и противогрибковой активности эфирных масел *L. nobilis* L., шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.) и лаванды зубной (*Lavandula dentata* L.) и их основного монотерпенового компонента – 1,8-цинеола против *Aspergillus carbonarius*. Химический состав тестируемых эфирных масел проводили с помощью метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии. Полученные результаты показали, что эфирное масло *L. nobilis* L. проявляло лучшую антиоксидантную

активность, чем *S. officinalis* и *L. dentata* и содержало самое высокое количество фенолов. Кроме того, эфирное масло *L. nobilis* L. подавляло скорость роста *A. carbonarius* намного больше, чем *L. dentata* L. и *S. officinalis* L. с процентным соотношением, равным 47,82, 37,92 и 31,71%, соответственно. При контактном анализе эфирные масла *L. nobilis* L. и *L. dentata* L. проявляли более высокую противогрибковую и антиоксидантную активность, чем *S. officinalis* L., с минимальной ингибирующей концентрацией (МИК) примерно 0,3, 0,3 и 0,5% соответственно. МИК 1,8-цинеола (0,5%) была примерно вдвое выше, чем МИК *L. nobilis* L. и *L. dentata* L. Следовательно, его мощная биологическая активность обеспечивалась синергизмом между основным и сопутствующими компонентами [8].

Проводилось изучение антимикробной активности эфирных масел листьев *L. nobilis* L. и *Prunus armeniaca* L. флоры Марокко. Эфирные масла, полученные из листьев указанных видов из Марокко, были оценены на предмет возможного синергического антибактериального и противогрибкового действия *in vitro* с некоторыми традиционными противомикробными препаратами, а именно флуконазолом, ципрофлоксацином и ванкомицином. Химический состав образцов эфирных масел был исследован методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии. Основными летучими соединениями, обнаруженными в *L. nobilis* L., были эвкалиптол (40,85%), α-терпинилацетат (12,64%) и метилэвгенол (8,72%), в то время как у *P. armeniaca* L. преобладал (Z)-фитол (27,18%), пентакозан (15,11%), нонакозан (8,76%) и бензальдегид (7,25%). Что касается антимикробной активности, оба эфирных масла значительно подавляли все тестируемые микроорганизмы. Эфирное масло из листьев *L. nobilis* L. обладало наивысшей активностью с минимальными ингибирующими концентрациями (МПК) от 1,39 до 22,2 мг/мл для бактерий и от 2,77 до 5,55 мг/мл для дрожжей. Напротив, комбинация исследуемых эфирных масел с ципрофлокса-

цином, ванкомицином и флуконазолом привела к заметному снижению их индивидуальных МИК. Фактически, из 32 протестированных взаимодействий 23 (71,87%) продемонстрировали полный синергизм и 9 (28,12%) частичный синергетический эффект. Эфирное масло из *L. nobilis* L. продемонстрировало наивысший синергетический эффект со всеми использованными антибиотиками, со значениями индекса фракционной ингибирующей концентрации (FIC) в диапазоне от 0,266 до 0,75 для бактерий и от 0,258 до 0,266 для дрожжей. Синергическое взаимодействие между исследуемыми эфирными маслами и антибиотиками может составлять многообещающие противомикробные средства, необходимые для лечения заболеваний, вызванных устойчивым к антибиотикам патогеном [9].

Исследованы цитотоксический и генотоксический потенциалы водного извлечения из листьев *L. nobilis* L. Результаты показали, что водное извлечение из листьев *L. nobilis* L. не обладало какой-либо генотоксической активностью, но цитотоксическая активность наблюдалась в двух использованных экспериментальных моделях. Извлечение обладало антипролиферативным действием, обнаруживаемым по снижению митотического индекса и соотношения полихроматических/нормохроматических эритроцитов (PCE/NCE). Испытания также продемонстрировали большое количество клеток, подвергающихся апоптозу и имеющих ядерные аномалии, связанные с процессами гибели клеток. Эти результаты можно объяснить наличием фенольных соединений, сапонинов, флавоноидов и алкалоидов, обнаруженных при фитохимическом анализе извлечения из листьев *L. nobilis* L. Следовательно, водное извлечение из листьев *L. nobilis* L. в форме, обычно используемой населением, не представляет рисков, связанных с его генотоксическим потенциалом, а также содержит компоненты с апоптотическим потенциалом [10].

Оценена токсическая и противоопухолевая активность водного экстракта ли-

стьев *L. nobilis* L. у мышей, трансгенных по ВПЧ16. Настоящее исследование направлено на оценку *in vivo* эффективности и токсичности экстракта лавра для печени на модели рака, индуцированного ВПЧ16, у трансгенных мышей. В ходе исследования установлено, что экстракт не предотвращал прогрессирование кожных поражений, вызванных ВПЧ16. У обработанных животных дикого типа выявлен гепатит легкой степени, в то время как трансгенные животные потеряли в весе. Однако по маркерам гематологического, биохимического и печеночного оксидативного стресса изменений не было [11].

Изучена способность экстракта *L. nobilis* L. и его основного компонента – эвкалиптола модулировать воспалительный сигнальный путь, вызванный *Propionibacterium acnes*. Экстракт *L. nobilis* L. значительно подавлял экспрессию опосредованных *P. acnes* провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6 и NLRP3. Также обнаружено, что *L. nobilis* L. ингибирует воспалительный фактор транскрипции NF- κ B в ответ на *P. acnes*. Кроме того, эвкалиптол, который является основным компонентом *L. nobilis* L., постоянно ингибирует индуцированные *P. acnes* воспалительные сигнальные пути. Более того, *L. nobilis* L. значительно уменьшал воспаление, вызванное *P. acnes*, на мышинной модели акне. Таким образом, сделано предположение, что *L. nobilis* L. имеет терапевтическую ценность для улучшения состояния кожи при воспалении вызванном *P. Acnes* [12].

Установлено влияние разных видов сушки листьев *L. nobilis* L. на общее содержание фенольных соединений и их антиоксидантную активность. Сравнивались два метода сушки листьев *L. nobilis* L.: сушка с использованием микроволн (MWD) (от 180 до 900 Вт) и традиционный метод (сушка на открытом воздухе и сушка в духовке с использованием температур от 40 °C до 120 °C) и влияние. Кинетические результаты показали, что время, необходимое для сушки лаврового листа, сокращается с увеличением температуры и

мощности микроволн. Сушка в микроволновой печи была намного эффективнее, чем традиционные методы (сушка на открытом воздухе и сушка в духовке). Антиоксиданты листьев *L. nobilis* L. лучше сохранялись при сушке на открытом воздухе и в микроволновой печи. Сушка в микроволновой печи при мощности 300 Вт в течение 130 с была наиболее эффективной комбинацией, которая обеспечила сушку листьев *L. nobilis* L. с самым высоким содержанием фенольных соединений и антиоксидантной активностью [13].

Определена ларвицидная активность эфирного масла листьев *L. nobilis* L. Эфирное масло получали из свежих листьев методом гидродистилляции. В полученном эфирном масле идентифицировано 37 компонентов, основными из которых были 1,8-цинеол и линалоол. Ларвицидную активность определяли в отношении личинок *Aedes aegypti* – комара, переносчик лихорадки Денге и вируса Зика. Ларвицидную активность определяли методом погружения личинок. Сезонные колебания состава и содержания эфирного масла повлияли на ларвицидную активность: весенняя LC_{50} составляла 0,41 мг/мл и LC_{99} 0,77 мг/мл, осенняя LC_{50} составляла 0,60 мг/мл и LC_{99} 1,37 мг/мл, зимняя LC_{50} составляла 0,66 мг/мл и LC_{99} 3,19 мг/мл и летом LC_{50} составляла 0,91 мг/мл, а LC_{99} - 2,50 мг/мл. Таким образом, эфирное масло, полученное весной, показало наивысшую ларвицидную активность в отношении личинок *A. Aegypti* [14].

Исследовано влияние экстракта листьев *L. nobilis* L. на жизненно важные органы у крыс с индуцированным стрептозоцином диабетом. Исследование проводилось на тридцати здоровых взрослых самцах крыс-альбиносов, разделённых поровну на 5 групп: контрольную (С), диабетическую группу (D), диабетическую группу с добавлением экстракта *L. nobilis* L. (DLN), группу с добавлением экстракта *L. nobilis* L. (LN) и диабетическую группу с добавлением акарбозы (DA).

Гистопатологически крысы группы D демонстрировали различные дегенератив-

ные и некротические изменения в печени, поджелудочной железе и почках, тогда как крысы DLN имели почти нормальную гистологию. Иммуноокрашивание инсулина в бета-клетках поджелудочной железы было снижено в группе D по сравнению с группой С, тогда как группа DLN была аналогична группе С. Концентрация глюкозы значительно снизилась у крыс с диабетом, получавших экстракт *L. nobilis* L. и акарбозу ($p < 0,05$). Кроме того, уровни аспартатаминотрансферазы (AST), гамма-глутамилтрансферазы (GGT) и аланинаминотрансферазы (ALT) были значительно снижены у крыс с диабетом, получавших *L. nobilis* L. и акарбозу, по сравнению с группой D ($p < 0,05$). Результаты этого исследования показали, что экстракты листьев *L. nobilis* L. оказывают ценное влияние на уровень глюкозы в крови и улучшают регенерацию островков поджелудочной железы, а также восстанавливают измененные ферменты печени, мочевины, креатинкиназу, общий уровень белка, кальция и ферритина до уровня, близкого к значению [15].

Показано влияние происхождения листьев *L. nobilis* L. на химический профиль и антимикробную и антиоксидантную активность эфирных масел, собранных в двух разных лесных регионах Марокко: Мулай-Абдессалам (север Марокко) и Бени Меллал Тагзирт (Среднеатласские леса). Химический состав эфирного масла установлен методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Антиоксидантные эффекты эфирных масел были проанализированы с использованием улавливания радикалов 2,2-ди (4-трет-октилфенил)-1-пикрилгидразилом (DPPH), восстанавливающей/антиоксидантной способности железа (FRAP) и эквивалентной антиоксидантной способности с использованием тролокса (ABTS). Антимикробная активность эфирного масла была проведена против четырех грибов древесной гнили, трех плесени и четырех штаммов бактерий. Анализ ГХ-МС выявил присутствие 1,8-цинеола, линалоола, миртеналя,

γ-терпинеола, сабинена, эвгенола, α-пинена и β-пинена в качестве основных соединений.

Установлено, что урожайность листьев *L. nobilis* L. оказалась наибольшей в лесу Тагзирт. Кроме того, было обнаружено, что эфирное масло из леса Тагзирт обладает высоким антиоксидантным потенциалом. Эфирное масло из леса Тагзирт в регионе Бени-Меллал, обладало наибольшей эффективностью против выбранных микроорганизмов [16].

Проведён сравнительный анализ антимикробной активности и антиоксидантного потенциала эфирного масла *L. nobilis* L. с эфирными маслами лемонграсса (*Cymbopogon citratus*) и лимонного мирта (*Backhousia citriodora*). Было обнаружено, что эфирное масло *L. nobilis* L. проявляло наибольшую противомикробную активность против выбранных бактерий *Streptococcus saprophyticus* (ATCC 49619), *Streptococcus aureus* (ATCC 22923), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 29436), *Pseudomonas Eruginosa* (ATCC 13048), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13048), *E. coli* (ATCC 22922) с МИК от 7,8 до 250 мкг/мл. Наибольшую антиоксидантную активность проявили эфирные масла *B. citriodora* и *L. nobilis* L. [17].

Проведено сравнительное изучение антибактериальной активности эфирных масел из 10 ароматических растений некоторых турецких и алжирских лекарственных растений: *Thymus fontanesii*, *Thymus vulgaris*, *Mentha pulegium*, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *L. nobilis*, *Salvia officinalis*, *Pellargonium*, *Lavandula vera*, *Cinnamomum aromaticum*. Результаты показали больший антибактериальный эффект всех образцов эфирных масел против грамположительных, чем грамотрицательных бактерий. *Pseudomonas aeruginosa* была единственной бактерией, не восприимчивой к маслам *L. nobilis*, *Salvia officinalis*, *Pellargonium*, *Lavandula vera* и *Mentha pulegium*. Наибольшую активность проявило масло *Cinnamomum aromaticum* [18].

Проведена оценка антибактериальной и антиоксидантной активности фе-

нольных соединений и алкалоидов листьев *L. nobilis* L. Результаты антиоксидантной активности показывают, что, хотя концентрация алкалоидов оказалась ниже, чем полифенолов их антиоксидантная активность была выше [19].

Результаты антибактериальной активности экстрактов *L. nobilis* L. позволили выявить, что наибольшее ингибирование было зарегистрировано для экстракта алкалоидов против стафилококков, штаммов, вызывающих пищевое отравление. Однако фенольные соединения *L. nobilis* L. показали лучшую активность против фитопатогенных штаммов [20].

Выявление всё новых терапевтических свойств растения свидетельствует о неполностью нераскрытом его терапевтическом потенциале.

Однако, несмотря на внушительный терапевтический потенциал у растения, в отечественной научной медицине его не используют, что в первую очередь связано с отсутствием нормативной документации на сырьё.

Учитывая сказанное, **целью** настоящего исследования явилось описание спектра видов фармакологической активности *L. nobilis* L. и выбор оптимального экстрагента для извлечения эфирного масла из листьев исследуемого объекта.

Материалы и методы исследования. В качестве исследуемого материала взяты высушенные листья *L. nobilis* L., собранные на территории Краснодарского края.

Для выбора оптимального экстрагента, способного обеспечить максимальный выход действующих компонентов, использованы фреоны – метоксинонафторбутан (Novex 7100) и фторкетон. В качестве экстрагента сравнения взят н-гексан.

В качестве сырья использованы высушенные, измельчённые листья *L. nobilis* L. Для извлечения эфирного масла из листьев *L. nobilis* L. 1,0 г (точная навеска) сырья заливали 10 мл соответствующего экстрагента, плотно укупоривали и экстрагировали методом мацерации при комнатной температуре в течение суток. По исте-

чении указанного времени полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента». Полученные извлечения непосредственно использовали для хроматографирования.

Методом исследования явился метод хромато-масс-спектрометрии.

Хроматографирование проводили на газовом хроматографе – масс-спектрометре – GCMS-QP2010 Ultra, «Shimadzu», Япония. Ионизация осуществляется в режиме электронного удара, детекция по полному ионному току (SCAN) в режиме программируемых температур.

Условия хроматографирования:

Колонка капиллярная кварцевая, размером $30\text{ m L} \times 0,25\text{ mm ID} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$ (Zebtron ZB-5MS);

Скорость газа-носителя (гелий) – 3,0 мл/мин;

Температура колонки от +70 C° (изо-

терма 4 мин) до 200 C° (изотерма 15 мин), со скоростью подъёма температуры 4 град/мин;

Температура испарителя + 210 C°;

Температура ионного источника + 200 C°;

Температура интерфейса + 250 C°;

Напряжение на детекторе – 0,88кВ;

Поток эмиссии – 60 μA ;

Объём пробы – 1 μl ;

Диапазон сканирования от m/z 35 – 500 Da, (скорость сканирования 1666/0,3 сек).

Идентификацию компонентов проводили путём сравнения масс-спектров с таковыми, имеющимися в распоряжении электронной библиотеки NIST 11.

Результаты и их обсуждение. Хроматограммы, полученные при хроматографировании образцов представлены на рисунках 1-3.

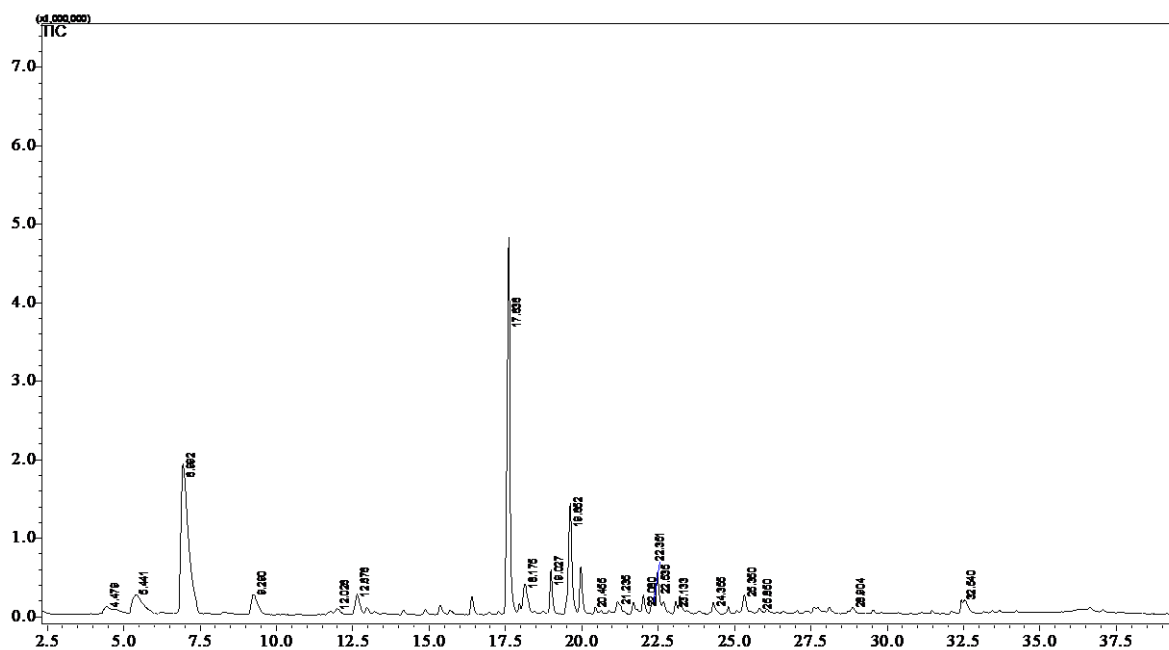


Рис. 1. Хроматограмма фторкетонного извлечения из листьев *L. nobilis* L.

Fig. 1. Chromatogram of fluoroketone extract from *L. nobilis* L. leaves.

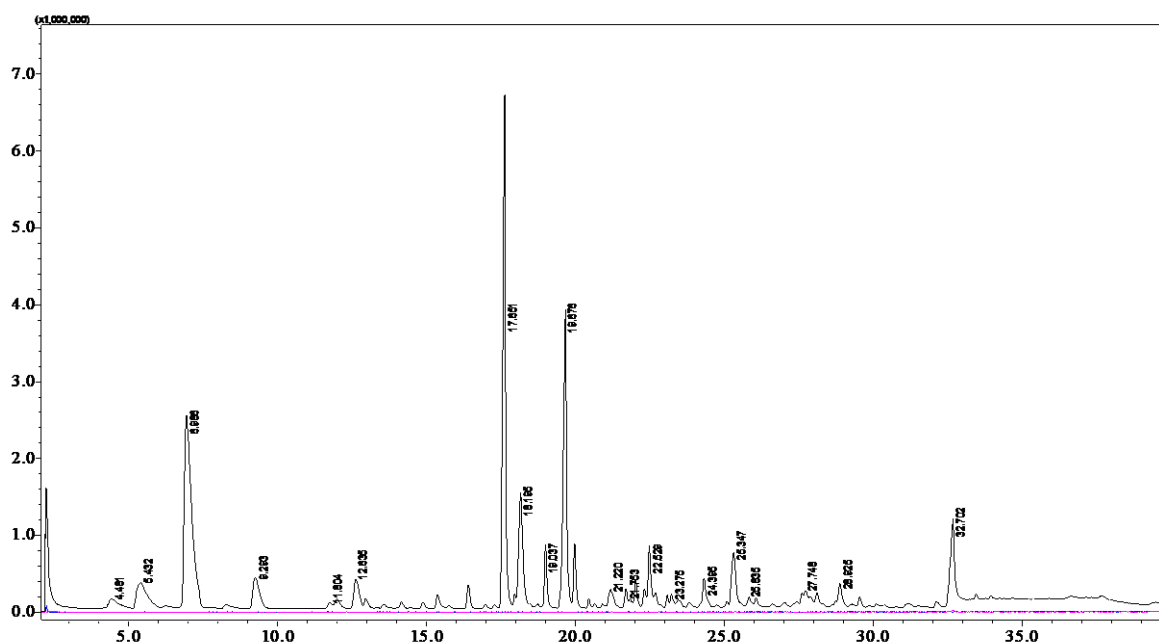


Рис. 2. Хроматограмма метоксинонафторбутанового извлечения из листьев *L. nobilis* L.
Fig. 2. Chromatogram of methoxinonafluorobutane extract from *L. nobilis* L. leaves.

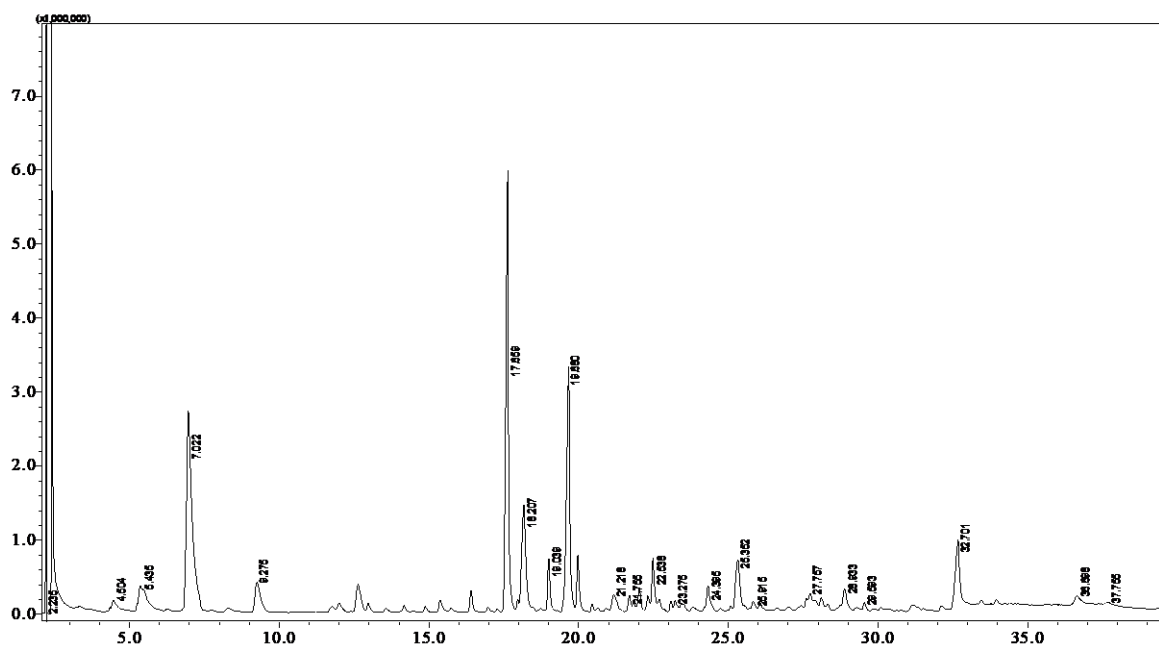


Рис. 3. Хроматограмма гексанового извлечения из листьев *L. nobilis* L.
Fig. 3. Chromatogram of hexane extract from *L. nobilis* L. leaves.

На всех представленных хроматограммах видно, что доминирует 3 основных компонента, со временем удерживания 7 мин, 17,6 мин и 19,6 мин. Путём сопоставления масс-спектров зарегистрированных веществ с библиотечными данными масс-спектров базы данных *NIST 11*

установлено, что найденные вещества являются 1,8-цинеолом, альфа-терпенилацетатом и метилэвгенолом соответственно.

Результаты расшифровки хроматограмм представлены на рисунках 4-6.

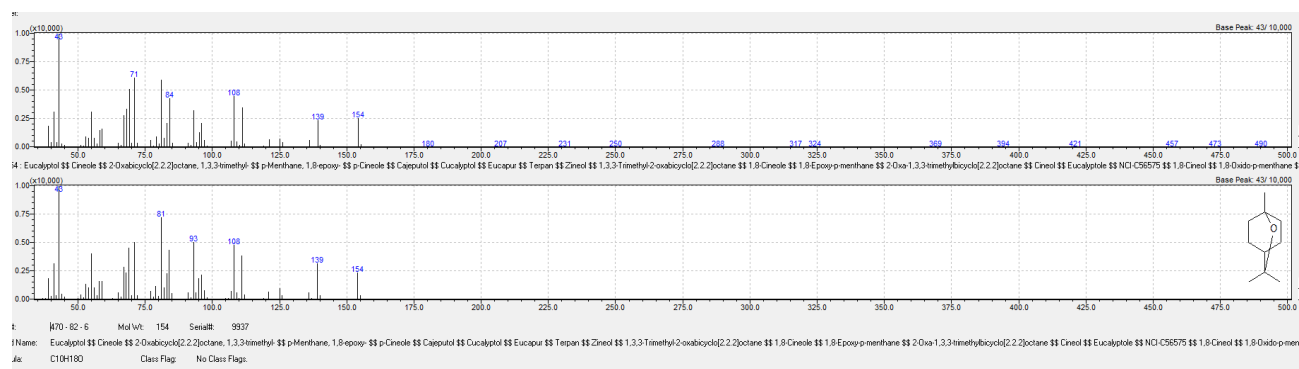


Рис. 4. Масс-спектры 1,8-цинеола (эвкалиптола) (время удерживания на хроматограммах 7,0 мин), зарегистрированные у анализируемого и библиотечного образцов.

Fig. 4. Mass spectra of 1,8-cineole (eucalyptol) (retention time on chromatograms 7.0 min) recorded for the analyzed and library samples

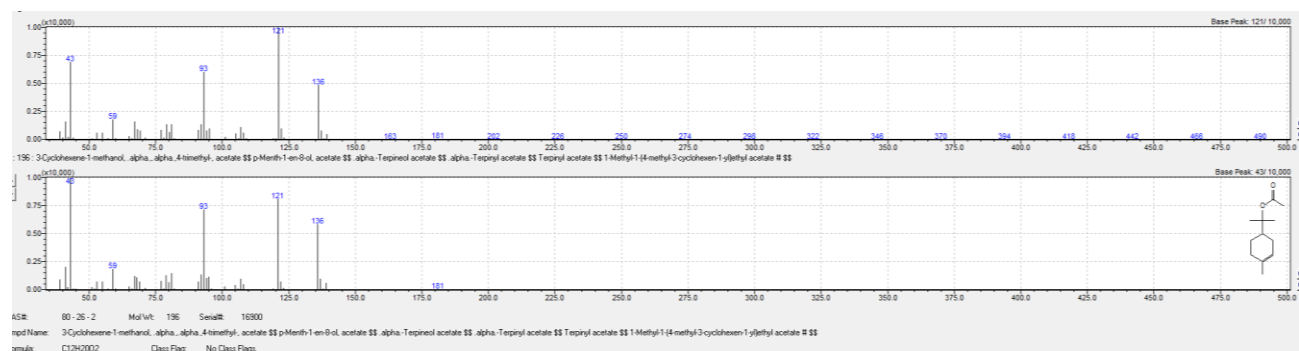


Рис. 5. Масс-спектры альфа-терпенилацетата (время удерживания на хроматограммах 17,6 мин), зарегистрированные у анализируемого и библиотечного образцов.

Fig. 5. Mass spectra of alpha-terpenyl acetate (retention time on chromatograms 17.6 min), recorded from the analyzed and library samples

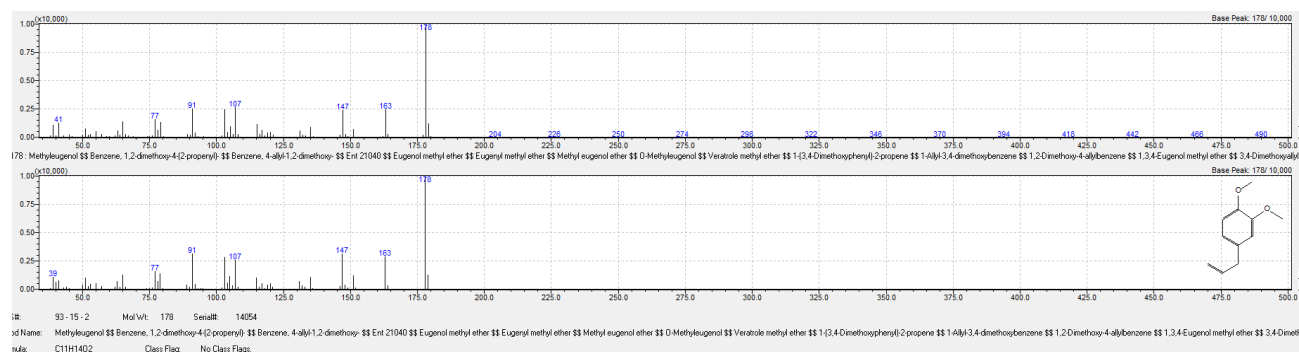


Рис. 6. Масс-спектр метилэвгенола (время удерживания на хроматограммах 19,6), зарегистрированные у анализируемого и библиотечного образцов.

Fig. 6. Mass spectrum of methyleugenol (retention time on chromatograms 19.6), recorded in the analyzed and library samples.

Помимо 3 доминирующих компонентов, определены также сопутствующие соединения, присутствующие во всех извлечениях и содержание которых во фреоновых извлечениях составило более

1,0%. Перечень доминирующих и сопутствующих компонентов, их процентное содержание во фреоновых извлечениях представлено в таблице 1.

Таблица 1

Основные характеристики компонентов эфирного масла *L. nobilis* L.

Table 1

The main characteristics of the components of the essential oil of *L. nobilis* L.

Время удерживания компонента на хроматограмме	Название компонента	Содержание компонента на хроматограмме, %			Площадь пика на хроматограмме/экстрагент		
		Фторкетон	Метоксинонафторбутан	Н-гексан	Фторкетон	Метоксинонафторбутан	Н-гексан
7,0	1,8 – цинеол (эвкалиптол)	22,84	16,28	15,9	3259005	43197285	35781149
9,3	Бета-линалоол	2,66	2,39	2,3	3791378	6338289	5183970
17,7	Альфа-терпенилацетат	22,25	16,88	16,72	31743526	44664259	37613519
18,2	Эвгенол	3,8	6,28	7,03	5402829	16667522	15819401
19,04	Бета-элемен	2,8	2,0	2,06	3959631	5295823	4632581
19,7	Метилэвгенол	8,2	11,27	11,4	11687804	29910206	25643233
19,9	Бета-кариофиллен	2,8	2,05	2,1	4013308	5428656	4720520
22,5	Эликсен	4,5	3,4	3,35	6416977	9028672	7544317
24,4	Элемицин	0,92	1,37	1,42	1316633	3644709	3204810
25,3	Спатуленол	1,9	3,21	3,67	2704799	8520760	8266543
28,9	6-эпи-шиобунол	0,7	1,37	1,64	997007	3638544	3693611
32,7	Дегидросауссу-реалактон	1,91	4,8	4,87	2732159	2739603	10962177

Сравнивая данные площадей пиков найденных компонентов, представленные в таблице 1 можно заключить, что наибольший выход составных эфирных масел обеспечивает метоксинонафторбутан, несколько меньше н-гексан. Однако, учитывая токсичность н-гексана и абсолютную безвредность метоксинонафтор-

бутана, целесообразным является использование второго в качестве экстрагента эфирного масла. Диаграмма сравнительной экстрагирующей способности использованных экстрагентов представлена на рисунке 7. Для простоты вычислений громоздкие площади пиков были прологарифмированы.



Рис. 7. Диаграмма сравнительной экстрагирующей способности выбранных экстрагентов для извлечения компонентов эфирного масла из листьев *L. nobilis* L.

Fig. 7. Diagram of the comparative extraction capacity of the selected extractants for the extraction of essential oil components from *L. nobilis* L. leaves

Таким образом, методом хромато-масс-спектрометрии определён состав эфирного масла, выделенного фреонами из листьев лавра благородного. Результаты хроматографирования показали, что в полученных фреоновых извлечениях, доминирующими оказались 1,8-цинеол (эвкалиптол), альфа-терпенилацетат и метилэвгенол, что близко по составу к нативному эфирному маслу, согласно литературным данным.

Заключение. Показана перспективность использования фреонов в качестве агентов для получения эфирного масла из листьев лавра благородного. В ходе хроматографирования установлено, что оптимальным экстрагентом является метоксифторбутан, экстрагирующий летучие компоненты с наибольшим выходом, по сравнению с фторкетонами и н-гексаном, кроме того, метоксифторбутан нетоксичен по сравнению с н-гексаном.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Afifi FU, Khalil E, Tamimi SO, et al. Evaluation of the gastroprotective effect of *Laurus nobilis* seeds on ethanol induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 1997;58(1):9-14. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00070-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00070-6)
2. Yalçın H, Anik M, Sanda MA, et al. Gas chromatography/mass spectrometry analysis of *Laurus nobilis* essential oil composition of Northern Cyprus. *Journal of Medicinal Food*. 2007;10(4):715-719. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.404>
3. Conforti F, Statti G, Uzunov D, et al. Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. piperitum (Ucria) Coutinho Seeds. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2006;29:2056-2064. DOI: <https://doi.org/10.1248/bpb.29.2056>
4. Ozcan B, Esen M, Sangun MK, et al. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology*. 2010;31(5):637-641.
5. Dall'Acqua S, Cervellati R, Speroni E, et al. Phytochemical composition and antioxidant activity of *Laurus nobilis* L. leaf infusion. *Journal of Medicinal Food*. 2009;12(4):869-876. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0119>
6. Speroni E, Cervellati R, Dall'Acqua S, et al. Gastroprotective effect and antioxidant properties of different *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Journal of Medicinal Food*. 2011;14(5):499-504. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0084>
7. Riabov PA, Micić D, Božović RB, et al. The chemical, biological and thermal characteristics and gastronomical perspectives of *Laurus nobilis* essential oil from different geographical origin. *Industrial Crops and Products*. 2020;151:112498. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112498>
8. Dammak I, Hamdi Z, Kammoun S, et al. Evaluation of antifungal and antiochratoxic activities of *Salvia officinalis*, *Lavandula dentata* and *Laurus nobilis* essential oils and a major monoterpene constituent 1,8-cineole against *Aspergillus carbonarius*. *Industrial Crops and Products*. 2019;128:85-93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.006>
9. Nafis A, Kasrati A, Jamali CA, et al. A comparative study of the in vitro antimicrobial and synergistic effect of essential oils from *Laurus nobilis* L. and *Prunus armeniaca* L. from Morocco with antimicrobial drugs: new approach for health promoting products. *Antibiotics*. 2020;9(4):140. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040140>
10. Silva MC, Matos AF, Santos HLC, et al. *Laurus nobilis* L.: assessment of the cytotoxic and genotoxic potential of aqueous extracts by micronucleus and *Allium cepa* assays. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;56:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000318302>

11. Medeiros-Fonseca B, Mestre VF, Colaço B, et al. *Laurus nobilis* (laurel) aqueous leaf extract's toxicological and anti-tumor activities in HPV16-transgenic mice. *Journal of Functional Foods*. 2018;9(8):4419-4428. DOI: <https://doi.org/10.1039/c8fo00783g>

12. Lee EH, Shin JH, Kim SS, et al. Suppression of *Propionibacterium acnes*-induced skin inflammation by *Laurus nobilis* extract and its major constituent eucalyptol. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(14):3510. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20143510>

13. Khodja KY, Dahmoune F, Bachir bey M, et al. Conventional method and microwave drying kinetics of *Laurus nobilis* leaves: effects on phenolic compounds and antioxidant activity. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2020;23:1-10. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.21419>

14. Mariano Fernandez CM, Ferreira da Rosa M, Mariano Fernandez ACA, et al. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Laurus nobilis* leaves obtained at different seasons. *Journal of Essential Oil Research*. 2018;30(5):379-387. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2018.1473294>

15. Mohammed RR, Omer AK, Yener Z, et al. Biomedical effects of *Laurus nobilis* L. leaf extract on vital organs in streptozotocin-induced diabetic rats: Experimental research. *Annals of Medicine and Surgery*. 2021;61:188-197. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2020.11.051>

16. Hanaa L, Ahmed A, Mohamed G, et al. Exploring the provenance effect on chemical composition and pharmacological bioactivity of the moroccan essential oils of *Laurus nobilis*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2020;13(9):4067-4076. DOI: <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00719.2>

17. Saporin NA, Mahat MM, Zainal Ariffin SH, et al. Dual Bioactivities of *Laurus nobilis* essential oil. *Science Letters*. 2020;14(1):62-67.

18. Abdellah F, Boukraa L, Hammoudi SM, et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some Algerian and Turkish medicinal plants. *Journal of Apitherapy and Nature*. 2018;1(2):8-19.

19. Škerget M, Kotnik P, Hadolin M, et al. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 2005;89(2):191-198. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025>

20. Khodjaa YK, Bachir-bey M, Ladjouid R, et al. In vitro antioxidant and antibacterial activities of phenolic and alkaloid extracts of *Laurus nobilis*. *South Asian Journal of Experimental Biology*. 2021;11(3):345-354. DOI: [https://doi.org/10.38150/sajeb.11\(3\).p345-354](https://doi.org/10.38150/sajeb.11(3).p345-354)

References

1. Afifi FU, Khalil E, Tamimi SO, et al. Evaluation of the gastroprotective effect of *Laurus nobilis* seeds on ethanol induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 1997;58(1):9-14. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00070-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00070-6)

2. Yalçın H, Anik M, Sanda MA, et al. Gas chromatography/mass spectrometry analysis of *Laurus nobilis* essential oil composition of Northern Cyprus. *Journal of Medicinal Food*. 2007;10(4):715-719. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.404>

3. Conforti F, Statti G, Uzunov D, et al. Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. piperitum (Ucria) Coutinho Seeds. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2006;29:2056-2064. DOI: <https://doi.org/10.1248/bpb.29.2056>

4. Ozcan B, Esen M, Sangun MK, et al. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology*. 2010;31(5):637-641.

5. Dall'Acqua S, Cervellati R, Speroni E, et al. Phytochemical composition and antioxidant activity of *Laurus nobilis* L. leaf infusion. *Journal of Medicinal Food*. 2009;12(4):869-876. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0119>

6. Speroni E, Cervellati R, Dall'Acqua S, et al. Gastroprotective effect and antioxidant properties of different *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Journal of Medicinal Food*. 2011;14(5):499-504. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0084>

7. Riabov PA, Micić D, Božović RB, et al. The chemical, biological and thermal characteristics and gastronomical perspectives of *Laurus nobilis* essential oil from different geographical origin. *Industrial Crops and Products*. 2020;151:112498. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112498>

8. Dammak I, Hamdi Z, Kammoun S, et al. Evaluation of antifungal and antiochratoxigenic activities of *Salvia officinalis*, *Lavandula dentata* and *Laurus nobilis* essential oils

and a major monoterpene constituent 1,8-cineole against *Aspergillus carbonarius*. Industrial Crops and Products. 2019;128:85-93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.006>

9. Nafis A, Kasrati A, Jamali CA, et al. A comparative study of the in vitro antimicrobial and synergistic effect of essential oils from *Laurus nobilis* L. and *Prunus armeniaca* L. from Morocco with antimicrobial drugs: new approach for health promoting products. Antibiotics. 2020;9(4):140. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040140>

10. Silva MC, Matos AF, Santos HLC, et al. *Laurus nobilis* L.: assessment of the cytotoxic and genotoxic potential of aqueous extracts by micronucleus and *Allium cepa* assays. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2020;56:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000318302>

11. Medeiros-Fonseca B, Mestre VF, Colaço B, et al. *Laurus nobilis* (laurel) aqueous leaf extract's toxicological and anti-tumor activities in HPV16-transgenic mice. Journal of Functional Foods. 2018;9(8):4419-4428. DOI: <https://doi.org/10.1039/c8fo00783g>

12. Lee EH, Shin JH, Kim SS, et al. Suppression of *Propionibacterium acnes*-induced skin inflammation by *Laurus nobilis* extract and its major constituent eucalyptol. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(14):3510. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20143510>

13. Khodja KY, Dahmoune F, Bachir bey M, et al. Conventional method and microwave drying kinetics of *Laurus nobilis* leaves: effects on phenolic compounds and antioxidant activity. Brazilian Journal of Food Technology. 2020;23:1-10. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.21419>

14. Mariano Fernandez CM, Ferreira da Rosa M, Mariano Fernandez ACA, et al. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Laurus nobilis* leaves obtained at different seasons. Journal of Essential Oil Research. 2018;30(5):379-387. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2018.1473294>

15. Mohammed RR, Omer AK, Yener Z, et al. Biomedical effects of *Laurus nobilis* L. leaf extract on vital organs in streptozotocin-induced diabetic rats: Experimental research. Annals of Medicine and Surgery. 2021;61:188-197. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2020.11.051>

16. Hanaa L, Ahmed A, Mohamed G, et al. Exploring the provenance effect on chemical composition and pharmacological bioactivity of

the moroccan essential oils of *Laurus nobilis*. Research Journal of Pharmacy and Technology. 2020;13(9):4067-4076. DOI: <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00719.2>

17. Saparin NA, Mahat MM, Zainal Ariffin SH, et al. Dual Bioactivities of *Laurus nobilis* essential oil. Science Letters. 2020;14(1):62-67.

18. Abdellah F, Boukraa L, Hammoudi SM, et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some Algerian and Turkish medicinal plants. Journal of Apitherapy and Nature. 2018;1(2):8-19.

19. Škerget M, Kotnik P, Hadolin M, et al. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food Chemistry. 2005;89(2):191-198. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025>

20. Khodjaa YK, Bachir-bey M, Ladjouid R, et al. In vitro antioxidant and antibacterial activities of phenolic and alkaloid extracts of *Laurus nobilis*. South Asian Journal of Experimental Biology. 2021;11(3):345-354. DOI: [https://doi.org/10.38150/sajeb.11\(3\).p345-354](https://doi.org/10.38150/sajeb.11(3).p345-354)

Статья поступила в редакцию 28 мая 2021 г.
Поступила после доработки 6 июля 2021 г.
Принята к печати 26 июля 2021 г.

Received 28 May 2021

Revised 6 July 2021

Accepted 26 July 2021

Информация об авторах

Юлия Евгеньевна Полоусова, руководитель медицинских экспертов ЗАО «БИОКАД», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: stolyarova-83@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5375-0268>.

Дмитрий Иванович Писарев, доктор фармацевтических наук, доцент, профессор аграрно-технологического института агробиотехнологического департамента, заведующий лабораторией электронной микроскопии Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: juni-per05@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2996-7712>.

Олег Олегович Новиков, доктор фармацевтических наук, профессор, директор Центра контроля качества лекарственных средств, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы

народов», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: ole9222@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3145-6783>.

Римма Александровна Абрамович, доктор фармацевтических наук, доцент, директор Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: abramovich_ra@pfur.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1784-881X>.

Карен Маисович Саканян, заместитель директора Департамента государственного регулирования обращения лекарственных средств, Министерство здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация, E-mail: sakanyankm@minzdrav.gov.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2028-2776>.

Information about the authors

Yulia E. Polousova, Head of Medical Experts, BIOCAD, Moscow, Russia, E-mail: stolyarova-83@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5375-0268>.

Dmitry I. Pisarev, Doct. Sci. (Pharmacy), Associate Professor, Professor at the Agricultural and

Technological Institute, Agrobiotechnology Department, Head of the Laboratory of Electron Microscopy, Center for Collective Use (Scientific and Educational Center), Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia, E-mail: juni-per05@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2996-7712>.

Oleg O. Novikov, Doct. Sci. (Pharmacy), Professor, Director of the Center for Quality Control of Medicines, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia, E-mail: ole9222@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3145-6783>.

Rimma A. Abramovich, Doct. Sci. (Pharmacy), Associate Professor, Director of the Center for Collective Use (Scientific and Educational Center), Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia, E-mail: abramovich_ra@pfur.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1784-881X>.

Karen M. Sakanyan, Deputy Director of the Department of State Regulation of the Circulation of Medicines, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow, Russia, E-mail: sakanyankm@minzdrav.gov.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2028-2776>.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА MEDICINE



DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-8

УДК 616-314-089.28-633-036

Синдром возрастной полости рта как компонент гериатрического статуса

В.А. Борозенцева¹ , В.Ю. Борозенцев¹ , И.П. Почитаева² ,
О.А. Рождественская² , Т.В. Евдокимова³

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация

² Академия постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Волоколамское шоссе, д. 91, г. Москва, 125371, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Санкт-Петербургский институт усовершенствования врачей-экспертов», Большой Сампсониевский пр., д. 11/12, г. Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация
Автор для переписки: В.А. Борозенцева (Vita_borozentceva@mail.ru)

Резюме

Актуальность: По данным литературы имеется высокая степень распространённости синдрома старческой астении (frailty) среди лиц старческого возраста. Это состояние сопряжено рядом физических, функциональных и биохимических сдвигов в организме. Известны взаимосвязи синдрома возрастной полости рта с синдромом мальнутриции, ассоциации с другими гериатрическими синдромами изучены недостаточно. В то же время особую значение приобретает ранняя диагностика состояний и заболеваний, представляющих собой факторы риска развития синдрома возрастной полости рта. **Цель исследования:** Оценить вклад синдрома возрастной полости рта в формирование гериатрического статуса. **Материалы и методы:** Всего в исследование было включено 570 человек пожилого и старческого возраста, в том числе 58 человек без адентии, 512 человек с адентией. Возраст пациентов составил от 65 до 84 лет. Группы пациентов без адентии и с адентией были сопоставимы по возрастно-половому составу. **Результаты:** Проведенное исследование показало, что синдром возрастной полости рта ассоциирован с потерей 11 и более зубов при любом варианте адентии, а при меньшем количестве утраченных зубов – с 1-ым и 4-ым классами адентии по Э. Кеннеди, при этом этиологические причины адентии не имеют достоверного значения в повышении риска развития синдрома возрастной полости рта. Сердечно-сосудистая патология, сахарный диа-

бет второго типа и заболевания опорно-двигательного аппарата достоверно ($p < 0,05$) повышают риск развития прогрессирования синдрома возрастной полости рта. Синдром возрастной полости рта достоверно ассоциирован с такими гериатрическими синдромами как синдром мальнутриции и риск ее развития, дина-/саркопении, синдром падений, депрессия умеренной степени выраженности, когнитивные расстройства и некорригированные сенсорные дефициты. **Заключение:** В связи с доказанным вкладом синдрома возрастной полости рта в формирование гериатрического статуса у пациентов пожилого возраста следует проводить оценку состояния зубных рядов по Э. Кеннеди, при этом людей с полной адентией, а также с 1, 4 классами адентии и смешанными ее формами относить к группе повышенного риска развития синдрома старческой астении. Также целесообразно у людей с синдромом возрастной полости рта перед направлением на стоматологическое вмешательством проводить комплексную гериатрическую оценку с таргетной коррекцией выявленных гериатрических синдромов.

Ключевые слова: синдром возрастной полости рта; старческая астения; коморбидность; гериатрический статус; стоматологическое здоровье

Для цитирования: Борозенцева ВА, Борозенцев ВЮ, Почитаева ИП, и др. Синдром возрастной полости рта как компонент гериатрического статуса. Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(3):296-307. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-8

Senile mouth as a component of geriatric status

Vita A. Borozentseva¹ , Vladislav Yu. Borozentsev¹ , Irina P. Pochitaeva² ,
Olga A. Rozhdestvenskaya² , Tamara V. Evdokimova³ 

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

² Academy of Postgraduate Education, Federal Scientific and Clinical Center for Specialized
Medical Assistance and Medical Technologies, Federal Medical Biological Agency,
91 Volokolamskoe Highway, Moscow, 125371, Russia

³ St. Petersburg Postgraduate Institute of Medical Experts,

11/12 Bolshoi Sampsonievsky Ave., St. Petersburg, 194044, Russia

Corresponding author: Vita A. Borozentseva (Vita_borozentseva@mail.ru)

Abstract

Background: According to the literature, there is a high prevalence of the syndrome of senile asthenia (frailty) among the elderly. This condition is associated with a number of physical, functional and biochemical changes in the body. The interrelationships of the senile mouth with the malnutrition syndrome are known, the associations with other geriatric syndromes are insufficiently studied. At the same time, early diagnosis of conditions and diseases as the risk factors for the development of senile mouth is very important. **The aim of the study:** To study the role of the senile mouth in the formation of geriatric status. **Materials and methods:** In total, 570 elderly and senile people were included in the study (58 persons without adentia,

512 persons with adentia. The age of the patients ranged from 65 to 84 years. The groups of patients without adentia and with adentia were comparable in age and sex composition. **Results:** The study showed that the senile mouth is associated with the loss of 11 or more teeth in any variant of adentia, and with a smaller number of lost teeth – with the 1st and 4th classes of adentia according to E. Kennedy, while the ethiological causes of adentia do not have a significance in increasing the risk for developing of senile mouth. Cardiovascular pathology, type 2 diabetes mellitus and diseases of the musculoskeletal system increase the risk of developing the progression of the senile mouth. The senile mouth is associated with such geriatric syndromes as the syndrome of malnutrition and the risk of its development, dinn/sarcopenia, falls syndrome, depression, cognitive disorders and uncorrected sensory deficits. **Conclusion:** Senile mouth take place in the processes of formation of geriatric status in elderly patients. It is necessary to investigate the state of the dentition according to E. Kennedy. The patients with complete adentia, as well as with grades 1, 4 of adentia and its mixed forms are the groups of increased risk of frailty. It is also advisable to conduct a comprehensive geriatric assessment with targeted correction of the identified geriatric syndromes in people with senile mouth before and after dental intervention.

Keywords: senile mouth; frailty; intrinsic capacity; comorbidity; geriatric status; oral health

For citation: Borozentseva VA, Borozentsev VYu, Pochitaeva IP, et al. Senile mouth as a component of geriatric status. Research Results in Biomedicine. 2021;7(3):296-307. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-8

Введение. По данным литературы имеется высокая степень распространённости синдрома старческой астении среди лиц пожилого и старческого возраста [1, 2, 3]. Это состояние сопряжено рядом физических, биохимических и иммунологических сдвигов в организме [4, 5]. В настоящее время активно развивается учение о регионарных гериатрических синдромах. Довольно неплохо изучены такие регионарные гериатрические синдромы как синдром возрастной стопы, возрастной кисти. Одним из наименее изученных вопросов является взаимосвязь синдрома старческой астении с синдромом возрастной полости рта. В то же время все большую актуальность приобретает ранняя диагностика состояний и заболеваний, представляющих собой факторы риска развития синдрома возрастной полости рта. Известны взаимосвязи синдрома возрастной полости рта с синдромом мальнутриции, ассоциации с другими гериатрическими синдромами изучены недостаточно [6, 7]. В литературе имеются лишь разрозненные

несистематические данные о вкладе разнообразных дефицитов питания в генез гериатрических синдромов через призму старческой астении, возрастной и индивидуальной жизнеспособности [8, 9]. Вклад синдрома возрастной полости рта практически не рассматривается. Не найдено работ по комплексному изучению клинических и функциональных параметров с точки зрения влияния синдрома возрастной полости рта на риск развития и прогрессирования старческой астении. Вместе с тем, это является актуальным. Более 90% людей пожилого и старческого возраста имеют ту или иную степень адентии, причем далеко не всегда адекватно скорректированную. Это ограничивает площадь жевательной поверхности, и, соответственно, вынуждает людей ограничивать выбор продуктов, что приводит к нутритивным дефицитам. Также влияют и другие проблемы – артрит височно-нижнечелюстного сустава, синдром сухости ротовой полости и прочие факторы. Таким образом, требуется систематизация факторов риска раз-

вития синдрома возрастной полости рта для научного обоснования мер гериатрической профилактики при этом гериатрическом синдроме.

Цель исследования. Изучить вклад синдрома возрастной полости рта в формирование гериатрического статуса и риск развития синдрома старческой астении.

Материал и методы исследования. Исследование проводилось в течение 5 лет на протяжении 2016-2020 годов. Всего в исследование было включено 570 человек пожилого и старческого возраста, в том числе 58 человек без адентии, 512 человек с адентией. Возраст пациентов составил от 65 до 84 лет. Выбор данного возрастного интервала обусловлен двумя позициями.

Во-первых, именно возраст 65+ является наиболее рискованным по развитию старческой астении. С другой стороны, люди в возрасте 85+ представляют собой отдельную когорту пациентов с высокой степенью зависимости, что требует проведения отдельных исследований. Группы пациентов без адентии и с адентией были сопоставимы по возрастному-половому составу. Пациенты с выраженными когнитивными расстройствами, соматической патологией в тяжелой стадии и онкологическими заболеваниями не включались в настоящее исследование. Характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в исследование

Table 1

Characteristics of the patients included in the study

Признак	Характеристика пациентов	
	Без адентии	С адентией
Общее количество	570 чел.	
Количество	58 чел.	512 чел.
Возраст	65 лет – 84 года 65-74 – 32 чел., 75-84 – 26 чел.	65 лет – 84 года 65-74 – 323 чел., 75-84 – 189 чел.
Средний возраст	74,0±4,3 года	73,8±4,2 года
Пол	М – 21 чел., Ж – 37 чел.	М – 186 чел., Ж – 326 чел.

В основе ведущего критерия диагностики синдрома возрастной полости рта лежало изучение целостности зубных рядов. При этом при изучении стоматологического статуса все пациенты были разделены на подгруппы в зависимости от варианта и степени адентии в соответствии с классификацией Э. Кеннеди. Первый класс адентии имели 61 человек, второй класс – 58 человек, третий класс – 72 человек, четвертый класс – 63 человек, смешанную форму – 151 человек, полную адентию – 112 человек.

Для изучения гериатрического статуса использовалась компьютерная программа «Специализированный гериатрический осмотр», разработанная совместно учены-

ми Белгородского государственного национального исследовательского университета и Академии постдипломного образования Федерального научно-клинического центра Федерального медико-биологического агентства России (свидетельство о государственной регистрации в Роспатенте № 2015620486). При этом изучалась функция передвижения путем оценки двигательной активности по шкале Тиннети с параллельным проведением кистевой динамометрии, изучался статус питания с помощью Краткой шкалы оценки питания, давалась скрининговая оценка когнитивному статусу на основании краткой шкалы оценки психических функций, изучалось психологическое состояние на

основании Филадельфийской гериатрической шкалы и шкалы Бека. Уровень независимости в повседневной жизни оценивался по шкале Бартел. Данный набор опросников и шкал соответствует объему комплексной гериатрической оценки, рекомендованному нормативными документами Министерства здравоохранения Российской Федерации. Для оценки соматического статуса проводилась выкопировка данных из медицинской документации. При этом диагностика соматической патологии проводилась в соответствии с действующими на момент обследования национальными клиническими рекомендациями. У всех пациентов было получено согласие на включение в исследование.

Все результаты были математикостатистически обработаны. Применялись методы параметрической статистики (расчет средних величин, расчет относительных величин и их ошибок), непараметрической статистики (тест Хи-квадрат Пирсона, метод Аптона с расчетом таблиц сопряженности 2x2). Достоверными считались различия при вероятности ошибки менее 5% ($p < 0,05$). Обработка статистических данных произведена с помощью программы WinPeri (расчет границ 95% ДИ экстенсивных величин методом Fisher) и пакета прикладных программ STATA ver. 12.

Результаты. В настоящем исследовании мы изучили несколько аспектов, направленных на выявление ассоциаций между гериатрическим, стоматологическим и соматическим статусом. В ходе исследования нами была изучена зависимость между различными характеристиками синдрома возрастной полости рта и наличием или отсутствием у этих пациентов синдрома старческой астении. При этом была выявлена зависимость между количеством утраченных зубов и вероятностью возникновения синдрома старческой астении. Оказалось, что распространенность старческой астении среди людей, утративших 1 зуб составляла 5,2 [7,9-2,3] случаев на 100 человек, при утрате от 2 до 5 зубов – 6,3 [3,1-8,9], от 6 до 10 зубов – 8,5 [4,5-12,3]. Дальнейшее увеличение количе-

ства утраченных зубов приводила к достоверному ($p < 0,05$) росту вероятности развития старческой астении. Так, среди людей утративших 11-20 зубов старческая астения встречалась в 21,7 [15,7-27,2] случаев на 100 человек, среди утративших 21-25 зубов – в 57,6 [46,3-68,4] случаев на 100 человек, и при полной адентии – в 72,9 [60,2-84,6] случаях на 100 человек. Таким образом, критическим уровнем для достоверного возрастания риска развития синдрома старческой астении при синдроме возрастной полости рта была утрата 11 и более зубов (рис. 1).

Также в ходе исследования нами была изучена зависимость между различными вариантами адентии и наличием или отсутствием у этих пациентов синдрома старческой астении. При этом была выявлена достоверная зависимость между определенными видами адентии и вероятностью возникновения синдрома старческой астении. Оказалось, что распространенность старческой астении среди людей с 1 классом адентии по Кеннеди составляла 18,3 [15,1-22,2] случаев на 100 человек, при втором классе – 8,4 [6,3-10,8], при третьем – 11,2 [7,4-15,1], при четвертом – 20,1 [16,5-24,8]. Среди людей со смешанным вариантом адентии старческая астения встречалась в 58,2 [46,9-70,1] случаях на 100 человек. При полной адентии этот показатель составил 72,9 [60,2-84,6] случаев на 100 человек. Таким образом, среди вариантов адентии наименьший риск по развитию синдрома старческой астении составляла адентия 2 и 3 класса по Кеннеди. Это можно объяснить тем, что при этих вариантах адентии в наибольшей степени по сравнению с другими вариантами адентии сохраняется жевательная функция. 1 и 4 класс адентии являются достоверно более неблагоприятными. Это связано с тем, что при этих вариантах адентии площадь жевательных поверхностей уменьшается и функции пережевывания пищи ухудшаются еще в большей степени. Самыми неблагоприятными по риску развития синдрома старческой астении являются смешанный вариант адентии и полная адентия.

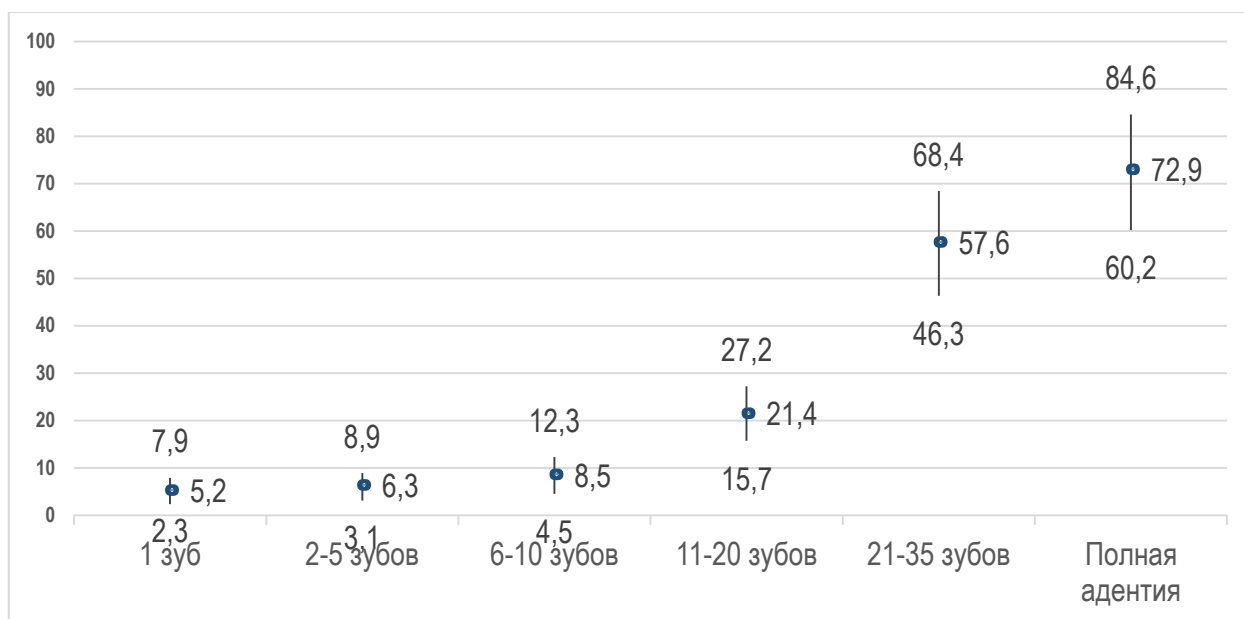


Рис. 1. Распространенность старческой астении при различной степени утраты зубов.

Fig. 1. The prevalence of frailty with various degrees of tooth loss.

При изучении спектра заболеваний, ассоциированных с синдромом возрастной полости рта, оказалось, что, согласно данных рейтинг-шкалирования, ведущее значение имели остеохондроз шейного отдела позвоночника, остеоартрит височно-нижнечелюстного сустава, коронарная болезнь сердца (в виде стенокардии напряжения), последствия перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения, сахарный диабет (второго типа), остеоартрит суставов кистей, остеоартрит плечевого сустава, остеопороз, хроническая сердечная недостаточность, гипертоническая болезнь. Это свидетельствовало о вероятной общности процессов фор-

мирования синдрома возрастной полости рта и соматического статуса, характеризующегося сочетанием компонентов метаболического синдрома, сердечно-сосудистого континуума и поражения опорно-двигательного аппарата. Это закономерно, поскольку при таких заболеваниях как сердечно-сосудистая патология и сахарный диабет второго типа формируется определенный уровень инфламэджинга, а патогенез заболеваний опорно-двигательного аппарата имеет сходные механизмы с костно-суставной системой ротовой полости, формируя условия для более легкой утраты зубов (таблица 2).

Таблица 2

Заболевания, ассоциированные с синдромом возрастной полости рта (рейтинг топ-10)

Table 2

The diseases associated with senile mouth (rating-top-10 scale)

Рейтинг	Нозологическая форма	χ^1	p
1	Остеохондроз шейного отдела позвоночника	7,11	0,0089
2	Остеоартрит височно-нижнечелюстного сустава	7,12	0,0098
3	Ишемическая болезнь сердца (стенокардия напряжения)	9,45	0,0102
4	Последствия перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения	8,15	0,0104
5	Сахарный диабет, тип 2	9,15	0,0165
6	Остеоартрит суставов кистей	10,02	0,0201
7	Остеоартрит плечевого сустава	10,62	0,0241
8	Остеопороз	11,44	0,0268
9	Хроническая сердечная недостаточность	7,63	0,0311
10	Артериальная гипертензия (гипертоническая болезнь)	8,15	0,0415

Анализ ассоциаций различных компонентов гериатрического статуса показал, что синдром возрастной полости рта был ассоциирован с такими другими гериатрическими синдромами как синдром мальнутриции (недостаточности питания) либо риском его развития, группой синдромов, связанных с нарушениями передвижения

(синдромом падений как повторный, так и первичный, динапения, саркопения), блоком дефицитарных состояний в психоэмоциональной сфере (когнитивные расстройства, депрессия) сенсорные дефициты (в частности, со снижением зрения и/или слуха в случае отсутствия их полной или адекватной коррекции) (таблица 3).

Таблица 3

Гериатрические синдромы, ассоциированные с синдромом возрастной полости рта (рейтинг-шкала топ-10)

Table 3

Geriatric syndromes associated with senile mouth (rating-top-10 scale)

Рейтинг	Нозологическая форма	χ^2	P
1	Синдром мальнутриции	7,02	0,0006
2	Синдром падений повторный	8,11	0,0011
3	Саркопения	11,34	0,0032
4	Риск развития синдрома мальнутриции	9,22	0,0047
5	Когнитивные расстройства, соответствующие уровню деменции легкой степени тяжести	9,37	0,0118
6	Синдром падений первичный	7,16	0,0139
7	Когнитивные расстройства, соответствующие додементному уровню	10,11	0,0140
8	Динапения	9,08	0,0206
9	Депрессия умеренной степени	8,12	0,0318
10	Сенсорные дефициты (некоррегированное снижение зрения и/или слуха)	8,42	0,0446

Обсуждение. Наше исследование показало, что на риск развития синдрома возрастной полости рта влияет количество утраченных зубов и вариант адентии, при этом наиболее рисковыми является потеря 11 и более зубов при любом варианте адентии, а при меньшем количестве утраченных зубов наиболее рисковыми являются 1-й и 4-й классы адентии по Э. Кеннеди. Безусловно, в будущем это потенциально приведет к снижению возрастной способности [10]. Интересным является факт, что этиологические причины адентии не имеют достоверного значения в повышении риска развития синдрома возрастной полости рта. Подобные закономерности наблюдали и другие авторы при изучении гериатрических клинко-патофизиологических цепочек [11]. Синдром возрастной полости рта достоверно повышает риск развития синдрома старческой астении, при этом наиболее неблагоприятными являются его ассоциации с такими заболеваниями и состоя-

ниями как остеоартрит височно-нижнечелюстного сустава, остеохондроз шейного отдела позвоночника, последствия перенесенного инсульта, остеоартрит суставов нижних конечностей, различные формы ишемической болезни сердца, артериальная гипертензия и сахарный диабет второго типа. По сути, этот набор нозологических форм представляет собой прогрессирующий метаболический и остеодинапенический континуумы. Выявленные закономерности позволяют воссоздать целостную картину гериатрического каскада, в основе которой лежит явление коморбидности не только нозологических форм, но и гериатрических синдромов [12-15]. При формировании гериатрического каскада синдром возрастной полости рта достоверно ассоциирован с такими гериатрическими синдромами как синдром мальнутриции и риском ее развития, дина-/саркопения, синдром падений, депрессия умеренной степени выраженности, когнитивные расстройства

и некоррегированные сенсорные дефициты, при этом наиболее неблагоприятный гериатрический статус формируется у пациентов с синдромом одиночества и высокой степенью возрастной дискриминированности. В результате развития у пациента синдрома возрастной полости рта формируются разнообразные патологические цепочки и круги, взаимно отягощающие друг друга. Например, артрит височно-нижнечелюстного сустава усугубляет процесс пережевывания пищи и так нарушенный вследствие снижения жевательной площади вследствие адентии. Это вынуждает пациентов с синдромом возрастной полости рта осуществлять рестрикцию в выборе продуктов в пользу легко пережевываемой пищи, что в итоге неминуемо ведет к нутритивным дефицитам. Нутритивные дефициты, в свою очередь, потенцируют множество других гериатрических синдромов. В частности, белковый вариант синдрома мальнотриции приводит к дина- и саркопении, дефицит по таурину и цинку способствует прогрессированию когнитивных расстройств, и так далее. По сути, нутритивно-индуцируемые процессы становятся центральным звеном в поддержании того или иного гериатрического статуса у людей с синдромом возрастной полости рта. Вследствие дефицитарных состояний ослабляются саногенетические и активируются патологические процессы. Отталкиваясь от понимания общности патологических процессов при выявленных вариантах коморбидности с большой долей вероятности можно утверждать, что формирование синдрома возрастной полости рта сопровождается явлениями инфламэйджинга [16-19], что актуализирует дальнейшее изучение биогеронтологических аспектов формирования синдрома возрастной полости рта.

Таким образом, тяжелые формы адентии как основной компонент синдрома возрастной полости рта приводит к различного рода нутритивным дисбалансам, прежде всего нутритивным дефицитам, что приводит к риску развития синдрома мальнотриции либо к манифестации самой мальнотри-

ции, что, соответственно, вызывает или усугубляет имеющуюся дина-/саркопению, когнитивный дефицит и повышает риск синдрома падений. Имеющиеся одновременно некоррегированные сенсорные дефициты способствуют еще большей негативизации гериатрического статуса.

Заключение. Синдром возрастной полости рта ассоциирован с потерей 11 и более зубов при любом варианте адентии, а при меньшем количестве утраченных зубов – с 1-ым и 4-ым классами адентии по Э. Кеннеди, при этом этиологические причины адентии не имеют достоверного значения в повышении риска развития синдрома возрастной полости рта. Сердечно-сосудистая патология, сахарный диабет второго типа и заболевания опорно-двигательного аппарата достоверно повышают риск развития прогрессирования синдрома возрастной полости рта. Синдром возрастной полости рта достоверно ассоциирован с такими гериатрическими синдромами как синдром мальнотриции и риск ее развития, дина-/саркопении, синдром падений, депрессия умеренной степени выраженности, когнитивные расстройства и некоррегированные сенсорные дефициты, синдромом одиночества и являются важной частью формирования гериатрического каскада. С практической точки зрения, в связи с доказанным вкладом синдрома возрастной полости рта в формирование гериатрического статуса у пациентов пожилого возраста следует проводить оценку состояния зубных рядов по Э. Кеннеди, при этом людей с полной адентией, а также с 1, 4 классами адентии и смешанными ее формами относить к группе повышенного риска развития синдрома старческой астении. Также целесообразно у людей с синдромом возрастной полости рта перед направлением на стоматологическое вмешательство проводить комплексную гериатрическую оценку с таргетной коррекцией выявленных гериатрических синдромов. В итоге это будет способствовать раннему выявлению синдрома возрастной полости рта, своевременной гериатрической профилактики, улучшению гериатрического

статуса и повышению качества жизни пациентов пожилого и старческого возраста.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Ткачева ОН, Котовская ЮВ, Рунихина НК, и др. Особенности клинических подходов к ведению пациентов со старческой астенией. Русский медицинский журнал. 2017;25:1823-1825.
2. Prina M, Moreno-Agostino D, Co M, et al. WHO recommendations on primary prevention interventions to improve intrinsic capacity across the life-course: a systematic review. Background paper prepared for WHO Consortium on Metrics and Evidence for Healthy Ageing, Geneva, 10-11 October 2019. Geneva: World Health Organization; 2019.
3. World Health Organization. Decade of healthy ageing: baseline report. 2021 [cited 2021 July 7]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240017900>
4. Walston J, Hadley EC, Ferrucci L, et al. Research agenda for frailty in older adults: toward a better understanding of physiology and etiology: summary from the American Geriatrics Society/National Institute on Aging Research Conference on Frailty in Older Adults. Journal of the American Geriatrics Society. 2016;54(6):991-1001. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2006.00745.x>
5. Wang J, Maxwell CA, Yu F. Biological Processes and Biomarkers Related to Frailty in Older Adults: A State-of-the-Science Literature Review. Biological Research for Nursing. 2019;21(1):80-106. DOI: <https://doi.org/10.1177/1099800418798047>
6. Fontes AP, Neri AL. Resilience in aging: literature review. Ciencia e Saude Coletiva. 2015;20 (5):1475-95. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-81232015205.00502014>
7. Cesari M, Araujo de Carvalho I, Amuthavalli Thiyagarajan J, et al. Evidence for the Domains Supporting the Construct of Intrinsic Capacity. Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences. 2018;73(12):1653-1660. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/gly011>
8. Belloni G, Cesari M. Frailty and Intrinsic Capacity: Two Distinct but Related Constructs. Frontiers in Medicine. 2019;6:133. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00133>
9. Nestola T, Orlandini L, Beard JR, et al. COVID-19 and Intrinsic Capacity. Journal of Nutrition, Health and Aging. 2020;24(7):692-695. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1397-1>
10. Beard JR, Jotheeswaran AT, Cesari M, et al. The structure and predictive value of intrinsic capacity in a longitudinal study of ageing. BMJ Open. 2019;9(11):e026119. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2018-026119>
11. Шарова АА. Особенности гериатрического статуса, определяющие направления геронтологической профилактики пациентов разного возраста в клиниках эстетической медицины. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(4):561-572. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-11.
12. Nyqvist F, Pape B, Pellfolk T, et al. Structural and cognitive aspects of social capital and all-cause mortality: a meta-analysis of cohort studies. Social Indicators Research. 2014;116(2):545-566. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11205-013-0288-9>
13. Seeman TE. Social ties and health: The benefits of social integration. Annals of Epidemiology. 1996;6:442-451. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1047-2797\(96\)00095-6](https://doi.org/10.1016/S1047-2797(96)00095-6)
14. Torstensen TA, Grooten WA, Heijne A, et al. How does exercise dose affect patients with long-term osteoarthritis of the knee? A study protocol of a randomised controlled trial in Sweden and Norway: the SWENOR Study. BMJ Open. 2018;8(5):13-19. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2017-018471>
15. Walston J, Hadley EC, Ferrucci L, et al. Research agenda for frailty in older adults: toward a better understanding of physiology and etiology: summary from the American Geriatrics Society/National Institute on Aging Research Conference on Frailty in Older Adults. Journal of the American Geriatrics Society. 2016;54:991-

1001. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2006.00745>

16. Staniute M, Brozaitiene J, Burkauskas J, et al. Type D personality, mental distress, social support and health-related quality of life in coronary artery disease patients with heart failure: a longitudinal observational study. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2015;13:1-11. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12955-014-0204-2>

17. Roe DA. Geriatric Nutrition. *Clinics in Geriatric Medicine*. 2009;1:6-11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12349-008-0021-4>

18. Pahor M, Manini T, Cesari M. Sarcopenia: clinical evaluation, biological markers and other evaluation tools. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2009;13:724-728. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-009-0204-9>

19. Wang J, Maxwell CA, Yu F. Biological Processes and Biomarkers Related to Frailty in Older Adults: A State-of-the-Science Literature Review. *Biological Research for Nursing*. 2019;21(1):80-106. DOI: <https://doi.org/10.1177/1099800418798047>

References

1. Tkacheva ON, Kotovskaya YuV, Rukhina NK, Ostapenko V.S. Features of clinical approaches to managing patients with senile asthenia. *Russian Medical Journal*. 2017;25:1823-1825. Russian.

2. Prina M, Moreno-Agostino D, Co M, et al. WHO recommendations on primary prevention interventions to improve intrinsic capacity across the life-course: a systematic review. Background paper prepared for WHO Consortium on Metrics and Evidence for Healthy Ageing, Geneva, 10-11 October 2019. Geneva: World Health Organization; 2019.

3. World Health Organization. Decade of healthy ageing: baseline report. 2021 [cited 2021 July 7]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240017900>

4. Walston J, Hadley EC, Ferrucci L, et al. Research agenda for frailty in older adults: toward a better understanding of physiology and etiology: summary from the American Geriatrics Society/National Institute on Aging Research Conference on Frailty in Older Adults. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2016;54(6):991-1001. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2006.00745.x>

5. Wang J, Maxwell CA, Yu F. Biological Processes and Biomarkers Related to Frailty in

Older Adults: A State-of-the-Science Literature Review. *Biological Research for Nursing*. 2019;21(1):80-106. DOI: <https://doi.org/10.1177/1099800418798047>

6. Fontes AP, Neri AL. Resilience in aging: literature review. *Ciencia e Saude Coletiva*. 2015;20 (5):1475-95. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-81232015205.00502014>

7. Cesari M, Araujo de Carvalho I, Amuthavalli Thiyagarajan J, et al. Evidence for the Domains Supporting the Construct of Intrinsic Capacity. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*. 2018;73(12):1653-1660. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/gly011>

8. Belloni G, Cesari M. Frailty and Intrinsic Capacity: Two Distinct but Related Constructs. *Frontiers in Medicine*. 2019;6:133. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00133>

9. Nestola T, Orlandini L, Beard JR, et al. COVID-19 and Intrinsic Capacity. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2020;24(7):692-695. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1397-1>

10. Beard JR, Jotheeswaran AT, Cesari M, et al. The structure and predictive value of intrinsic capacity in a longitudinal study of ageing. *BMJ Open*. 2019;9(11):e026119. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2018-026119>

11. Sharova AA. Features of the geriatric status guiding gerontological prevention of patients of different ages in aesthetic medicine clinics. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(4):561-572. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-11>

12. Nyqvist F, Pape B, Pellfolk T, et al. Structural and cognitive aspects of social capital and all-cause mortality: a meta-analysis of cohort studies. *Social Indicators Research*. 2014;116(2):545-566. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11205-013-0288-9>

13. Seeman TE. Social ties and health: The benefits of social integration. *Annals of Epidemiology*. 1996;6:442-451. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1047-2797\(96\)00095-6](https://doi.org/10.1016/S1047-2797(96)00095-6)

14. Torstensen TA, Grooten WA, Heijne A, et al. How does exercise dose affect patients with long-term osteoarthritis of the knee? A study protocol of a randomised controlled trial in Sweden and Norway: the SWENOR Study. *BMJ Open*. 2018;8(5):13-19. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2017-018471>

15. Walston J, Hadley EC, Ferrucci L, et al. Research agenda for frailty in older adults:

toward a better understanding of physiology and etiology: summary from the American Geriatrics Society/National Institute on Aging Research Conference on Frailty in Older Adults. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2016;54:991-1001. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2006.00745>

16. Staniute M, Brozaitiene J, Burkauskas J, et al. Type D personality, mental distress, social support and health-related quality of life in coronary artery disease patients with heart failure: a longitudinal observational study. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2015;13:1-11. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12955-014-0204-2>

17. Roe DA. Geriatric Nutrition. *Clinics in Geriatric Medicine*. 2009;1:6-11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12349-008-0021-4>

18. Pahor M, Manini T, Cesari M. Sarcopenia: clinical evaluation, biological markers and other evaluation tools. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2009;13:724-728. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-009-0204-9>

19. Wang J, Maxwell CA, Yu F. Biological Processes and Biomarkers Related to Frailty in Older Adults: A State-of-the-Science Literature Review. *Biological Research for Nursing*. 2019;21(1):80-106. DOI: <https://doi.org/10.1177/1099800418798047>

Статья поступила в редакцию 20 мая 2021 г.
Поступила после доработки 24 июня 2021 г.
Принята к печати 12 июля 2021 г.

Received 20 May 2021
Revised 24 June 2021
Accepted 12 July 2021

Информация об авторах

Вита Алексеевна Борозенцева, заведующий стоматологическим отделением, врач стоматолог-терапевт, Межрегиональный центр стоматологических инноваций им. Б.В. Трифонова, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: Vita_borozentseva@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4465-4658>.

Владислав Юрьевич Борозенцев, аспирант по научной специальности 14.01.30 – Геронтология и гериатрия, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: [longterm-](mailto:longterm-care.fmba@gmail.com)

care.fmba@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2003-5804>.

Ирина Петровна Почитаева, доктор медицинских наук, профессор кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины, Академия постдипломного образования, ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: justforyouip@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6329-1648>.

Ольга Анатольевна Рождественская, кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины, Академия постдипломного образования, ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: Olandes@ya.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7099-4341>.

Тамара Валентиновна Евдокимова, ассистент кафедры терапии МСЭ и реабилитации № 2, ФГБУ ДПО «Санкт-Петербургский институт усовершенствования врачей-экспертов», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: yrtonik71@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6443-8170>.

Information about the authors

Vita A. Borozentseva, Head of the Dental Department, Dentist-therapist, Trifonov Interregional Center for Dental Innovations (ICDI), Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: Vita_borozentseva@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4465-4658>.

Vladislav Yu. Borozentsev, Postgraduate Student in scientific specialty 14.01.30 – Gerontology and Geriatrics, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: longterm-care.fmba@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2003-5804>.

Irina P. Pochitaeva, Doct. Sci. (Medicine), Professor at the Department of Therapy, Geriatrics and Anti-Aging Medicine, Academy of Postgraduate Education, Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia, E-mail: justforyouip@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6329-1648>.

Olga A. Rozhdestvenskaya, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Therapy, Geriatrics and Anti-Aging Medicine, Academy of Postgraduate Education, Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies, Federal Medical Biological Agency, Moscow,

Russia, E-mail: Olandes@ya.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7099-4341>.

Tamara V. Evdokimova, Assistant at the Department of ITU Therapy and Rehabilitation No. 2, St. Petersburg Postgraduate Institute of Medical Experts, Saint Petersburg, Russia, E-mail: yrtonik71@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6443-8170>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-9

УДК [616.45+616.44+616.43]:[616.71-003+612.67]

Вклад эндокринной системы в развитие остеопороза у лиц пожилого и старческого возраста (обзор)

С.В. Булгакова¹ , Д.П. Курмаев¹ , М.В. Силютин² ,
Е.А. Воронина³ , Т.Е. Ничик⁴

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет»,
ул. Чапаевская, д. 89, г. Самара 443099, Российская Федерация.

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко»,
ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036, Российская Федерация

³ Министерство социальной защиты населения Кузбасса,
Кузнецкий пр., д. 19А, г. Кемерово, 650991, Российская Федерация

⁴ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Самарской области
«Тольяттинская городская клиническая больница № 1»,
ул. Октябрьская, д. 68, г. Тольятти, 445009, Российская Федерация
Автор для переписки: С.В. Булгакова (osteoporosis63@gmail.com)

Резюме

Актуальность: Остеопороз все чаще встречается у лиц пожилого и старческого возраста, сохраняя свою огромную медико-социальную значимость. Влияние гормонов на костный метаболизм не вызывает сомнений. Тем не менее, в настоящее время больше всего данных о действии половых гормонов на костную ткань. По остальным гормонам, порой, остаются противоречивые мнения.

Цель исследования: На основе литературных данных изучить вклад эндокринной системы в развитие остеопороза у лиц пожилого и старческого возраста. **Материалы и методы:** Проведен анализ литературных данных по поисковым словам – остеопороз, минеральная плотность костной ткани, ФСГ, эстрогены, тестостерон, кортизол, витамин D, IGF1 за 1998-2020 года в компьютерных базах данных: PubMed, Scopus, Medical-Science, Elibrary, Web of Science, Ceeol. **Результаты:** Анализ литературных данных показал, что повышение уровней тиреотропного гормона (ТТГ) играет остеопротективную роль, снижение уровней эстрогена, тестостерона, инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1) и витамина D, а также повышение уровней кортизола, паратиреоидного гормона и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) способствуют потере костной массы у лиц пожилого и старческого возраста. Кроме того, генотип рецептора ФСГ (ФСГР) AA rs6166 связан с низкой минеральной плотностью костной ткани независимо от уровня эстрогена. Поликлональное антитело с ФСГР-связывающей последовательностью против β -субъединицы ФСГ мыши, по-видимому, является эффективным средством для снижения потери костной массы у мышей, подвергнутых овариэктомии. **Заключение:** Необходима ком-

плексная оценка гормонального профиля у лиц пожилого и старческого возраста для выявления причины остеопороза и формирования индивидуальной программы лечебно-диагностических и реабилитационных мероприятий. В настоящее время есть все предпосылки для разработки новых диагностических и терапевтических вмешательств для коррекции низкой костной плотности.

Ключевые слова: остеопороз; минеральная плотность костной ткани; ТТГ; ФСГ; эстрогены; тестостерон; кортизол; витамин D; IGF1

Для цитирования: Булгакова СВ, Курмаев ДП, Силютин МВ, и др. Вклад эндокринной системы в развитие остеопороза у лиц пожилого и старческого возраста (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2021;7(3):308-321. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-9

The contribution of the endocrine system to the development of osteoporosis in the elderly and senile (review)

Svetlana V. Bulgakova¹ , Dmitriy P. Kurmaev¹ , Marina V. Silyutina² ,
Elena A. Voronina³ , Tatyana E. Nichik⁴ 

¹ Samara State Medical University,

89 Chapaevskaya St., Samara, 443099, Russia

² Burdenko Voronezh State Medical University,

10 Studencheskaya St., Voronezh, 394036, Russia

³ Ministry of Social Protection of the Population of Kuzbass,

19A Kuznetskiy Ave., Kemerovo, 650991, Russia

⁴ Tolyatti City Clinical Hospital No. 1,

68 Oktyabrskaya St., Tolyatti, 445009, Russia

Corresponding author: Svetlana V. Bulgakova (osteoporosis63@gmail.com)

Abstract

Background: Osteoporosis is increasingly found in the elderly and senile, maintaining its enormous medical and social significance. The effect of hormones on bone metabolism is beyond doubt. However, currently the data on the effect of sex hormones on bone tissue prevails. As for the other hormones, sometimes, there are conflicting opinions. **The aim of the study:** Based on published data, to study the contribution of the endocrine system to the development of osteoporosis in the elderly. **Materials and methods:** Literature data was analyzed using the following search words: osteoporosis, bone mineral density, FSH, estrogens, testosterone, cortisol, vitamin D, IGF1 for 1998-2020 in computer databases PubMed, Scopus, Medical-Science, Elibrary, Web of Science, Ceeol. **Results:** Analysis of the literature showed that the increase of levels of thyroid stimulating hormone (TSH) plays an osteoprotective role; the decrease of levels of estrogen, testosterone, insulin-like growth factor 1 (IGF1) and vitamin D, as well as the increase in the levels of cortisol, parathyroid hormone and follicle-stimulating hormone (FSH) contribute to bone loss in the elderly and senile. In addition, the FSH receptor (FSHR) genotype AA rs6166 is associated with low bone mineral density, regardless of estrogen level. A polyclonal

antibody with an FSHR-binding sequence against mouse β -subunit of FSH is likely to be an effective tool for reducing bone loss in mice subjected to ovariectomy. **Conclusion:** A comprehensive assessment of the hormonal profile in the elderly and senile is needed to identify the causes of osteoporosis and the formation of an individual program of medical diagnostic and rehabilitation measures. Currently, there are all prerequisites for the development of new diagnostic and therapeutic interventions for the correction of low bone density.

Keywords: osteoporosis; bone mineral density; TSH; FSH; estrogens; testosterone; cortisol; vitamin D; IGF1

For citation: Bulgakova SV, Kurmaev DP, Silyutina MV, et al. The contribution of the endocrine system to the development of osteoporosis in the elderly and senile (review). Research Results in Biomedicine. 2021;7(3):308-321. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-9

Введение. Определение остеопороза впервые было дано Международным консенсусом в 1993 году как системное метаболическое заболевание скелета, основными признаками которого являются низкая костная масса и нарушение ее микроархитектоники, что приводит к хрупкости костей, которая проявляется переломами при незначительной травме [1]. Согласно критериям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Т-критерий минеральной плотности костной ткани (МПКТ) 2,5 стандартных отклонений (СО) или менее указывает на остеопороз, тогда как остеопения определяется при значениях в диапазоне от -1 до -2,49 [2].

Скелет человека обновляется каждые 10 лет посредством процесса, называемого ремоделированием, при котором старая кость заменяется новой. Это происходит в локусах ремоделирования, где при четко определенных временных и пространственно-связанных событиях сначала стимулируются остеокласты (ОК) для повторной резорбции части минерализованной кости, с последующим апоптозом. Остеобласты (ОБ), в свою очередь, появляются для создания и минерализации новой костной ткани. В скелете молодого взрослого человека существует количественный баланс между количеством костеобразования и резорбцией. При моделировании кости, в отличие от ремоделирования, резорбция и костеобразование не связаны во времени или в пространстве. Этот процесс важен

для роста и развития костной ткани, происходит после механического напряжения и направлен на формирование костей и оптимизацию их формы и структуры. Каждое событие, которое способно уменьшить костеобразование или увеличить резорбцию, может снизить МПКТ [3].

Связанные с остеопорозом переломы все чаще встречаются у женщин после 55 лет, а также у мужчин после 65 лет, что указывает на негативное влияние старения на метаболизм костной ткани. Старение влияет на баланс ремоделирования в зависимости от пола. У женщин это связано с усилением костной резорбции, а у мужчин – с уменьшением костеобразования и интенсивности метаболизма костной ткани [4]. Влияние гормонов на метаболизм ОБ и ОК не ограничивается только половыми гормонами, как показывают доклинические исследования, ряд других гормонов, уровень которых варьирует с возрастом, также способны влиять на него.

Цель исследования. Целью данного обзора является изучение вклада эндокринной системы в развитие остеопороза у лиц пожилого и старческого возраста.

Материалы и методы исследования. Проведен анализ литературных данных по поисковым словам – остеопороз, минеральная плотность костной ткани, ФСТ, эстрогены, тестостерон, кортизол, витамин D, IGF1 за 1998-2020 года в компьютерных базах данных: PubMed, Scopus, Medical-Science, Elibrary, Web of Science, Ceeol.

Результаты и их обсуждение

1. Доклинические данные

Равновесие между резорбцией костной ткани и костеобразованием во время ремоделирования обусловлено сбалансированной активностью ОК и ОБ. Этот баланс, в основном, регулируется активатором рецепторов ядерного фактора -КВ-лиганд (RANKL)/RANK (его рецептор)/остеопротегерин (OPG) (запускающий остеокластогенез) и Wnt/ β -катенином (запускающим остеобластогенез). Также было признано, что некоторые цитокины играют роль в таком балансе, поскольку провоспалительные (например, IL-1, IL-6, TNF α), высвобождаемые ОБ и Т-клетками, могут ускорять резорбцию костной ткани. Было обнаружено, что гормоны щитовидной железы, глюкокортикоиды (ГК), половые гормоны, гонадотропины, паратиреоидный гормон (ПТГ), витамин D и инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1) модулируют пути RANKL / RANK / OPG, Wnt / β -catenin или высвобождение цитокинов [5].

1.1. Гормоны щитовидной железы и тиреотропный гормон

Тиреотоксикоз связан с потерей костной массы. Это было впервые обнаружено в исследованиях *in vitro*, показавших влияние гормонов щитовидной железы (Т3 и Т4) на резорбцию и костеобразование [6]. Однако ремоделирование кости не страдает у мышей с отсутствием рецепторов к гормонам щитовидной железы (TR) $\alpha 1/\beta$, что указывает на то, что гормоны щитовидной железы не могут напрямую влиять на метаболизм костной ткани. Рецептор тиреотропного гормона (ТТГ) (TTGR) экспрессируется в предшественниках ОК и ОБ. Снижение экспрессии TTGR на 50% вызывает остеопороз и очаговый остеосклероз у эутиреоидных нулевых мышей. Кроме того, было обнаружено, что ТТГ препятствует образованию и выживанию ОК, действуя на передачу сигналов JNC/c-jun и NFkB, запускаемых RANKL и TNF α , как показывают данные культур ОК или ОБ, инкубированных с рекомбинантным человеческим ТТГ. Он также ингиби-

рует дифференцировку ОК, подавляя передачу сигналов Wnt и VEGF. Эти данные подтверждают гипотезу о прямом влиянии ТТГ на метаболизм костной ткани. В частности, ТТГ непосредственно снижает ремоделирование кости, воздействуя как на образование и выживание ОК, так и на дифференцировку ОБ [3, 7].

1.2. Глюкокортикоиды и аденокортикотропный гормон

ГК влияют на метаболизм костной ткани, главным образом воздействуя на ОБ, так как метаболизм ОК, по-видимому, не зависит от их влияния. Соответственно, было предположено, что ингибирование костеобразования является основной причиной глюкокортикоид-индуцированного остеопороза. Исследование *in vitro* показало, что дексаметазон ингибировал остеогенез и экспрессию остеогенных белков (щелочной фосфатазы (ALP) и остеокальцина (OCN)) путем подавления фосфорилирования пути PI3K/Akt [8]. ГК могут снизить созревание ОБ, продолжительность их жизни и активное функционирование. Кроме того, ГК могут вызывать остеонекроз или аваскулярный некроз, вызывая апоптоз ОБ, уменьшая костную массу, приток крови к кости и гидратацию. Иммуногистохимическая оценка показала, что остециты, которые являются окончательно дифференцированными ОБ, также подвергаются аутофагии или апоптозу после воздействия ГК [9].

Наоборот, аденокортикотропный гормон (АКТГ), как было показано, оказывает защитное действие против глюкокортикоид-индуцированного остеонекроза [9]. Tourkova I.L. et al. (2017) оценили возможность инкубации с АКТГ влиять на дифференцировку ОБ человека. Воздействие АКТГ приводило к усилению остеогенеза за счет ускорения экспрессии специфичных для кости генов (например, коллагена I, бигликана, рецептора витамина D и TGF- β) [10]. Подобные результаты были также подтверждены в другом исследовании [11].

1.3. Половые гормоны и гонадотропины

Эстрогены издавна считались ингибиторами резорбции костной ткани, пре-

пятствующими дифференцировке ОК [12, 13]. Доказательства *in vitro* подтверждают модулирующую роль эстрогенов в высвобождении воспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF α) из ОБ и Т-клеток. Они также могут препятствовать дифференцировке ОК, воздействуя на их предшественников [4]. Основные молекулярные механизмы данного действия не совсем ясны, тем не менее, они отрабатываются на моделях мышей со специфической делецией рецептора эстрогена (ER) в отдельных костных клетках. Действительно, селективный нокаут ER α в ОК у самок мышей (но не у самцов) вызывает остеопороз, подобный постменопаузе. Эстрогены, по-видимому, напрямую регулируют продолжительность жизни ОК с помощью системы Fas/FasL. Сходным образом, делеция ER α в предшественниках ОБ приводит к снижению прироста периостальной кости, массы кортикальной кости. Считается, что это является результатом эстрогензависимого усиления пути Wnt/ β -catenin, что, в свою очередь, приводит к пролиферации и дифференцировке клеток-предшественников ОБ. Кроме того, система OPG/RANKL, видимо, является одним из медиаторов ER α -нисходящего пути [14].

Андрогены могут влиять на метаболизм костной ткани либо напрямую, связывая их специфический рецептор (AR), либо косвенно, воздействуя на ER после их ароматизации. AR был идентифицирован в культивируемых ОБ плода человека, где он способствует пролиферации и дифференцировке клеток путем ингибирования их апоптоза с помощью IL-1 β и опосредованных FGF эффектов. Андрогены также, по-видимому, косвенно подавляют пролиферацию ОК, поскольку гипогонадизм, обусловленный орхиэктомией, приводит к пролиферации остеоцитов. Действительно, гипотестостеронемия повышает секрецию RANKL предшественниками ОБ, что, в свою очередь, стимулирует пролиферацию ОК [15].

Есть данные о потере костной массы у мышей с овариэктомией, но не у мышей, подвергающихся овариэктомии плюс ги-

пофизэктомии. Эти наблюдения привели к предположению о возможной роли фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в метаболизме костной ткани. У мышей с овариэктомией, нокаутированных по рецепторам ФСГ (ФСGR) и нокаутом ФСГ β , не происходит потери костной массы, что позволяет предположить, что путь ФСГ/ФСGR участвует в патогенезе остеопороза. Эксперименты *in-vitro* показали, что ФСГ стимулирует ОК с помощью Gi2-сцепленного ФСGR, запускает пути MEK / Erk, NFkB и Akt, усиливая остеокластогенез и резорбцию костной ткани [16]. Пептидное поликлональное антитело длиной 13 аминокислот, способное селективно связывать и ингибировать субъединицу ФСГ β , использовали в исследованиях на животных для изучения возможной роли ФСГ в профилактике остеопороза. Ингибирование эффекта ФСГ успешно препятствовало образованию остеокластов *in vitro*. При введении мышам, подвергшимся овариэктомии, антитело против ФСГ β значительно ослабляло потерю костной массы, стимулируя образование костной ткани и ингибируя резорбцию [17]. Необходимо дальнейшее изучение этих результатов в клинической практике для создания нового антиостеопоротического препарата.

Имеются скудные данные о влиянии лютеинизирующего гормона (ЛГ) на метаболизм костной ткани. ЛГ-рецепторы (ЛГР) экспрессируются в ОБ. В отличие от ФСГ, мыши, нокаутированные по ЛГР, имеют меньшую костную массу по сравнению с животными дикого типа, что, по-видимому, является вторичным по отношению к подавленной продукции гонадных стероидов [18].

1.4. Паратиреоидный гормон и витамин D

Гормон паращитовидной железы (ПТГ) оказывает существенное влияние на метаболизм костной ткани, вызывая как резорбцию кости, так и ее образование, в зависимости от того, какие типы клеток активированы, и от временного характера активации. Стимулируя экспрессию RANKL и RANK и ингибируя секрецию

ОРГ, он усиливает остеокластогенез и резорбцию кости, в основном способствуя потере кортикальной костной ткани [3, 4].

Витамин D играет остеопротективную роль, воздействуя, главным образом, на ОБ. Кроме того, известно, что рецептор витамина D экспрессируется как в остеоцитах, так и в ОБ. В связи с этим, введение витамина D способствует увеличению костной массы, подавляя резорбцию костной ткани. Действительно, условное нокаутирование этого рецептора в ОБ блокирует действие витамина D. Также было обнаружено, что повышенные уровни витамина D улучшают формирование костной ткани, вызывая дифференцировку ОБ [19].

1.5. Инсулиноподобный фактор роста 1

ОБ экспрессируют рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1) (IGF1R), активация которого усиливает остеобластогенез путем запуска пути PI3K/Akt. Соответственно, стимуляция IGF1R в пре-osteобластах стимулирует синтез коллагена I типа и экспрессию остеогенного белка (ALP и OCN) *in vitro*. Точно так же данные *in vivo* показали, что IGF1 также играет роль в отложении костного матрикса. Эксперименты *ex-vivo* на ОК показывают, что IGF1 усиливает их активность и резорбцию костной ткани. Инактивация оси IGF в остеоцитах нарушает морфологию кортикальной кости и указывает на роль гормона в формировании периостальной кости. Таким образом, IGF1 влияет на костную ткань, воздействуя на ОБ, остециты и ОК. В целом, остеопротективная роль была доказана, в связи с обнаружением низких уровней IGF1 при потере костной массы [20, 21].

2. Гормональные изменения у лиц пожилого и старческого возраста

2.1. Гормоны щитовидной железы и тиреотропный гормон

Последние данные свидетельствуют о том, что уровни ТТГ в сыворотке крови возрастают у пожилых людей. Масштабное американское исследование National Health and Nutritional Examination Survey III (NHANES) показало, что сывороточные уровни ТТГ и антител к пероксидазе щитовидной железы (ТРОAb) и тиреоглобулину (ТгAb) увеличивается с возрастом как у мужчин, так и у женщин [22]. Кроме того, оба исследования Cardiovascular Health Study (CVHS All Stars Surveys) и Busselton выявили значительное повышение уровней ТТГ с возрастом при незначительном или нулевом изменении уровней свободного Т4 в течение 13-летнего периода наблюдения [23, 24].

Поскольку концентрация ТТГ в крови увеличивается с возрастом, необходима переоценка распространенности субклинического гипотиреоза у лиц пожилого и старческого возраста. Действительно, эталонные диапазоны для ТТГ и гормонов щитовидной железы получены в основном на популяции более молодого населения, а возрастные диапазоны не используются в обычной клинической практике. Обнаружено, что при использовании единого эталонного диапазона ТТГ во всех возрастных группах в исследовании NHANES, субклинический гипотиреоз был выявлен у 70% пожилых людей, что может привести к неправильной терапии [25]. Точные механизмы, лежащие в основе изменения функции щитовидной железы у пожилых людей, не совсем ясны. Биологическая активность ТТГ может снижаться с возрастом, возможно, вследствие изменений гликозилирования ТТГ или связанного с возрастом снижения чувствительности щитовидной железы к ТТГ [3, 4]. Тем не менее, в связи с остеопротективным эффектом ТТГ следует избегать его подавления с помощью L-тироксина для лечения субклинического гипотиреоза и узлов щитовидной железы у лиц пожилого и старческого возраста [26].

Исследование NHANES показало распространенность субклинического и явного гипертиреоза в популяции – 1,3%. Это же исследование обнаружило явное увеличение распространенности гипертиреоза в возрастной группе старше 70 лет – 4-7% [22]. Это может быть связано с тем, что при старении в районах с дефицитом йода увеличивается количество автономно функционирующих узлов щитовидной железы.

Исследование NHANES показало распространенность субклинического и явного гипертиреоза в популяции – 1,3%. Это же исследование обнаружило явное увеличение распространенности гипертиреоза в возрастной группе старше 70 лет – 4-7% [22]. Это может быть связано с тем, что при старении в районах с дефицитом йода увеличивается количество автономно функционирующих узлов щитовидной железы.

лезы. Следовательно, распространенность дисфункции щитовидной железы (несколько повышенный или сниженный ТТГ), увеличивается у лиц пожилого и старческого возраста. Тем не менее, необходимы дополнительные исследования для определения являются ли эти изменения частью здорового старения или биомаркером основного заболевания [3].

2.2. Глюкокортикоиды

Ряд изменений происходят в деятельности надпочечников во время старения: увеличивается секреция ГК и снижается продукция андрогенов и альдостерона надпочечниками. Изменяется и циркадный ритм секреции: более низкий утренний пик и повышенный вечерний и ночной уровни. Кроме того, наблюдается снижение отрицательной обратной связи по оси гипоталамус-гипофиз-надпочечник (НРА), которая может быть связана с несколькими факторами, такими как сосудистые компоненты, снижение количества рецепторов глюкокортикоидов в головном мозге, изменение клиренса кортизола в гематоэнцефалическом барьере или в спинномозговой жидкости СМЖ [27].

2.3. Половые гормоны и гонадотропины

Широко признано, что у женщин эстрогены сыворотки крови падают, а гонадотропины быстро повышаются после менопаузы в результате первичной недостаточности яичников. Аналогичным образом, уровни половых гормонов у мужчин снижаются при старении. Известно, что у мужчин ежегодно происходит снижение уровней тестостерона примерно на 1-2%. Циркулирующий тестостерон связан высоким сродством с глобулином, связывающим половые гормоны (ГСПГ) и альбумином, и только 0,5–3% остается свободным, представляя биологически активную фракцию. Концентрация ГСПГ увеличивается с возрастом, что означает, что концентрация свободного тестостерона уменьшается [13, 28]. Исследование, проведенное Decaroli M.C. et al (2017), показало, что уровень общего тестостерона в сыворотке крови снижается на 2,7%, в то

время как ГСПГ увеличивается на 2,7% у мужчин в возрасте 55-68 лет [29].

Сочетание симптомов низкого тестостерона и гипогонадизма у пожилых мужчин определяется как «гипогонадизм с поздним началом» (LOH). Европейское исследование мужского старения (EMAS) определило строгие критерии для диагностики LOH. Они включают в себя одновременное присутствие низкого уровня тестостерона в сыворотке крови (общий <11 нмоль/л и свободный <220 пмоль/л), что должно быть подтверждено как минимум дважды, и три половых симптома (эректильная дисфункция, снижение утренней эрекции и снижение сексуальных мыслей). Таким образом, когда используются только биохимические критерии (т.е. уровень тестостерона ниже нижнего предела референтного диапазона молодых мужчин), распространенность гипогонадизма выше. Согласно строгим критериям EMAS, распространенность LOH составляет около 2% среди мужчин в возрасте 40-80 лет [30].

Кроме того, показано увеличение как ЛГ, так и ФСГ, на 1,1% и 3,5% в год соответственно, подтверждая, таким образом, первичную природу LOH [3]. Соответственно, общее количество клеток Сертоли и Лейдига уменьшается примерно до половины числа, наблюдаемого в яичке молодого человека. Однако и ожирение, и хронические заболевания (например, сахарный диабет 2 типа, метаболический синдром, сердечно-сосудистые и хронические обструктивные заболевания легких) играют важную роль в снижении секреции тестостерона при старении [3]. Ожирение как причина низкого тестостерона у пожилых людей встречается чаще. EMAS показал, что 73% пациентов с LOH имеют ожирение или избыточный вес [30]. Эта форма гипогонадизма характеризуется низким тестостероном с низким или субнормальным уровнем ЛГ в сыворотке (вторичный гипогонадизм).

В последние годы возрос интерес к роли ФСГ в метаболизме костной ткани. Как показывают доклинические данные,

ФСГ усиливает остеокластогенез и способствует потере костной массы. Поэтому повышение уровня ФСГ, наблюдаемое у женщин в постменопаузе, играет большую роль в патогенезе остеопороза [4]. Соответственно, генотип AA rs6166 ФСГР, кодирующий более чувствительный ФСГР, связан с более низкой костной плотностью, независимо от уровня циркулирующего эстрогена [31]. Таким образом, генотип rs6166 ФСГР может быть выбран в качестве диагностического инструмента для стратификации риска развития остеопороза у женского пола. Роль этого полиморфизма при остеопорозе у мужчин требует более глубокого изучения.

Увеличение ФСГ также характерно для пожилых мужчин. Ряд исследований, проведенных у мужчин старшего возраста, выявили отрицательную связь ФСГ с МПКТ в поясничном отделе позвоночника, шейке бедра и бедре независимо от уровня тестостерона, что подтверждает отрицательное влияние ФСГ на костную плотность [32].

Разработанное поликлональное антитело с FSHR-связывающей способностью β -субъединицы ФСГ мышцы имеет перспективу дальнейшего исследования для разработки антиостеопоротического препарата [17].

2.4. Паратиреоидный гормон и витамин D

Установлено, что частота первичного и вторичного гиперпаратиреоза увеличивается с возрастом. Первичный гиперпаратиреоз (ПГП) возрастает до 5:1 после 75 лет. В большинстве случаев ПГП вызывается одной аденомой околощитовидной железы (75–85%), тогда как в 15–20% случаев гиперплазия поражает более одной околощитовидной железы. Вторичный гиперпаратиреоз часто встречается как из-за высокой распространенности дефицита витамина D, так и из-за снижения функции почек. Действительно, снижение абсорбции кальция из-за дефицита витамина D приводит к увеличению секреции ПТГ для поддержания гомеостаза макроэлемента [33].

Витамин D, в основном, вырабатывается в коже благодаря воздействию солнечного ультрафиолета на 7-дегидрохолестерин. Затем для активации требуется два гидроксирования. Первое происходит в печени с помощью 25-гидроксилазы (CYP2R1) с продукцией 25-гидроксивитамина D (25(OH)D), который обычно считается лучшим маркером статуса витамина D, второе – в почках с помощью 1-альфа-гидроксилазы (CYP27B1) до 1,25 дигидроксивитамина D (1,25 (OH) 2D). Дефицит витамина D является распространенным явлением среди лиц пожилого и старческого возраста. Многие факторы влияют на выработку и активность витамина D при старении. Прежде всего, пожилые люди проводят меньше времени на свежем воздухе, особенно если они проживают в социальных учреждениях. Кроме того, кожная способность вырабатывать витамин D у пожилых людей, по оценкам, составляет около 25% от возраста 20-30 лет, при воздействии такого же количества солнечного света. Это снижение, по видимому, связано со снижением концентрации 7-дегидрохолестерина в коже [34]. Дефицит витамина D может способствовать снижению всасывания кальция. Действительно, кишечная абсорбция кальция уменьшается с возрастом, и развитие кишечной резистентности к 1,25(OH)₂D может способствовать снижению абсорбции этого макроэлемента. Кроме того, почечная функция снижается при старении, и это сопровождается нарушением гидроксирования от 25(OH)D до 1,25(OH)₂D3 [35, 36]. Одновременно со снижением почечной продукции 1,25(OH)₂D наблюдается также возрастное снижение количества почечного рецептора витамина D (VDR) и эпителиальных кальциевых (Ca²⁺) каналов, экспрессии TRPV5, что снижает эффективность реабсорбции кальция почками [37].

2.5. Инсулиноподобный фактор роста 1

Давно известно, что сывороточный IGF1 снижается с возрастом [21]. Ряд кли-

нических исследований связывают снижение IGF1 у пожилых людей с низкой МПКТ. Так, исследование Framingham Osteoporosis, проведенное у мужчин и женщин в возрасте 72–74 лет, показало, что высокие уровни IGF1 ассоциированы с большей МПКТ у пожилых женщин [38]. Кроме того, низкие уровни IGF1 коррелируют с повышенным риском переломов [39]. Другие исследования не подтверждают эти данные [20].

Однако следует учитывать, что помимо гормональных изменений, некоторые другие факторы также могут влиять на метаболизм костной ткани при старении. Так, было показано, что хроническое воспаление, сопровождающее старение, способствует потере костной массы [40], повышенный уровень интерлейкина-31, провоспалительного цитокина, у женщин в постменопаузе ассоциируется с низкой костной плотностью [41].

Заключение. Таким образом, с возрастом повышение уровня ТТГ играет остеопротективную роль, снижение уровней эстрогена, тестостерона, IGF1 и витамина D и повышение уровней кортизола, паратиреоидного гормона и ФСГ способствуют потере костной массы у лиц пожилого и старческого возраста. Необходима комплексная оценка гормонального профиля у лиц пожилого и старческого возраста для выявления причины остеопороза и формирования индивидуальной программы лечебно-диагностических и реабилитационных мероприятий. Кроме того, в настоящее время есть все предпосылки для разработки новых диагностических и терапевтических вмешательств для коррекции остеопороза.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Noh JY, Yang Y, Jung H. Molecular Mechanisms and Emerging Therapeutics for Osteoporosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(20):7623. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21207623>
2. Sözen T, Özışık L, Başaran NÇ. An overview and management of osteoporosis. *European Journal of Rheumatology*. 2017;4(1):46-56. DOI: <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2016.048>
3. Cannarella R, Barbagallo F, Condorelli RA, et al. Osteoporosis from an Endocrine Perspective: The Role of Hormonal Changes in the Elderly. *Journal of Clinical Medicine*. 2019;8(10):1564. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm8101564>
4. Compston JE, McClung MR, Leslie WD. Osteoporosis. *The Lancet*. 2019;393(10169):364-376. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32112-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32112-3)
5. Brunetti G, D'Amato G, Chiarito M, et al. An update on the role of RANKL-RANK/osteoprotegerin and WNT- β -catenin signaling pathways in pediatric diseases. *World Journal of Pediatrics*. 2019;15:4-11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12519-018-0198-7>
6. Delitala AP, Scuteri A, Doria C. Thyroid Hormone Diseases and Osteoporosis. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(4):1034. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm9041034>
7. Eller-Vainicher C, Falchetti A, Gennari L, et al. Diagnosis of endocrine disease: Evaluation of bone fragility in endocrine disorders. *European Journal of Endocrinology*. 2019;180:R213-R232. DOI: <https://doi.org/10.1530/EJE-18-0991>
8. Pan JM, Wu LG, Cai JW, et al. Dexamethasone suppresses osteogenesis of osteoblast via the PI3K/Akt signaling pathway in vitro and in vivo. *Journal of Receptors and Signal Transduction*. 2019;39:80-86. DOI: <https://doi.org/10.1080/10799893.2019.1625061>
9. Lane NE. Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: New Insights into the Pathophysiology and Treatments. *Current Osteoporosis Reports*. 2019;17:1-7. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11914-019-00498-x>
10. Tourkova IL, Liu L, Sutjarit N, et al. Adrenocorticotrophic hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D3 enhance human osteogenesis in vitro by synergistically accelerating the ex-

pression of bone-specific genes. *Laboratory Investigation*. 2017;97:1072-1083. DOI: <https://doi.org/10.1038/labinvest.2017.62>.

11. Föger-Samwald U, Dovjak P, Azizi-Semrad U, et al. Osteoporosis: Pathophysiology and therapeutic options. *EXCLI Journal*. 2020;19:1017-1037. DOI: <https://doi.org/10.17179/excli2020-2591>

12. Шафиева ИА, Булгакова СВ, Василькова ЕВ, и др. Влияние эстрогенгестагенной терапии на минеральную костную плотность, состояние тканей пародонтального комплекса, клинические проявления суставного синдрома у женщин в постменопаузе. *Медицинский Совет*. 2020;(3):139-142. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-3-139-142>

13. Булгакова СВ, Романчук НП. Половые гормоны и когнитивные функции: современные данные. *Бюллетень науки и практики*. 2020;6(3):69-95. DOI: <https://doi.org/10.33619/2414-2948/52/09>

14. Rozenberg S, Al-Daghri N, Aubertin-Leheudre M. Is there a role for menopausal hormone therapy in the management of postmenopausal osteoporosis? *Osteoporosis International*. 2020;31(12):2271-2286. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00198-020-05497-8>

15. Tremollieres F. Assessment and hormonal management of osteoporosis. *Climacteric*. 2019;22(2):122-126. DOI: <https://doi.org/10.1080/13697137.2018.1555582>

16. Das N, Kumar TR. Molecular regulation of follicle-stimulating hormone synthesis, secretion and action. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2018;60(3):R131-R155. DOI: <https://doi.org/10.1530/JME-17-0308>

17. Ulloa-Aguirre A, Zariñán T, Jardón-Valadez E, et al. Structure-Function Relationships of the Follicle-Stimulating Hormone Receptor. *Frontiers in Endocrinology*. 2018;9:707. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00707>

18. Pouresmaeili F, Kamalidehghan B, Kamarehei M, et al. A comprehensive overview on osteoporosis and its risk factors. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2018;14:2029-2049. DOI: <https://doi.org/10.2147/TCRM.S138000>

19. Nakamichi Y, Udagawa N, Horibe K, et al. VDR in Osteoblast-Lineage Cells Primarily Mediates Vitamin D Treatment-Induced Increase in Bone Mass by Suppressing Bone Resorption. *Journal of Bone and Mineral Research*.

2017;32(6):1297-1308. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.3096>

20. Yakar S, Werner H, Rosen CJ. Insulin-like growth factors: Actions on the skeleton. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2018;61(1):T115-T137. DOI: <https://doi.org/10.1530/jme-17-0298>

21. Булгакова СВ, Трениева ЕВ, Захарова НО, и др. Старение и гормон роста: предположения и факты (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019;64(12):708-715. DOI: [10.18821/0869-2084-2019-64-12-708-715](https://doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-12-708-715)

22. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, et al. Serum TSH, T (4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2002;87(2):489-499. DOI: <https://doi.org/10.1210/jcem.87.2.8182>

23. Bremner AP, Feddema P, Leedman PJ, et al. Age-related changes in thyroid function: A longitudinal study of a community-based cohort. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012;97(5):1554-1562. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-3020>

24. Waring AC, Harrison S, Samuels MH, et al. Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study. Thyroid function and mortality in older men: A prospective study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012;97(3):862-870. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2684>

25. Compston J, Cooper A, Cooper C, et al. UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis. *Archives of Osteoporosis*. 2017;12(1):43. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11657-017-0324-5>

26. Brancatella A, Marcocci C. TSH suppressive therapy and bone. *Endocrine Connections*. 2020;9(7):R158-R172. DOI: <https://doi.org/10.1530/EC-20-0167>

27. Van den Beld AW, Kaufman J-M, Zillickens MC, et al. The physiology of endocrine systems with aging. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. 2018;6(8):647-658. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30026-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30026-3)

28. Golds G, Houdek D, Arnason T. Male Hypogonadism and Osteoporosis: The Effects, Clinical Consequences, and Treatment of Testosterone Deficiency in Bone Health. *International Journal of Endocrinology*. 2017;2017:4602129. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/4602129>

29. Decaroli MC, Rochira V. Aging and sex hormones in males. *Virulence*. 2017;8(5):545-

570. DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1259053>
30. Tajar A, Huhtaniemi IT, O'Neill TW, et al. Characteristics of androgen deficiency in late-onset hypogonadism: Results from the European Male Aging Study (EMAS). *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012;97(5):1508-1516. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2513>
31. Zaidi M, Lizneva D, Kim SM, et al. FSH, Bone Mass, Body Fat, and Biological Aging. *Endocrinology*. 2018;159(10):3503-3514. DOI: <https://doi.org/10.1210/en.2018-00601>
32. Hsu B, Naganathan V, Bleicher K, et al. Reproductive Hormones and Longitudinal Change in Bone Mineral Density and Incident Fracture Risk in Older Men: The Concord Health and Aging in Men Project. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2015;30(9):1701-1708. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.2493>
33. Bilezikian JP. Primary Hyperparathyroidism. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2018;103(11):3993-4004. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-01225>
34. Sosa Henríquez M, Gómez de Tejada Romero MJ. Cholecalciferol or Calcifediol in the Management of Vitamin D Deficiency. *Nutrients*. 2020;12(6):1617. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12061617>
35. Zhao JG, Zeng XT, Wang J, et al. Association between calcium or Vitamin D supplementation and fracture incidence in community-dwelling older adults a systematic review and meta-analysis. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2017;318(24):2466-2482. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2017.19344>
36. Eastell R, Rosen CJ, Black DM, et al. Pharmacological Management of Osteoporosis in Postmenopausal Women: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2019;104(5):1595-1622. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2019-00221>
37. Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, et al. Skeletal and Extraskelatal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions. *Endocrine Reviews*. 2019;40(4):1109-1151. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2018-00126>
38. Langlois JA, Rosen CJ, Visser M, et al. Association between insulin-like growth factor I and bone mineral density in older women and men: The Framingham Heart Study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1998;83(12):4257-4262. DOI: <https://doi.org/10.1210/jcem.83.12.5308>
39. Lindsey RC, Rundle CH, Mohan S. Role of IGF1 and EFN-EPH signaling in skeletal metabolism. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2018;61(1):T87-T102. DOI: <https://doi.org/10.1530/JME-17-0284>
40. Ciccarella F, De Martinis M, Ginaldi L. Glucocorticoids in Patients with Rheumatic Diseases: Friends or Enemies of Bone? *Current Medicinal Chemistry*. 2015;22(5):596-603. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867321666141106125051>
41. Ginaldi L, De Martinis M, Ciccarella F, et al. Increased levels of interleukin 31 (IL-31) in osteoporosis. *BMC Immunology*. 2015;16:60. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12865-015-0125-9>

References

1. Noh JY, Yang Y, Jung H. Molecular Mechanisms and Emerging Therapeutics for Osteoporosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(20):7623. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21207623>
2. Sözen T, Özişik L, Başaran NÇ. An overview and management of osteoporosis. *European Journal of Rheumatology*. 2017;4(1):46-56. DOI: <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2016.048>
3. Cannarella R, Barbagallo F, Condorelli RA, et al. Osteoporosis from an Endocrine Perspective: The Role of Hormonal Changes in the Elderly. *Journal of Clinical Medicine*. 2019;8(10):1564. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm8101564>
4. Compston JE, McClung MR, Leslie WD. Osteoporosis. *The Lancet*. 2019;393(10169):364-376. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32112-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32112-3)
5. Brunetti G, D'Amato G, Chiarito M, et al. An update on the role of RANKL-RANK/osteoprotegerin and WNT- β -catenin signaling pathways in pediatric diseases. *World Journal of Pediatrics*. 2019;15:4-11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12519-018-0198-7>
6. Delitala AP, Scuteri A, Doria C. Thyroid Hormone Diseases and Osteoporosis. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(4):1034. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm9041034>
7. Eller-Vainicher C, Falchetti A, Gennari L, et al. Diagnosis of endocrine disease: Evaluation of bone fragility in endocrine disorders. *European Journal of Endocrinology*. 2019;180:R213-R232. DOI: <https://doi.org/10.1530/EJE-18-0991>

8. Pan JM, Wu LG, Cai JW, et al. Dexamethasone suppresses osteogenesis of osteoblast via the PI3K/Akt signaling pathway in vitro and in vivo. *Journal of Receptors and Signal Transduction*. 2019;39:80-86. DOI: <https://doi.org/10.1080/10799893.2019.1625061>.
9. Lane NE. Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: New Insights into the Pathophysiology and Treatments. *Current Osteoporosis Reports*. 2019;17:1-7. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11914-019-00498-x>.
10. Tourkova IL, Liu L, Sutjarit N, et al. Adrenocorticotrophic hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D3 enhance human osteogenesis in vitro by synergistically accelerating the expression of bone-specific genes. *Laboratory Investigation*. 2017;97:1072-1083. DOI: <https://doi.org/10.1038/labinvest.2017.62>.
11. Föger-Samwald U, Dovjak P, Azizi-Semrad U, et al. Osteoporosis: Pathophysiology and therapeutic options. *EXCLI Journal*. 2020;19:1017-1037. DOI: <https://doi.org/10.17179/excli2020-2591>.
12. Shafieva IA, Bulgakova SV, Vasilkova EV, et al. The influence of HRT on bone mineral density, condition of parodontal complex tissue, clinical implications of articulated syndrome in postmenopausal women. *Meditinskiy sovet = Medical Council*. 2020;(3):139-142. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-3-139-142>
13. Bulgakova SV, Romanchuk PI. Sex Hormones and Cognitive Functions: Current Data]. *Bulletin of Science and Practice*. 2020;6(3):69-95. Russian. DOI: <https://doi.org/10.33619/2414-2948/52/09>
14. Rozenberg S, Al-Daghri N, Aubertin-Leheudre M. Is there a role for menopausal hormone therapy in the management of postmenopausal osteoporosis? *Osteoporosis International*. 2020;31(12):2271-2286. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00198-020-05497-8>
15. Tremollieres F. Assessment and hormonal management of osteoporosis. *Climacteric*. 2019;22(2):122-126. DOI: <https://doi.org/10.1080/13697137.2018.1555582>
16. Das N, Kumar TR. Molecular regulation of follicle-stimulating hormone synthesis, secretion and action. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2018;60(3):R131-R155. DOI: <https://doi.org/10.1530/JME-17-0308>
17. Ulloa-Aguirre A, Zariñán T, Jardón-Valadez E, et al. Structure-Function Relationships of the Follicle-Stimulating Hormone Receptor. *Frontiers in Endocrinology*. 2018;9:707. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00707>
18. Pouresmaeli F, Kamalidehghan B, Kamarehei M, et al. A comprehensive overview on osteoporosis and its risk factors. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2018;14:2029-2049. DOI: <https://doi.org/10.2147/TCRM.S138000>
19. Nakamichi Y, Udagawa N, Horibe K, et al. VDR in Osteoblast-Lineage Cells Primarily Mediates Vitamin D Treatment-Induced Increase in Bone Mass by Suppressing Bone Resorption. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2017;32(6):1297-1308. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.3096>
20. Yakar S, Werner H, Rosen CJ. Insulin-like growth factors: Actions on the skeleton. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2018;61(1):T115-T137. DOI: <https://doi.org/10.1530/jme-17-0298>
21. Bulgakova SV, Treneva EV, Zakharova NO, et al. Aging and growth hormone: assumptions and facts (literature review). *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2019;64(12):708-715. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-12-708-715>
22. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, et al. Serum TSH, T (4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2002;87(2):489-499. DOI: <https://doi.org/10.1210/jcem.87.2.8182>
23. Bremner AP, Feddema P, Leedman PJ, et al. Age-related changes in thyroid function: A longitudinal study of a community-based cohort. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012;97(5):1554-1562. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-3020>
24. Waring AC, Harrison S, Samuels MH, et al. Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study. Thyroid function and mortality in older men: A prospective study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012;97(3):862-870. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2684>
25. Compston J, Cooper A, Cooper C, et al. UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis. *Archives of Osteoporosis*. 2017;12(1):43. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11657-017-0324-5>
26. Brancatella A, Marcocci C. TSH suppressive therapy and bone. *Endocrine Connections*. 2020;9(7):R158-R172. DOI: <https://doi.org/10.1530/EC-20-0167>

27. Van den Beld AW, Kaufman J-M, Zil-
likens MC, et al. The physiology of endocrine
systems with aging. *The Lancet Diabetes and En-
docrinology*. 2018;6(8):647-658. DOI:
[https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30026-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30026-3)
28. Golds G, Houdek D, Arnason T. Male
Hypogonadism and Osteoporosis: The Effects,
Clinical Consequences, and Treatment of Testos-
terone Deficiency in Bone Health. *International
Journal of Endocrinology*. 2017;2017:4602129.
DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/4602129>
29. Decaroli MC, Rochira V. Aging and
sex hormones in males. *Virulence*. 2017;8(5):545-
570. DOI:
<https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1259053>
30. Tajar A, Huhtaniemi IT, O'Neill TW,
et al. Characteristics of androgen deficiency in
late-onset hypogonadism: Results from the Euro-
pean Male Aging Study (EMAS). *Journal of Clin-
ical Endocrinology and Metabolism*.
2012;97(5):1508-1516. DOI:
<https://doi.org/10.1210/jc.2011-2513>
31. Zaidi M, Lizneva D, Kim SM, et al.
FSH, Bone Mass, Body Fat, and Biological Ag-
ing. *Endocrinology*. 2018;159(10):3503-3514.
DOI: <https://doi.org/10.1210/en.2018-00601>
32. Hsu B, Naganathan V, Bleicher K, et
al. Reproductive Hormones and Longitudinal
Change in Bone Mineral Density and Incident
Fracture Risk in Older Men: The Concord Health
and Aging in Men Project. *Journal of Bone and
Mineral Research*. 2015;30(9):1701-1708. DOI:
<https://doi.org/10.1002/jbmr.2493>
33. Bilezikian JP. Primary Hyperparathy-
roidism. *Journal of Clinical Endocrinology and
Metabolism*. 2018;103(11):3993-4004.
<https://doi.org/10.1210/jc.2018-01225>
34. Sosa Henríquez M, Gómez de Tejada
Romero MJ. Cholecalciferol or Calcifediol in the
Management of Vitamin D Deficiency. *Nutrients*.
2020;12(6):1617. DOI:
<https://doi.org/10.3390/nu12061617>
35. Zhao JG, Zeng XT, Wang J, et al. As-
sociation between calcium or Vitamin D supple-
mentation and fracture incidence in community-
dwelling older adults a systematic review and me-
ta-analysis. *JAMA – Journal of the American
Medical Association*. 2017;318(24):2466-2482.
DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2017.19344>
36. Eastell R, Rosen CJ, Black DM, et al.
Pharmacological Management of Osteoporosis in
Postmenopausal Women: An Endocrine Society
Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical
Endocrinology and Metabolism*.
2019;104(5):1595-1622. DOI:
<https://doi.org/10.1210/jc.2019-00221>
37. Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G,
et al. Skeletal and Extraskkeletal Actions of Vita-
min D: Current Evidence and Outstanding Ques-
tions. *Endocrine Reviews*. 2019;40(4):1109-1151.
DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2018-00126>
38. Langlois JA, Rosen CJ, Visser M, et
al. Association between insulin-like growth factor
I and bone mineral density in older women and
men: The Framingham Heart Study. *Journal of
Clinical Endocrinology and Metabolism*.
1998;83(12):4257-4262. DOI:
<https://doi.org/10.1210/jcem.83.12.5308>
39. Lindsey RC, Rundle CH, Mohan S.
Role of IGF1 and EFN-EPH signaling in skeletal
metabolism. *Journal of Molecular Endocrinology*.
2018;61(1):T87-T102. DOI:
<https://doi.org/10.1530/JME-17-0284>
40. Ciccarelli F, De Martinis M, Ginaldi L.
Glucocorticoids in Patients with Rheumatic Dis-
eases: Friends or Enemies of Bone? *Current Me-
dicinal Chemistry*. 2015;22(5):596-603. DOI:
<https://doi.org/10.2174/0929867321666141106125051>
41. Ginaldi L, De Martinis M, Ciccarelli F,
et al. Increased levels of interleukin 31 (IL-31) in
osteoporosis. *BMC Immunology*. 2015;16:60.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12865-015-0125-9>
- Статья поступила в редакцию 13 января 2021 г.
Поступила после доработки 9 апреля 2021 г.
Принята к печати 17 мая 2021 г.
- Received 13 January 2021
Revised 9 April 2021
Accepted 17 May 2021
- Информация об авторах**
Светлана Викторовна Булгакова, доктор
медицинских наук, доцент, заведующий ка-
федрой гериатрии и возрастной эндокриноло-
гии, ФГБОУ ВО «Самарский государственный
медицинский университет», г. Самара, Россий-
ская Федерация, E-mail: osteoporosis63@gmail.com, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0003-0027-1786>.
Дмитрий Петрович Курмаев, старший лабо-
рант кафедры гериатрии и возрастной эндо-
кринологии, ФГБОУ ВО «Самарский государ-
ственный медицинский университет»,
г. Самара, Российская Федерация, E-mail:
geriatry@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4114-5233>.

Марина Владиславовна Силютинa, кандидат медицинских наук, доцент кафедры физической и реабилитационной медицины, гериатрии ИДПО, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», г. Воронеж, Российская Федерация, E-mail: marinad57@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7670-2947>.

Елена Анатольевна Воронина, кандидат медицинских наук, Министр социальной защиты населения Кузбасса, Министерство социальной защиты населения Кузбасса, г. Кемерово, Российская Федерация, E-mail: depart@dsznko.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8915-533X>

Татьяна Евгеньевна Ничик, кандидат медицинских наук, заведующая нефрологическим отделением, ГБУЗ СО «Тольяттинская городская клиническая больница № 1», г. Тольятти, Российская Федерация, E-mail: depart@dsznko.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0987-3567>.

Information about the authors

Svetlana V. Bulgakova, Doct. Sci. (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of

Geriatrics and Age Endocrinology, Samara State Medical University, Samara, Russia, E-mail: osteoporosis63@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0027-1786>.

Dmitriy P. Kurmaev, Senior Laboratory Assistant at the Department of Geriatrics and Age Endocrinology, Samara State Medical University, Samara, Russia, E-mail: geriatry@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4114-5233>.

Marina V. Silyutina, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Physical and Rehabilitation Medicine, Geriatrics IAPE, Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia, E-mail: marinad57@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7670-2947>.

Elena A. Voronina, Cand. Sci. (Medicine), Minister of Social Protection of the Population of Kuzbass, Ministry of Social Protection of the Population of Kuzbass, Kemerovo, Russia, E-mail: depart@dsznko.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8915-533X>

Tatyana E. Nichik, Cand. Sci. (Medicine), Head of the Nephrology Department, Tolyatti City Clinical Hospital No. 1, Tolyatti, Russia, E-mail: depart@dsznko.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0987-3567>.