

ISSN 2658-6533

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

9(3) 2023

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 9, №3. 2023

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2014 г.

ISSN 2658-6533



Volume 9, №3. 2023

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
Галенко-Ярошевский П.А., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар, РФ
Жернакова Н.И., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Иллиг Т., доктор естественных наук, профессор, Ганноверский объединенный биобанк Медицинской школы Ганновера, Ганновер, Германия
Кубешова Х.М., MD, PhD, профессор, Масариков университет, Брно, Чехия
Малерба Дж., PhD, профессор медицинской генетики, Университет Вероны, Верона, Италия
Милкович Б., PhD, профессор, Белградский университет, Белград, Сербия
Нкенке Э., MD, DMD, MA, доктор медицинских наук, профессор, Венский медицинский университет, Вена, Австрия
Покровский М.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Полоников А.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск, РФ
Прощаев К.И., доктор медицинских наук, профессор, АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «ГЕРОНТОЛОГИЯ», Москва, РФ
Радзинский В.Е., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, РФ
Руженкова В.В., доктор медицинских наук, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Сорокин А.В., кандидат медицинских наук, Национальный институт сердца, легких и крови, Бетесда, США
Степанов В.А., академик Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, РФ

EDITORIAL TEAM:

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

EDITORIAL BOARD:

Yu.A. Aleksandrovsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russia
T.S.K. Wan, PhD, Professor, Prince of Wales Hospital of the Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China
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. Prashchayeu, 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, Doct. 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, Academician of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Biology), Professor, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
M.B. Freydin, Doct. Sci. (Biology), Queen Mary University of London, London, UK
M.B. Khamoshina, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
E.K. Khusnutdinova, Corresponding Member of the Russian Academy of Education, Doct. Sci. (Biology), Professor, Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Фрейдин М.Б., доктор биологических наук, Лондонский университет королевы Марии, 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

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

А.Р. Низамова, Г.Ф. Гималова, Э.К. Хуснутдинова Роль метилирования ДНК при раке легкого (обзор)	293	Aigul R. Nizamova, Galiya F. Gimalova, Elza K. Khusnutdinova The role of DNA methylation in lung cancer (review)	293
Oksana S. Kurinnaia, Kirill S. Vasin, Maria A. Zelenova, Yuri B. Yurov, Victoria Y. Voinova, Svetlana G. Vorsanova, Ivan Y. Iourov Outcomes of ROHs (runs of homozygosity)/LCSHs (long contiguous stretches of homozygosity) spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 among children with neurodevelopmental disorders	312	Oksana S. Kurinnaia, Kirill S. Vasin, Maria A. Zelenova, Yuri B. Yurov, Victoria Y. Voinova, Svetlana G. Vorsanova, Ivan Y. Iourov Outcomes of ROHs (runs of homozygosity)/LCSHs (long contiguous stretches of homozygosity) spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 among children with neurodevelopmental disorders	312
О.В. Кочетова, Д.Ш. Авзалетдинова, Г.Ф. Корытина, Т.В. Викторова Анализ полиморфных вариантов генов рецепторов серотонина и гамма-аминомасляной кислоты у больных сахарным диабетом 2 типа	322	Olga V. Kochetova, Diana Sh. Avzaletdinova, Gulnaz F. Korytina, Tatiana V. Viktorova Analysis of polymorphic variants of serotonin and gamma-aminobutyric acid receptor genes in patients with type 2 diabetes mellitus	322
О.В. Рашина Ассоциации полиморфных вариантов генов-кандидатов с развитием <i>H. pylori</i> -негативной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у жителей Центрального Черноземья России	333	Olga V. Rashina Associations of polymorphic variants of candidate genes with the development of <i>H. pylori</i> -negative duodenal ulcer in residents of the Central Chernozem region of Russia	333

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACOLOGY

В.Х. Мурталиева, А.А. Цибизова, М.У. Сергалиева, М.А. Самотруева Стресспротекторная активность экстракта <i>Astragalus physodes</i> на модели «социального» стресса	347	Veronika Kh. Murtalieva, Aleksandra A. Tsibizova, Mariyam U. Sergaliyeva, Marina A. Samotrueva Stress-protective activity of <i>Astragalus physodes</i> extract on the model of «social» stress	347
А.Л. Ясенявская, А.А. Цибизова, И.Н. Тюренков, А.А. Озеров, О.А. Башкина, М.А. Самотруева Влияние производного пиримидина на уровень цитокинов в условиях экспериментальной генерализованной стафилококковой инфекции	357	Anna L. Yasenyavskaya, Alexandra A. Tsibizova, Ivan N. Tyurenkov, Alexandr A. Ozerov, Olga A. Bashkina, Marina A. Samotrueva Effect of pyrimidine derivative on cytokine levels in experimental generalized staphylococcal infection	357

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

MEDICINE

П.А. Чижков, С.Н. Лагутина, Ю.А. Котова, М.Ю. Сыромятников, В.Н. Попов, А.А. Зуйкова Особенности разнообразия кишечной микробиоты у пациентов пожилого возраста с метаболическими нарушениями (обзор литературы)	366	Pavel A. Chizhkov, Svetlana N. Lagutina, Yuliya A. Kotova, Mikhail Yu. Syromyatnikov, Vasily N. Popov, Anna A. Zuykova Features of intestinal microbiota diversity in elderly patients with metabolic disorders (literature review)	366
Н.М. Агарков, И.В. Лев, А.Е. Копылов Биологический возраст как фактор риска офтальмологических осложнений при сахарном диабете 2-го типа	383	Nikolay M. Agarkov, Inna V. Lev, Andrey E. Kopylov Biological age as a risk factor for ophthalmological complications in type 2 diabetes mellitus	383
К.В. Айрапетов, Е.Д. Голованова, Л.В. Титарева Влияние саркопении на гемодинамику у пациентов с сердечно-сосудистой патологией при патологическом старении	393	Karen V. Airapetov, Elena D. Golovanova, Lyudmila V. Titareva Effects of sarcopenia on hemodynamics in patients with cardiovascular diseases and pathological aging	393
И.С. Ефремов, Е.Х. Галеева, И.В. Николаев, Г.Р. Ахметгареева, А.Е. Абдрахманова, З.Ш. Ашуров, Р.Ф. Насырова, А.Р. Асадуллин Динамика детекции наркотических соединений за 2013-2021 годы на примере Республики Башкортостан	402	Ilia S. Efremov, Elena H. Galeeva, Ivan V. Nikolaev, Galiya R. Akhmetgareeva, Anastasia E. Abdrakhmanova, Zarifzhon Sh. Ashurov, Regina F. Nasyrova, Azat R. Asadullin Dynamics of detection of narcotic compounds for 2013-2021: a case study of the Republic of Bashkortostan	402

ГЕНЕТИКА GENETICS



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-1

УДК 616.24-006

Роль метилирования ДНК при раке легкого (обзор)

А.Р. Низамова¹ , Г.Ф. Гималова^{1,2,3} , Э.К. Хуснутдинова^{1,2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук,
пр-т. Октября, д. 71, г. Уфа, 450054, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Санкт-Петербургский государственный университет»,
Университетская набережная, д. 7/9, г. Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Уфимский университет науки и технологий»,
ул. Заки Валиди, д. 32, г. Уфа, 450076, Российская Федерация

Автор для переписки: А.Р. Низамова (nizamova_aigool@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Рак легкого на протяжении десятилетий остается трудно поддающимся лечению заболеванием, несмотря на усилия онкологов и фармацевтических компаний. Одной из причин этого является неоднородность генетических профилей опухолей. В последние годы интерес исследователей привлекают эпигенетические изменения внутри опухоли, в частности, метилирование ДНК. В данной работе рассматриваются отличительные особенности основных подтипов рака легкого, обсуждается роль метилирования ДНК при немелкоклеточном и мелкоклеточном раке легкого, а также его роль в ответе опухоли на терапию. **Цель исследования:** Обобщение результатов анализа метилирования ДНК при раке легкого для лучшего понимания биологической природы онкогенеза данного заболевания, использования выявленных биомаркеров для ранней диагностики патологии и оценки прогноза пациента. **Материалы и методы:** Анализ литературы проводился в базах данных PubMed, Google Scholar за период с 1995 по 2022 гг. **Результаты:** Показано, что паттерн метилирования ДНК меняется под воздействием курения, причем изменения сохраняются даже после его прекращения. Выявлены aberrантно метилированные гены, которые могут служить биомаркерами для скрининга рака легкого на ранних или поздних стадиях. К числу таких генов относятся: *H19*, *HOXA3/HOXA4*, *RUNX3*, *BRICD5*, *PLXNB2*, *RP13*, *DIABLO*, *RASSF1A*, *SHOX2*, *EZH2*, *NEUROD1* и другие. Более того, обнаружено, что статус метилирования отдельных областей ДНК при мелкоклеточном раке легкого коррелирует с ответом опухоли на химиотерапию и лучевую терапию. **Заключение:** Изменения в профилях метилирования ДНК индивидов могут служить маркерами для ранней диагностики заболевания, использоваться в качестве мишеней для терапевтического воздействия, а также для оценки прогноза пациента.

Ключевые слова: рак легкого; эпигенетика; метилирование ДНК; CpG-островки; курение

Для цитирования: Низамова АР, Гималова ГФ, Хуснутдинова ЭК. Роль метилирования ДНК при раке легкого (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3): 293-311. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-1

The role of DNA methylation in lung cancer (review)

Aigul R. Nizamova¹ , Galiya F. Gimalova^{1,2,3} , Elza K. Khusnutdinova^{1,2,3} 

¹ Ufa Scientific Center, RAS,
71 Oktyabrya Ave., Ufa, 450054, Russia

² Saint Petersburg State University,
7/9 Universitetskaya Emb., St. Petersburg, 199034, Russia

³ Ufa University of Science and Technology,
32 Zaki Validi St., Ufa, 450076, Russia

Corresponding author: Aigul R. Nizamova (nizamova_aigool@mail.ru)

Abstract

Background: Lung cancer has been a difficult-to-treat disease for decades, despite the efforts of oncologists and pharmaceutical companies. One of the reasons for this is the heterogeneity of the genetic profiles of tumors. In recent years, the interest of researchers has been attracted by epigenetic changes within the tumor, in particular, DNA methylation. This paper reviews the distinctive features of the main subtypes of lung cancer, discusses the role of DNA methylation in non-small cell and small cell lung cancer, as well as its role in tumor response to therapy. **The aim of the study:** To summarize the results of DNA methylation analysis in lung cancer for a better understanding of the biological nature of the oncogenesis of this disease in order to use the identified biomarkers for early diagnosis of pathology and assessing the patient's prognosis. **Materials and methods:** The literature analysis was carried out in the PubMed, Google Scholar databases for the period from 1995 to 2022. **Results:** It was shown that the pattern of DNA methylation changes under the influence of smoking, and the changes persist even after smoking is stopped. Aberrantly methylated genes have been identified that can serve as biomarkers for lung cancer screening at early or late stages. These genes include: *H19*, *HOXA3/HOXA4*, *RUNX3*, *BRICD5*, *PLXNB2*, *RP13*, *DIABLO*, *RASSF1A*, *SHOX2*, *EZH2*, *NEUROD1* and others. Moreover, it has been found that the methylation status of certain regions of DNA in small cell lung cancer correlates with tumor response to chemotherapy and radiotherapy. **Conclusion:** Changes in the DNA methylation profiles of individuals can serve as markers for early diagnosis of the disease, and can be used as targets for therapeutic intervention, as well as to assess the patient's prognosis.

Keywords: lung cancer; epigenetics; DNA methylation; CpG-islands; smoking

For citation: Nizamova AR, Gimalova GF, Khusnutdinova EK. The role of DNA methylation in lung cancer (review). Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):293-311. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-1

Введение. Рак легкого (РЛ) является одним из самых распространенных онкозаболеваний и ведущей причиной смертности от них во всем мире: по оценкам Международного агентства по изучению рака, в 2020 г. было зарегистрировано

2,2 миллиона новых случаев заболевания и 1,8 миллиона случаев смерти [1]. Основываясь на гистологии опухоли, выделяют два основных подтипа РЛ – немелкоклеточный (НМРЛ) и мелкоклеточный (МРЛ).

НМРЛ составляет приблизительно 85% всех случаев РЛ и представлен несколькими типами, в том числе аденокарциномой легкого (наиболее распространенный тип РЛ), плоскоклеточным раком и крупноклеточной карциномой.

В ходе геномных исследований, проведенных в рамках проекта Clinical Lung Cancer Genome Project, было выявлено, что для различных типов НМРЛ характерны специфические изменения драйверных генов. В частности, при аденокарциноме легкого часто обнаруживаются активирующие мутации в гене рецептора эпидермального фактора роста *EGFR* и перестройки *EML4-ALK*.

Кроме того, при данном типе РЛ идентифицированы мутации в генах *LKB1/STK11*, *CDKN2A*, *NF1*, *KEAP1*, *KRAS*, амплификация *MET* и перестройки *ROS1* и *RET* [2]. При плоскоклеточном РЛ, напротив, мутации *EGFR* или перестройки *EML4-ALK* наблюдаются редко. Для этого типа РЛ характерны изменения в генах рецепторных тирозинкиназ, *DDR2* и генах рецепторов фактора роста фибробластов, а также инактивирующие мутации в *CDKN2A*, *PTEN*, *KEAP1*, *NFE2L2* и *RB1* [3]. Перечень генов, мутации в которых свойственны для аденокарциномы легкого и плоскоклеточного РЛ, представлен на рисунке.

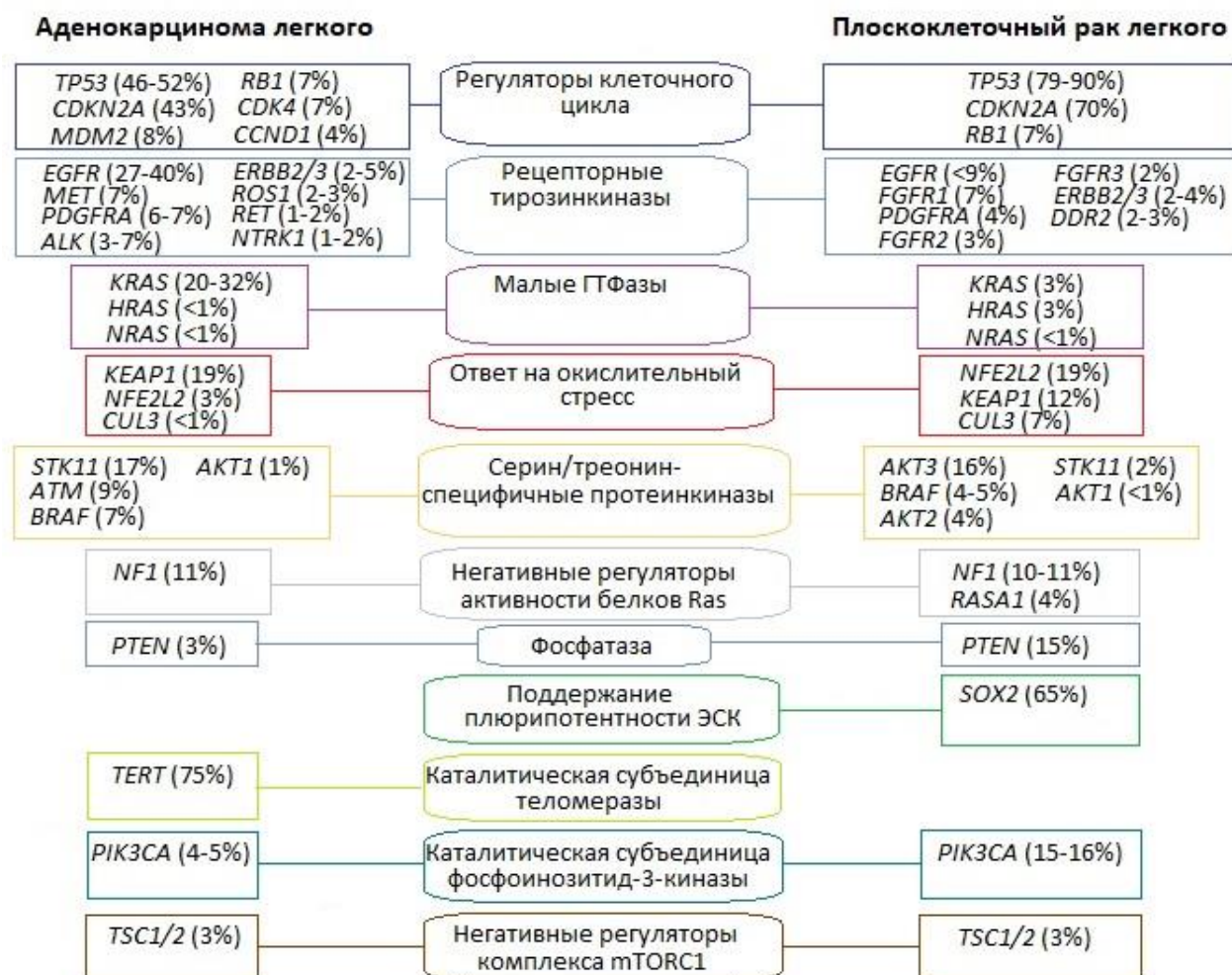


Рис. Молекулярный ландшафт аденокарциномы легкого и плоскоклеточного рака легкого. В скобках указана частота встречаемости мутаций для каждого гена. ЭСК – эмбриональные стволовые клетки. Данные собраны из источников [4], [5].

Fig. Molecular landscape of lung adenocarcinoma and lung squamous cell carcinoma. The mutation frequency for each gene is given in parentheses. ESCs – embryonic stem cells. Data compiled from references [4], [5].

На долю МРЛ в глобальном масштабе приходится около 15% всех случаев РЛ, причем ежегодно диагностируется около 250000 новых случаев [6]. МРЛ представляет собой агрессивную нейроэндокринную опухоль высокой степени злокачественности, которая отличается исключительно высокой скоростью пролиферации и склонностью к раннему метастазированию. На момент постановки диагноза лишь у трети пациентов заболевание будет выявляться на ограниченной стадии. Для остальных пятилетняя выживаемость составляет менее 1%. Стоит отметить, что наиболее часто метастазы наблюдаются в контралатеральном легком, мозге, печени, надпочечниках и костях [7].

Для МРЛ показана выраженная связь с курением – только в 2% случаев МРЛ воз-

никает у никогда не куривших [6]. Значительную роль в развитии МРЛ канцерогенов табачного дыма подтверждает мутационный профиль данного типа опухолей, характеризующийся множеством нуклеотидных перестроек. [7, 8]. Наиболее распространенным генетическим изменением при МРЛ является биаллельная инактивация генов-супрессоров опухолевого роста *TP53* и *RB1*. Также часто выявляется увеличение числа копий генов, кодирующих члены семейства *MYC* (протоонкогены *MYC*, *MYCL* и *MYCN*), генов ферментов, участвующих в ремоделировании хроматина, рецепторных тирозинкиназ и их нижестоящих эффекторов, повышенный уровень экспрессии ингибиторных белков семейства Notch [6]. В таблице 1 отображены результаты масштабного исследования генома МРЛ.

Таблица 1

Генетический профиль мелкоклеточного рака легкого

Table 1

Genetic profile of small cell lung cancer

Ген	Частота встречаемости мутаций гена (%)	Функция белкового продукта гена	Литература
<i>TP53</i>	79-98	Регуляция клеточного цикла и апоптоза	[8-12]
<i>RB1</i>	35-91		[8-12]
<i>RBL1</i>	3-4		[8, 9, 11, 12]
<i>RBL2</i>	5-7		[8, 9, 12]
<i>TP73</i>	2-7		[8-12]
<i>CHD7</i>	10	Участие в эпигенетической регуляции экспрессии генов	[8, 11, 12]
<i>EP300</i>	7-12		[8-12]
<i>CREBBP</i>	4-14		[8-12]
<i>KMT2A</i>	5-10		[8, 9, 11, 12]
<i>KMT2B</i>	8		[8, 12]
<i>KMT2C</i>	7-11		[8, 9, 11, 12]
<i>KMT2D</i>	6-27		[8, 10, 11, 12]
<i>KDM6A</i>	2,7-4		[8-12]
<i>SETD2</i>	2,7-7		[8, 11, 12]
<i>PBRM1</i>	0,9-7		[8, 10, 11, 12]
<i>ARID1A</i>	3-4		[8, 10, 11, 12]
<i>ARID1B</i>	4-10		[8, 9, 11, 12]
<i>COL4A2</i>	10	Регуляция цитоскелета и клеточной адгезии	[10, 11]
<i>COL22A1</i>	18-21		[8-11]
<i>ALMS1</i>	8-17		[8-12]
<i>FMN2</i>	7-18		[8-12]
<i>ASPM</i>	6-14		[8-12]
<i>PDE4DIP</i>	6-8		[8-12]
<i>COBL</i>	5-10		[8-12]
<i>SLIT2</i>	4-17		[8-12]
<i>KIAA1211</i>	3-17		[8-12]
<i>PTEN</i>	4-14	Передача молекулярных сигналов посредством киназ	[8-12]
<i>EPHA7</i>	4-10		[8-12]
<i>PIK3CA</i>	2,7-6		[8, 10, 11, 12]
<i>NOTCH1</i>	2-15	Участие в сигнальном пути NOTCH	[8-12]
<i>NOTCH2</i>	4-5		[8, 10, 11, 12]
<i>NOTCH3</i>	4-9		[8-12]
<i>NOTCH4</i>	2,7-10		[8, 9, 11, 12]

Помимо этого, исследования последних лет позволили выделить четыре подтипа МРЛ, основываясь на различиях в экспрессии регуляторов транскрипции ASCL1 (achaete-scute homologue 1), NEUROD1 (neurogenic differentiation factor 1), YAP1 (yes-associated protein 1) и POU2F3 (POU class 2 homeobox 3) [13]. Впоследствии подтип МРЛ, определяемый экспрессией YAP1, не подтвердился [14]. Однако Gay с соавторами предложили ввести четвертый подтип МРЛ и назвать его воспалительным, поскольку для данной группы опухолей была характерна экспрессия генов многочисленных иммунных контрольных точек и человеческих лейкоцитарных антигенов (HLA) [15].

Значение генетических изменений в злокачественной трансформации опухоли не вызывает сомнений. Тем не менее, в настоящее время признается существенной роль в канцерогенезе и эпигенетических механизмов контроля работы генома, которые включают в том числе специфические изменения метилирования ДНК, посттрансляционную модификацию гистоновых белков и изменения профиля экспрессии микроРНК.

Цель исследования. Обобщение результатов анализа метилирования ДНК при РЛ для лучшего понимания биологической природы онкогенеза данного заболевания, использования выявленных биомаркеров в ранней диагностике патологии и оценке прогноза пациента.

Метилирование ДНК у больных РЛ

Одной из наиболее изученных эпигенетических модификаций геномной ДНК является метилирование. Считается, что изменение профиля метилирования ДНК является одним из самых ранних молекулярных маркеров онкологических заболеваний человека [16, 17, 18]. Геном опухолевых клеток обнаруживает глобальное гипометилирование и региональное гиперметилирование, особенно в промоторных CpG-островках генов-супрессоров опухолевого роста [16]. Метилирование промоторных CpG-островков влияет на связывание транскрипционных факторов и таким образом

может подавлять экспрессию совместно действующих генов, большинство из которых являются генами-супрессорами опухолевого роста, что отражает значение данного процесса в онкогенезе [19].

Очень часто исследования, посвященные метилированию ДНК у больных РЛ, проводятся на образцах периферической крови, ввиду значительно большей доступности материала. Несмотря на то, что паттерн метилирования ДНК в крови может и не отражать метилирование в ткани, он может быть показателем серьезных иммунологических изменений или изменений эпигенетической программы, значимых в процессе развития заболевания.

Значительное количество работ по анализу метилирования при РЛ показало прямую связь этого явления с курением [20, 21, 22]. Так, в метаанализе, включавшем около 16000 образцов ДНК курящих и некурящих индивидов, было выявлено 2623 дифференциально метилированных CpG сайта, связанных с курением табака. Для генов, в которых локализованы данные CpG, ранее в полногеномных исследованиях были показаны ассоциации с развитием вызванных курением патологий легких, сердца, воспалительных и онкологических заболеваний [23]. Кроме того, сравнение профилей экспрессии у никогда не куривших и бросивших курить обнаружило 185 дифференциально метилированных CpG сайтов, что отражает устойчивое изменение паттерна метилирования у индивидов, сохраняющееся даже после прекращения воздействия курения.

Связь метилирования ДНК и статуса курения была показана и в других работах. Baglietto с соавт. в результате полногеномного эпигенетического исследования (EWAS) обнаружили 6 CpG сайтов, гипометилирование которых ассоциировано с развитием РЛ, в том числе описанные ранее сайты в генах *AHRR* (репрессор арилгидрокарбонового рецептора) и *F2RL3* (белок 3, подобный рецептору фактора коагуляции II (тромбина)) [20, 22]. Интересно, что уровень метилирования в изученных образцах

изменялся градиентно от курящих на момент забора материала к прекратившим курить и никогда не курившим, и был тем выше, чем раньше пациент прекращал курить [22].

В более поздней работе Sandanger с соавторами выявили 25 CpG сайтов, ассоциированных с развитием РЛ, причем после введения поправки на воздействие курения статистически значимая ассоциация сохранилась лишь для двух сайтов, таким образом, они рассматриваются как несвязанные с курением, тогда как остальные 23 CpG сайта связаны с развитием РЛ у курящих. В целом, показано, что ассоциация для 23 CpG сайтов была выше в гистологических типах РЛ, наиболее коррелирующих с курением. Сравнение экспрессионных профилей показало различные пути обогащения таких сайтов, т.е. CpG сайты, связанные и не связанные с курением, по-видимому, вовлечены в различные биологические процессы. Нужно отметить, что в данном исследовании выявленные ранее CpG сайты в генах *AHRR* и *F2RL3* оказались в числе тех, что были ассоциированы с курением [24].

В исследовании Battram с соавторами также было выявлено 16 CpG сайтов, ассоциированных с риском развития РЛ, однако после менделевской рандомизации данная ассоциация существенно снизилась [25]. В частности, полученные ими результаты не согласуются с предыдущими данными, свидетельствующими о том, что CpG сайты в генах *AHRR* и *F2RL3* опосредуют более 30% эффекта курения на развитие РЛ [20]. Можно предположить, что наблюдаемая ранее ассоциация изменений метилирования ДНК с риском развития РЛ возникает как результат внесения поправок на сведения о курении, полученные от пациентов [26, 27]. К таким сведениям относятся количество выкуренных сигарет в течение жизни (более или менее 100 сигарет), статус курения на момент исследования, регулярность курения. При применении в EWAS-исследованиях более строгих поправок, данные ассоциации также пропадают.

Курение значительно изменяет паттерн метилирования ДНК, который сохраняется даже после его прекращения, и, по-видимому, это является одним из механизмов, объясняющих негативное воздействие его на здоровье человека. Тем не менее, наблюдаемая ассоциация между метилированием ДНК и развитием РЛ может отражать независимые влияния курения на метилирование и на развитие РЛ.

Выявление изменений метилирования ДНК, не связанных с активным курением, позволит обнаружить новые биологические пути, функционирование которых значимо в контексте развития РЛ. Тем не менее, на сегодняшний день таких исследований очень мало.

В одном из них выявлены 151 CpG сайт, связанный с курением, и 3806 CpG сайтов, не связанных с курением, и далее проведен анализ ассоциации их со смертностью от РЛ. CpG сайты, связанные с курением, оказались ассоциированы со смертностью от РЛ с большей значимостью [28]. Результаты подобных исследований могут способствовать более точному отбору популяции для скрининга РЛ.

При изучении роли в развитии РЛ сайленсинга генов посредством их метилирования выявляется множество ассоциированных CpG сайтов в различных локусах, и анализ такого объема данных требует значительных ресурсов, в связи с чем целесообразнее было бы определять основные драйверные гены, изменение профиля метилирования которых вовлечено в онкогенез. Для выявления таких ключевых генов Zhang с соавторами при исследовании образцов опухолевой и прилежащей к ней нормальной ткани легкого проводили сопоставление данных по метилированию с экспрессионными данными. В результате данного анализа ими было установлено 30 драйверных генов с измененным профилем метилирования, ассоциированных с развитием РЛ у некурящих индивидов [29].

В другом недавнем исследовании, проведенном на когорте CLUE II (образцы крови пресимптоматических индивидов, за-

бранные в 1989 г. в США), авторы проводили поиск отдельных CpG сайтов и дифференциально метилированных регионов (ДМР), ассоциированных с развитием РЛ независимо от курения [30]. Выборка включала две группы индивидов: тех, кто позднее заболел РЛ, и тех, у кого данное заболевание выявлено не было. Оценку роли участков метилирования ДНК в развитии РЛ проводили, опираясь на данные об известных изменениях паттерна метилирования, связанных с курением, с использованием индекса пачка/лет.

Авторами выявлено 16 CpG сайтов и 40 ДМР, ассоциированных с развитием РЛ, причем значение OR было выше для бывших курильщиков и для пациентов с МРЛ, по сравнению с пациентами с НМРЛ. Данные участки с измененным метилированием локализованы в генах *H19*, *HOXA3/HOXA4*, *RUNX3*, *BRICD5*, *PLXNB2*, *RP13* и *DIABLO*, для которых ранее показана ассоциация с РЛ [31, 32, 33].

Продукты генов гомеобоксных белков *HOXA* являются факторами транскрипции, регулирующими экспрессию генов, морфогенез и дифференцировку тканей. Известно, что экспрессия фактора транскрипции *HOXA3* снижена при аденокарциноме и плоскоклеточном РЛ. Кроме того, показано, что у курящих индивидов уровень *HOXA3* заметно ниже, чем у некурящих [34]. Сравнение паттерна метилирования в опухоли и прилегающей нормальной ткани при аденокарциноме выявило ассоциацию с ДМР в области гена *HOXA3* [35]. Ген другого фактора транскрипции *RUNX3* также является опухолевым супрессором. Гиперметилирование промотора данного гена ассоциировано со снижением выживаемости при РЛ [36]. Кодированный геном *DIABLO* митохондриальный белок является проапоптотическим белком и обеспечивает активацию каспаз путем связывания с белками-ингибиторами апоптоза. Различные исследования свидетельствуют об участии данного белка в онкогенезе. Одними авторами предполагается, что повышенная экспрессия его повышает чувствительность

опухолевых клеток к апоптозу, предотвращая таким образом опухолевую прогрессию [37]. Другие исследователи рассматривают гиперэкспрессию *DIABLO* необходимым звеном в запуске опухолевой метастазии [38].

Также известна роль длинной некодирующей РНК *H19* в развитии РЛ. Угнетение экспрессии *H19* приводит к подавлению роста, миграции и инвазии при НМРЛ. Подавление её импринтинга коррелирует с тотальным деметилированием и ассоциировано с трансформацией нормальной ткани в НМРЛ [39, 40].

В вышеописанной работе Zhao с соавторами была выявлена ассоциация гиперметилирования многих CpG сайтов в области гена *H19* с развитием РЛ. Ранее же в других исследованиях была показана гиперэкспрессия *H19* в опухоли РЛ, которая коррелирует с гипометилированием промоторных CpG [41].

Интересно, что метилирование региона *H19* подвержено воздействию разнообразных модифицирующих влияний, начиная с внутриутробного периода и раннего детства, что может говорить о возможной роли в данном процессе внешних факторов. Это может иметь значение при изучении различных механизмов онкогенеза, его этапов и ключевых элементов.

Результаты многих исследований РЛ в последнее время демонстрируют снижение экспрессии вследствие гиперметилирования ряда генов супрессоров опухолей, в т.ч. *CDKN2A*, *APC*, *RAR β* , *MGMT*, *DAPK*, *F2RL3* и *RASSF1A* [42, 43, 44]. Ген *RASSF1A*, кодирующий белок семейства 1A, содержащий Ras-ассоциированный домен, является одним из наиболее тщательно изученных супрессоров опухолевого роста, функционально он участвует в пролиферации клеток, миграции и онкогенезе [45]. Онкоген *SHOX2* (гомеобокс содержащий ген низкорослости 2) является регулятором клеточной пролиферации и апоптоза и индуктором эпителиально-мезенхимального перехода [46]. Помимо онкогенных функций *SHOX2* также играет значительную

роль в процессах эмбрионального развития и дифференцировки клеток сердечно-сосудистой системы и в развитии скелета [47, 48]. Важно отметить, что часто в ткани РЛ выявляется метилирование как гена *RASSF1A*, так и *SHOX2* [49, 50, 51]. Ряд исследований показали, что сочетанное метилирование генов *RASSF1A* и *SHOX2*, выявленное в различных типах образцов, включая бронхоальвеолярный лаваж, сыворотку, жидкость из плевральной полости, образцы асцитической жидкости, клетки и лимфатические узлы, продемонстрировало чрезвычайно высокую чувствительность и специфичность при РЛ [49-53]. Имеющиеся данные убедительно свидетельствуют о том, что метилирование *RASSF1A* и *SHOX2* является критическим событием в онкогенезе и прогрессировании РЛ, и эти модифицированные гены могут служить потенциальной парой биомаркеров для скрининга РЛ на ранних или поздних стадиях [42, 48, 51, 54, 55].

Метилирование ДНК при МРЛ

Глобальных исследований метилирования ДНК, посвященных исключительно МРЛ, существенно меньше, чем для НМРЛ, и они проведены на ограниченном числе образцов [56, 57]. В одном из первых анализов профиля метилирования при МРЛ [56] было идентифицировано 73 гена, абберантно метилированных в более чем 77% первичных опухолей. Анализ генных онтологий показал значительное обогащение метилированных генов, функционирующих как транскрипционные факторы и участвующих в процессах нейрональной дифференциации. Анализ опухоль-специфических метилированных областей выявил обогащение сайтов связывания нескольких транскрипционных факторов нейрональных клеток, включая *NEUROD1*, *HAND1*, *ZNF423* и *REST*. Авторы предполагают два вероятных механизма нарушения дифференцировки нейроэндокринных клеток, что стимулирует клетки-предшественники опухоли к трансформации в МРЛ. Первый – инактивация путем метили-

рования транскрипционных факторов, необходимых для правильной дифференцировки клеток, второй – функциональная инактивация путем метилирования соответствующих ДНК-связывающих участков [56].

Авторы другого исследования, в ходе которого был проведен полногеномный анализ метилирования ДНК в легочной ткани больных МРЛ, обнаружили повышенную экспрессию при МРЛ гистоновой метилтрансферазы *EZH2*, которая коррелирует с метилированием промоторов множества генов при различных типах опухолей и ассоциирована с плохим прогнозом. В экспериментах на клеточных линиях показано, что ингибирование *EZH2* приводит к подавлению роста клеток опухоли, что делает данный белок потенциальной терапевтической мишенью при МРЛ [57]. Кроме того, выявлен сайленсинг других генов, в т.ч. транскрипционных факторов *NEUROD1*, *TCF2* (*HNF1B*), *REST*, бета-рецептора ретиноевой кислоты *RARB*, *BCL2* и *RASSF1A*.

Также результаты данной работы продемонстрировали гипометилирование большинства CpG в первичных опухолях МРЛ по сравнению с образцами здорового легкого. Было показано, что гиперметилированные CpG сайты локализованы преимущественно в области 500 пн выше сайта старта транскрипции, тогда как гипометилированные распределены по всей промоторной области. Причем, обнаружилось неоднородное распределение и самих наиболее гипометилированных CpG сайтов в зависимости от их влияния на экспрессию гена: CpG, ассоциированные с повышенной экспрессией гена, локализованы ниже, а CpG, ассоциированные с сайленсингом гена, – выше старта транскрипции [57].

У многих форм злокачественных новообразований у человека описан так называемый CIMF-фенотип (CpG-island methylator phenotype), который характеризуется одновременным метилированием

многих CpG островков промоторной области генов, в нормальной ткани никогда не метилированных. В исследовании Saito с соавторами проведена стратификация образцов МРЛ в соответствии со статусом CIMP. Оказалось, что пациенты с CIMP-положительными опухолями имели худший прогноз, чем пациенты с CIMP-отрицательным заболеванием [58]. Эти данные предполагают, что клинически значимые подтипы МРЛ определяются паттернами метилирования ДНК, что согласуется с наблюдениями среди других эпителиев карциномы легких [6, 59].

Роль метилирования ДНК при МРЛ в ответе опухоли на химиотерапию и лучевую терапию

Одна из особенностей МРЛ состоит в том, что у большинства пациентов наблюдается хороший первоначальный ответ на химиотерапию и лучевую терапию, однако в течение 6-12 месяцев почти у всех больных развивается рецидив с переходом заболевания в резистентную форму [60]. Несмотря на все большее количество доказательств роли эпигенетических факторов в развитии МРЛ, понимание их влияния на ответ опухоли на лечение остается ограниченным. Чтобы получить представление о том, как метилирование ДНК может влиять на ответ опухоли на лечение при МРЛ, Krushkal с соавторами провели полногеномный анализ метилирования ДНК на 66 линиях клеток МРЛ человека [61]. Ими были изучены корреляции метилирования ДНК при МРЛ с чувствительностью к противоопухолевым препаратам.

Потенциально важная ассоциация наблюдалась для гена экзонуклеазы TREX1. Повышенное метилирование и сниженная экспрессия TREX1 были ассоциированы с чувствительностью к некоторым ингибиторам киназы Aurora и ряду других препаратов. По сравнению с клеточными линиями других типов рака, TREX1 характеризовался сниженной экспрессией мРНК и повышенным метилированием вышележащей области при МРЛ, что предполагает

наличие возможной связи с чувствительностью МРЛ к ингибиторам киназы Aurora. Krushkal с коллегами также идентифицировали несколько дополнительных корреляций, указывающих на потенциальные механизмы химиочувствительности. Ассоциация ответа на ингибиторы киназы Aurora и другие химиотерапевтические агенты обнаружена также с метилированием генов *CEP350*, *MLPH*, *EPAS1*, *KDM1A*, *EZH2* и *EPHA2* [61] (Табл. 2).

В недавнем исследовании Zhai с соавторами продемонстрировали роль гена каталитической субъединицы теломеразы человека (*hTERT*) в развитии МРЛ. Ими было показано, что метилирование промотора данного гена способствовало прогрессированию МРЛ и резистентности клеток опухоли к лучевой терапии [62]. Сверхэкспрессия *hTERT* приводила к увеличению транскрипции ряда маркеров эпителиально-мезенхимального перехода, в том числе *OCLN*, *JUP* и *ZEB*, и, таким образом, способствовала миграции клеток МРЛ. Также было выявлено, что повышение экспрессии *hTERT* влекло повышение экспрессии *EZH2*, за счет чего усиливалась пролиферация клеток МРЛ.

Другой эпигенетический терапевтический подход к лечению МРЛ открывают исследования по ингибированию лизин-специфической деметилазы 1 (*LSD1*) [63, 64]. *LSD1* представляет собой белок, содержащий флаavin и функционирующий как гистондеметилаза и корепрессор транскрипции [65]. Данный белок является широко изученным членом семейства *LSD*, и повышенная экспрессия его показана при многих видах рака, включая подтипы МРЛ. Белок *LSD1* деметилирует гистон H3 по четвертому лизину, что приводит к подавлению транскрипции, или деметилирует данный гистон по девятому лизину, что имеет противоположный эффект [66].

Augert с соавторами показали, что ингибирование *LSD1*, опосредованное его селективным ингибитором *ORY-1001*, приводит к активации сигнального пути *NOTCH*

и подавляет экспрессию транскрипционного фактора ASCL1, что тормозит прогрессирование МРЛ [64]. Активация NOTCH, наряду с ингибированием ASCL1, имеет терапевтический потенциал при МРЛ, поскольку высокий уровень

экспрессии NOTCH и низкий уровень ASCL1 также подавляет дифференцировку нейроэндокринных клеток. Ингибитор ORY-1001 продемонстрировал эффективность на хеморезистентных моделях ксенотрансплантатов, полученных от пациентов с МРЛ.

Таблица 2

Гены с наиболее значимой ассоциацией повышенного метилирования ДНК с ответом опухоли на химиотерапию

Table 2

Genes with the most significant association of increased DNA methylation with tumor response to chemotherapy

Ген	Функция белкового продукта гена	Терапевтический агент	Категория ингибитора	Реакция на агент
TRES1	Репарация ДНК	AZD-1152 SCH-1473759 SNS-314 TAK-901	Ингибиторы киназы Auroga	Химиочувствительность
		R-547	Ингибитор циклин-зависимых киназ (CDK)	Химиочувствительность
		Vertex ATR inhibitor Cpd 45	Ингибитор серин/треониновой протеинкиназы ATR	Химиочувствительность
		Винорелбин (Vinorelbine)	Разрушитель митотического веретена	Химиочувствительность
CEP350	Связывание микротрубочек клеточного центра	ABT-348 SNS-314	Ингибиторы киназы Auroga	Химиочувствительность
MLPH	Транспорт меланосом	AZD-1152	Ингибитор киназы Auroga	Химиочувствительность
		BI-2536	Ингибитор Polo-подобной киназы 1 (PLK-1)	Химиочувствительность
EPAS1	Транскрипционный фактор, который активируется при падении уровня кислорода	ABT-348 AMG-900 MLN-8237 SNS-314	Ингибиторы киназы Auroga	Химиорезистентность
		ABT-737	Ингибитор Bcl-2	Химиочувствительность
		GSK-461364	Ингибитор PLK-1	Химиорезистентность
KDM1A	Деметилаза гистонов	TAK-960	Ингибитор PLK-1	Повышенная лекарственная устойчивость
EZH2	Метилтрансфераза гистонов	CYC-116 SNS-314	Ингибиторы киназы Auroga	Химиорезистентность
EPHA2	Рецепторная тирозинкиназа	ENMD-2076	Ингибитор киназы Auroga	Химиорезистентность

Mohammad с коллегами сообщили о другом селективном, биодоступном при пероральном введении сильнодействующем ингибиторе LSD1 (GSK2879552), который проявляет противоопухолевые свойства на клеточных линиях МРЛ и моделях опухо-

лей [63]. Эффективность GSK2879552 зависела от статуса метилирования ДНК. Авторами был подобран набор из 45 дифференциально метилированных зондов, способных предсказывать чувствительность МРЛ к данному препарату. Статус гипометили-

рования этого набора зондов позволяет стратифицировать пациентов с МРЛ, которые могут реагировать на ингибирование LSD1 с помощью GSK2879552 [63, 67].

Заключение. В целом, исследования метилирования при МРЛ призваны прояснить биологическую природу онкогенеза при данном заболевании. Различия в профилях метилирования ДНК, выявляемые у разных индивидов, могут отражать различную генетическую предрасположенность к РЛ. Это может быть обусловлено некоторыми индивидуальными различиями в системе детоксикации ксенобиотиков, в том числе канцерогенов, либо различиями в функционировании систем репарации, которые должны восстанавливать возникающие вследствие стрессовых влияний нарушения. С другой стороны, различия в метилировании могут отражать и эффект от воздействия различных факторов, поступающих из внешней среды.

С учетом того, что для эпигенетических маркеров характерна достаточная пластичность, любые изменения в метилировании ДНК, ассоциированные с развитием РЛ, могли бы быть использованы в качестве мишеней для терапевтического воздействия. Полученные в результате множества исследований результаты дают надежды на расширение арсенала химиотерапевтических препаратов. Помимо этого, немаловажным аспектом является потенциальное применение выявляемых маркеров для ранней диагностики заболевания и оценки прогноза пациента.

Тем не менее, возникают определенные трудности с правильным определением и точным анализом эпигенетических маркеров. Данные маркеры чувствительны к различным, в том числе обратным воздействиям в процессе онкогенеза. Кроме того, иногда затруднительно их отделить от влияния социо-экономических факторов. Таким образом, для дальнейшего анализа требуется детальное изучение биологических путей и определение всех ключевых их компонентов.

Информация о финансировании

Работа проведена при финансовой поддержке Санкт-Петербургского государственного университета (проект № 93025749) и мегагранта Правительства Российской Федерации № 075-15-2021-595.

Financial support

This work was carried out with the financial support of St. Petersburg State University (project No 93025749) and the megagrant from the Government of Russian Federation No. 075-15-2021-595.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. GLOBOCAN [Электронный ресурс] [дата обращения 07.07.2022]. URL: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/15-Lung-fact-sheet.pdf>
2. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-50. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature13385>
3. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. *Nature*. 2012;489(7417):519-25. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature11404>
4. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*. 2018;553(7689):446-454. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature25183>
5. Marino FZ, Bianco R, Accardo M, et al. Molecular heterogeneity in lung cancer: from mechanisms of origin to clinical implications. *International Journal of Medical Sciences*. 2019;16(7):981-989. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijms.34739>
6. Sabari JK, Lok BH, Laird JH, et al. Unravelling the biology of SCLC: implications for therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2017;14(9):549-561. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.71>
7. Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, et al. Small-cell lung cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2021;7:3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00235-0>

8. George J, Lim JS, Jang SJ, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature*. 2015;524(7563):47-53. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14664>
9. Peifer M, Fernández-Cuesta L, Sos ML, et al. Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer. *Nature Genetics*. 2012;44(10):1104-1110. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2396>
10. Rudin CM, Durinck S, Stawiski EW, et al. Comprehensive genomic analysis identifies SOX2 as a frequently amplified gene in small-cell lung cancer. *Nature Genetics*. 2012;44(10):1111-1116. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2405>
11. Augert A, Zhang Q, Bates B, et al. Small Cell Lung Cancer Exhibits Frequent Inactivating Mutations in the Histone Methyltransferase KMT2D/MLL2: CALGB 151111 (Alliance). *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(4):704-713. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.12.011>
12. Kim KB, Dunn CT, Park KS. Recent progress in mapping the emerging landscape of the small-cell lung cancer genome. *Experimental and Molecular Medicine*. 2019;51(12):1-13. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0349-5>
13. Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. *Nature Reviews Cancer*. 2019;19(5):289-297. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0133-9>
14. Baine MK, Hsieh MS, Lai WV, et al. SCLC Subtypes Defined by ASCL1, NEUROD1, POU2F3, and YAP1: A Comprehensive Immunohistochemical and Histopathologic Characterization. *Journal of Thoracic Oncology*. 2020;15(12):1823-1835. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.09.009>
15. Gay CM, Stewart CA, Park EM, et al. Patterns of transcription factor programs and immune pathway activation define four major subtypes of SCLC with distinct therapeutic vulnerabilities. *Cancer Cell*. 2021;39(3):346-360.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.12.014>
16. Heyn H, Esteller M. DNA methylation profiling in the clinic: applications and challenges. *Nature Reviews Genetics*. 2012;13(10):679-692. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg3270>
17. Timp W, Feinberg AP. Cancer as a dysregulated epigenome allowing cellular growth advantage at the expense of the host. *Nature Reviews Cancer*. 2013;13(7):497-510. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc3486>
18. Abu-Remaileh M, Bender S, Raddatz G, et al. Chronic inflammation induces a novel epigenetic program that is conserved in intestinal adenomas and in colorectal cancer. *Cancer Research*. 2015;75(10):2120-2130. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3295>
19. Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nature Reviews Cancer*. 2003;3(4):253-266. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc1045>
20. Fasanelli F, Baglietto L, Ponzi E, et al. Hypomethylation of smoking-related genes is associated with future lung cancer in four prospective cohorts. *Nature Communications*. 2015;6:10192. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms10192>
21. Zhang Y, Elgizouli M, Schöttker B, et al. Smoking-associated DNA methylation markers predict lung cancer incidence. *Clinical Epigenetics*. 2016;8:127. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0292-4>
22. Baglietto L, Ponzi E, Haycock P, et al. DNA methylation changes measured in pre-diagnostic peripheral blood samples are associated with smoking and lung cancer risk. *International Journal of Cancer*. 2017;140(1):50-61. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.30431>
23. Joehanes R, Just AC, Marioni RE, et al. Epigenetic Signatures of Cigarette Smoking. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2016;9(5):436-447. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCGENET-ICS.116.001506>
24. Sandanger TM, Nøst TH, Guida F, et al. DNA methylation and associated gene expression in blood prior to lung cancer diagnosis in the Norwegian Women and Cancer cohort. *Scientific Reports*. 2018;8(1):16714. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34334-6>
25. Battram T, Richmond RC, Baglietto L, et al. Appraising the causal relevance of DNA methylation for risk of lung cancer. *International Journal of Epidemiology*. 2019;48(5):1493-1504. DOI: <https://doi.org/10.1093/ije/dyz190>
26. Fewell Z, Davey Smith G, Sterne JA. The impact of residual and unmeasured confounding in epidemiologic studies: a simulation study. *American Journal of Epidemiology*. 2007;166(6):646-655. DOI: <https://doi.org/10.1093/aje/kwm165>
27. Munafò MR, Timofeeva MN, Morris RW, et al. Association between genetic variants on chromosome 15q25 locus and objective measures of tobacco exposure. *Journal of the National Cancer Institute*. 2012;104(10):740-748. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djs191>

28. Zhang Y, Breitling LP, Balavarca Y, et al. Comparison and combination of blood DNA methylation at smoking-associated genes and at lung cancer-related genes in prediction of lung cancer mortality. *International Journal of Cancer*. 2016;139(11):2482-92. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.30374>
29. Zhang X, Gao L, Liu ZP, et al. Uncovering Driver DNA Methylation Events in Nonsmoking Early Stage Lung Adenocarcinoma. *BioMed Research International*. 2016;2016:2090286. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/2090286>
30. Zhao N, Ruan M, Koestler DC, et al. Epigenome-wide scan identifies differentially methylated regions for lung cancer using pre-diagnostic peripheral blood. *Epigenetics*. 2022;17(4):460-472. DOI: <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.1923615>
31. Sato K, Tomizawa Y, Iijima H, et al. Epigenetic inactivation of the RUNX3 gene in lung cancer. *Oncology Reports*. 2006;15(1):129-35. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.15.1.129>
32. Huang Z, Lei W, Hu HB, et al. H19 promotes non-small-cell lung cancer (NSCLC) development through STAT3 signaling via sponging miR-17. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;233(10):6768-6776. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.26530>
33. Liu H, Zhao H. Prognosis related miRNAs, DNA methylation, and epigenetic interactions in lung adenocarcinoma. *Neoplasma*. 2019;66(3):487-493. DOI: https://doi.org/10.4149/neo_2018_181029N805
34. Gan BL, He RQ, Zhang Y, et al. Down-regulation of HOXA3 in lung adenocarcinoma and its relevant molecular mechanism analysed by RT-qPCR, TCGA and in silico analysis. *International Journal of Oncology*. 2018;53(4):1557-1579. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4508>
35. Dugaard I, Dominguez D, Kjeldsen TE, et al. Identification and validation of candidate epigenetic biomarkers in lung adenocarcinoma. *Scientific Reports*. 2016;6:35807. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep35807>
36. Yanagawa N, Tamura G, Oizumi H, et al. Promoter hypermethylation of RASSF1A and RUNX3 genes as an independent prognostic prediction marker in surgically resected non-small cell lung cancers. *Lung Cancer*. 2007;58(1):131-138. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.05.011>
37. Mizutani Y, Nakanishi H, Yamamoto K, et al. Downregulation of Smac/DIABLO expression in renal cell carcinoma and its prognostic significance. *Journal of Clinical Oncology*. 2005;23(3):448-454. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.191>
38. Paul A, Krelin Y, Arif T, et al. A New Role for the Mitochondrial Pro-apoptotic Protein SMAC/Diablo in Phospholipid Synthesis Associated with Tumorigenesis. *Molecular Therapy*. 2018;26(3):680-694. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.12.020>
39. Anisowicz A, Huang H, Braunschweiger KI, et al. A high-throughput and sensitive method to measure global DNA methylation: application in lung cancer. *BMC Cancer*. 2008;8:222. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-222>
40. Langevin SM, Kratzke RA, Kelsey KT. Epigenetics of lung cancer. *Translational Research*. 2015;165(1):74-90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.03.001>
41. Kondo M, Suzuki H, Ueda R, et al. Frequent loss of imprinting of the H19 gene is often associated with its overexpression in human lung cancers. *Oncogene*. 1995;10(6):1193-1198.
42. Niklinska W, Naumnik W, Sulewska A, et al. Prognostic significance of DAPK and RASSF1A promoter hypermethylation in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2009;47(2):275-80. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10042-009-0091-2>
43. Feng H, Zhang Z, Qing X, et al. Promoter methylation of APC and RAR- β genes as prognostic markers in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Experimental and Molecular Pathology*. 2016;100(1):109-113. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.12.005>
44. Duruisseau M, Esteller M. Lung cancer epigenetics: From knowledge to applications. *Seminars in Cancer Biology*. 2018;51:116-128. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.09.005>
45. Malpeli G, Innamorati G, Decimo I, et al. Methylation Dynamics of RASSF1A and Its Impact on Cancer. *Cancers*. 2019;11(7):959. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers11070959>
46. Marchini A, Ogata T, Rappold GA. A Track Record on SHOX: From Basic Research to Complex Models and Therapy. *Endocrine Reviews*. 2016;37(4):417-448. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2016-1036>
47. Yi J, Jin L, Chen J, et al. MiR-375 suppresses invasion and metastasis by direct targeting of SHOX2 in esophageal squamous cell carcinoma. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2017;49(2):159-169. DOI: <https://doi.org/10.1093/abbs/gmw131>

48. Peng X, Liu X, Xu L, et al. The mSHOX2 is capable of assessing the therapeutic effect and predicting the prognosis of stage IV lung cancer. *Journal of Thoracic Disease*. 2019;11(6):2458-2469. DOI: <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.05.81>
49. Kneip C, Schmidt B, Seegebarth A, et al. SHOX2 DNA methylation is a biomarker for the diagnosis of lung cancer in plasma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(10):1632-1638. DOI: <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318220ef9a>
50. Darwiche K, Zarogoulidis P, Baehner K, et al. Assessment of SHOX2 methylation in EBUS-TBNA specimen improves accuracy in lung cancer staging. *Annals of Oncology*. 2013;24(11):2866-2870. DOI: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt365>
51. Zhang C, Yu W, Wang L, et al. DNA Methylation Analysis of the SHOX2 and RASSF1A Panel in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Lung Cancer Diagnosis. *Journal of Cancer*. 2017;8(17):3585-3591. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.21368>
52. Ooki A, Maleki Z, Tsay JJ, et al. A Panel of Novel Detection and Prognostic Methylated DNA Markers in Primary Non-Small Cell Lung Cancer and Serum DNA. *Clinical Cancer Research*. 2017;23(22):7141-7152. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1222>
53. Ren M, Wang C, Sheng D, et al. Methylation analysis of SHOX2 and RASSF1A in bronchoalveolar lavage fluid for early lung cancer diagnosis. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2017;27:57-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2017.01.007>
54. Alanazi IO, AlYahya SA, Ebrahimie E, et al. Computational systems biology analysis of biomarkers in lung cancer; unravelling genomic regions which frequently encode biomarkers, enriched pathways, and new candidates. *Gene*. 2018;659:29-36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.03.038>
55. Li N, Zeng Y, Huang J. Signaling pathways and clinical application of RASSF1A and SHOX2 in lung cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2020;146(6):1379-1393. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00432-020-03188-9>
56. Kalari S, Jung M, Kernstine KH, et al. The DNA methylation landscape of small cell lung cancer suggests a differentiation defect of neuroendocrine cells. *Oncogene*. 2013;32(30):3559-3568. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2012.362>
57. Poirier JT, Gardner EE, Connis N, et al. DNA methylation in small cell lung cancer defines distinct disease subtypes and correlates with high expression of EZH2. *Oncogene*. 2015;34(48):5869-5878. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2015.38>
58. Saito Y, Nagae G, Motoi N, et al. Prognostic significance of CpG island methylator phenotype in surgically resected small cell lung carcinoma. *Cancer Science*. 2016;107(3):320-325. DOI: <https://doi.org/10.1111/cas.12876>
59. Karlsson A, Jönsson M, Lauss M, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of lung carcinoma reveals one neuroendocrine and four adenocarcinoma epitypes associated with patient outcome. *Clinical Cancer Research*. 2014;20(23):6127-6140. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1087>
60. Semenova EA, Nagel R, Berns A. Origins, genetic landscape, and emerging therapies of small cell lung cancer. *Genes and Development*. 2015;29(14):1447-62. DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.263145.115>
61. Krushkal J, Silvers T, Reinhold WC, et al. Epigenome-wide DNA methylation analysis of small cell lung cancer cell lines suggests potential chemotherapy targets. *Clinical Epigenetics*. 2020;12:93. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13148-020-00876-8>
62. Zhai G, Li J, Zheng J, et al. hTERT promoter methylation promotes small cell lung cancer progression and radiotherapy resistance. *Journal of Radiation Research*. 2020;61(5):674-683. DOI: <https://doi.org/10.1093/jrr/rraa052>
63. Mohammad HP, Smitheman KN, Kamat CD, et al. A DNA Hypomethylation Signature Predicts Antitumor Activity of LSD1 Inhibitors in SCLC. *Cancer Cell*. 2015;28(1):57-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.06.002>
64. Augert A, Eastwood E, Ibrahim AH, et al. Targeting NOTCH activation in small cell lung cancer through LSD1 inhibition. *Science Signaling*. 2019;12(567):eaau2922. DOI: <https://doi.org/10.1126/scisignal.aau2922>
65. Shi Y, Lan F, Matson C, et al. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell*. 2004;119(7):941-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.12.012>
66. Khan P, Siddiqui JA, Maurya SK, et al. Epigenetic landscape of small cell lung cancer: small image of a giant recalcitrant disease. *Seminars in Cancer Biology*. 2022;83:57-76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.11.006>
67. Stewart CA, Byers LA. Altering the Course of Small Cell Lung Cancer: Targeting Cancer Stem Cells via LSD1 Inhibition. *Cancer Cell*.

2015;28(1):4-6.
https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.06.011

DOI:

References

1. GLOBOCAN [Internet] [cited 2022 July 7]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/15-Lung-factsheet.pdf>
2. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-50. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature13385>
3. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. *Nature*. 2012;489(7417):519-25. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature11404>
4. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*. 2018;553(7689):446-454. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature25183>
5. Marino FZ, Bianco R, Accardo M, et al. Molecular heterogeneity in lung cancer: from mechanisms of origin to clinical implications. *International Journal of Medical Sciences*. 2019;16(7):981-989. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijms.34739>
6. Sabari JK, Lok BH, Laird JH, et al. Unravelling the biology of SCLC: implications for therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2017;14(9):549-561. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.71>
7. Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, et al. Small-cell lung cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2021;7:3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00235-0>
8. George J, Lim JS, Jang SJ, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature*. 2015;524(7563):47-53. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14664>
9. Peifer M, Fernández-Cuesta L, Sos ML, et al. Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer. *Nature Genetics*. 2012;44(10):1104-1110. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2396>
10. Rudin CM, Durinck S, Stawiski EW, et al. Comprehensive genomic analysis identifies SOX2 as a frequently amplified gene in small-cell lung cancer. *Nature Genetics*. 2012;44(10):1111-1116. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2405>
11. Augert A, Zhang Q, Bates B, et al. Small Cell Lung Cancer Exhibits Frequent Inactivating Mutations in the Histone Methyltransferase KMT2D/MLL2: CALGB 151111 (Alliance). *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(4):704-713. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.12.011>
12. Kim KB, Dunn CT, Park KS. Recent progress in mapping the emerging landscape of the small-cell lung cancer genome. *Experimental and Molecular Medicine*. 2019;51(12):1-13. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0349-5>
13. Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. *Nature Reviews Cancer*. 2019;19(5):289-297. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0133-9>
14. Baine MK, Hsieh MS, Lai WV, et al. SCLC Subtypes Defined by ASCL1, NEUROD1, POU2F3, and YAP1: A Comprehensive Immunohistochemical and Histopathologic Characterization. *Journal of Thoracic Oncology*. 2020;15(12):1823-1835. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.09.009>
15. Gay CM, Stewart CA, Park EM, et al. Patterns of transcription factor programs and immune pathway activation define four major subtypes of SCLC with distinct therapeutic vulnerabilities. *Cancer Cell*. 2021;39(3):346-360.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.12.014>
16. Heyn H, Esteller M. DNA methylation profiling in the clinic: applications and challenges. *Nature Reviews Genetics*. 2012;13(10):679-692. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg3270>
17. Timp W, Feinberg AP. Cancer as a dysregulated epigenome allowing cellular growth advantage at the expense of the host. *Nature Reviews Cancer*. 2013;13(7):497-510. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc3486>
18. Abu-Remaih M, Bender S, Raddatz G, et al. Chronic inflammation induces a novel epigenetic program that is conserved in intestinal adenomas and in colorectal cancer. *Cancer Research*. 2015;75(10):2120-2130. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3295>
19. Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nature Reviews Cancer*. 2003;3(4):253-266. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc1045>
20. Fasanelli F, Baglietto L, Ponzi E, et al. Hypomethylation of smoking-related genes is associated with future lung cancer in four prospective cohorts. *Nature Communications*. 2015;6:10192. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms10192>
21. Zhang Y, Elgizouli M, Schöttker B, et al. Smoking-associated DNA methylation markers predict lung cancer incidence. *Clinical Epigenetics*.

2016;8:127. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0292-4>

22. Baglietto L, Ponzi E, Haycock P, et al. DNA methylation changes measured in pre-diagnostic peripheral blood samples are associated with smoking and lung cancer risk. *International Journal of Cancer*. 2017;140(1):50-61. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.30431>

23. Joehanes R, Just AC, Marioni RE, et al. Epigenetic Signatures of Cigarette Smoking. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2016;9(5):436-447. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.116.001506>

24. Sandanger TM, Nøst TH, Guida F, et al. DNA methylation and associated gene expression in blood prior to lung cancer diagnosis in the Norwegian Women and Cancer cohort. *Scientific Reports*. 2018;8(1):16714. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34334-6>

25. Battram T, Richmond RC, Baglietto L, et al. Appraising the causal relevance of DNA methylation for risk of lung cancer. *International Journal of Epidemiology*. 2019;48(5):1493-1504. DOI: <https://doi.org/10.1093/ije/dyz190>

26. Fewell Z, Davey Smith G, Sterne JA. The impact of residual and unmeasured confounding in epidemiologic studies: a simulation study. *American Journal of Epidemiology*. 2007;166(6):646-655. DOI: <https://doi.org/10.1093/aje/kwm165>

27. Munafò MR, Timofeeva MN, Morris RW, et al. Association between genetic variants on chromosome 15q25 locus and objective measures of tobacco exposure. *Journal of the National Cancer Institute*. 2012;104(10):740-748. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djs191>

28. Zhang Y, Breitling LP, Balavarca Y, et al. Comparison and combination of blood DNA methylation at smoking-associated genes and at lung cancer-related genes in prediction of lung cancer mortality. *International Journal of Cancer*. 2016;139(11):2482-92. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.30374>

29. Zhang X, Gao L, Liu ZP, et al. Uncovering Driver DNA Methylation Events in Nonsmoking Early Stage Lung Adenocarcinoma. *BioMed Research International*. 2016;2016:2090286. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/2090286>

30. Zhao N, Ruan M, Koestler DC, et al. Epigenome-wide scan identifies differentially methylated regions for lung cancer using pre-diagnostic peripheral blood. *Epigenetics*. 2022;17(4):460-472. DOI: <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.1923615>

31. Sato K, Tomizawa Y, Iijima H, et al. Epigenetic inactivation of the RUNX3 gene in lung cancer. *Oncology Reports*. 2006;15(1):129-35. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.15.1.129>

32. Huang Z, Lei W, Hu HB, et al. H19 promotes non-small-cell lung cancer (NSCLC) development through STAT3 signaling via sponging miR-17. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;233(10):6768-6776. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.26530>

33. Liu H, Zhao H. Prognosis related miRNAs, DNA methylation, and epigenetic interactions in lung adenocarcinoma. *Neoplasma*. 2019;66(3):487-493. DOI: https://doi.org/10.4149/neo_2018_181029N805

34. Gan BL, He RQ, Zhang Y, et al. Down-regulation of HOXA3 in lung adenocarcinoma and its relevant molecular mechanism analysed by RT-qPCR, TCGA and in silico analysis. *International Journal of Oncology*. 2018;53(4):1557-1579. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4508>

35. Dugaard I, Dominguez D, Kjeldsen TE, et al. Identification and validation of candidate epigenetic biomarkers in lung adenocarcinoma. *Scientific Reports*. 2016;6:35807. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep35807>

36. Yanagawa N, Tamura G, Oizumi H, et al. Promoter hypermethylation of RASSF1A and RUNX3 genes as an independent prognostic prediction marker in surgically resected non-small cell lung cancers. *Lung Cancer*. 2007;58(1):131-138. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.05.011>

37. Mizutani Y, Nakanishi H, Yamamoto K, et al. Downregulation of Smac/DIABLO expression in renal cell carcinoma and its prognostic significance. *Journal of Clinical Oncology*. 2005;23(3):448-454. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.191>

38. Paul A, Krelin Y, Arif T, et al. A New Role for the Mitochondrial Pro-apoptotic Protein SMAC/Diablo in Phospholipid Synthesis Associated with Tumorigenesis. *Molecular Therapy*. 2018;26(3):680-694. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.12.020>

39. Anisowicz A, Huang H, Braunschweiger KI, et al. A high-throughput and sensitive method to measure global DNA methylation: application in lung cancer. *BMC Cancer*. 2008;8:222. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-222>

40. Langevin SM, Kratzke RA, Kelsey KT. Epigenetics of lung cancer. *Translational Research*. 2015;165(1):74-90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.03.001>

41. Kondo M, Suzuki H, Ueda R, et al. Frequent loss of imprinting of the H19 gene is often associated with its overexpression in human lung cancers. *Oncogene*. 1995;10(6):1193-1198.
42. Niklinska W, Naumnik W, Sulewska A, et al. Prognostic significance of DAPK and RASSF1A promoter hypermethylation in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2009;47(2):275-80. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10042-009-0091-2>
43. Feng H, Zhang Z, Qing X, et al. Promoter methylation of APC and RAR- β genes as prognostic markers in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Experimental and Molecular Pathology*. 2016;100(1):109-113. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.12.005>
44. Duruisseau M, Esteller M. Lung cancer epigenetics: From knowledge to applications. *Seminars in Cancer Biology*. 2018;51:116-128. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.09.005>
45. Malpeli G, Innamorati G, Decimo I, et al. Methylation Dynamics of RASSF1A and Its Impact on Cancer. *Cancers*. 2019;11(7):959. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers11070959>
46. Marchini A, Ogata T, Rappold GA. A Track Record on SHOX: From Basic Research to Complex Models and Therapy. *Endocrine Reviews*. 2016;37(4):417-448. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2016-1036>
47. Yi J, Jin L, Chen J, et al. MiR-375 suppresses invasion and metastasis by direct targeting of SHOX2 in esophageal squamous cell carcinoma. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2017;49(2):159-169. DOI: <https://doi.org/10.1093/abbs/gmw131>
48. Peng X, Liu X, Xu L, et al. The mSHOX2 is capable of assessing the therapeutic effect and predicting the prognosis of stage IV lung cancer. *Journal of Thoracic Disease*. 2019;11(6):2458-2469. DOI: <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.05.81>
49. Kneip C, Schmidt B, Seegebarth A, et al. SHOX2 DNA methylation is a biomarker for the diagnosis of lung cancer in plasma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(10):1632-1638. DOI: <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318220ef9a>
50. Darwiche K, Zarogoulidis P, Baehner K, et al. Assessment of SHOX2 methylation in EBUS-TBNA specimen improves accuracy in lung cancer staging. *Annals of Oncology*. 2013;24(11):2866-2870. DOI: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt365>
51. Zhang C, Yu W, Wang L, et al. DNA Methylation Analysis of the SHOX2 and RASSF1A Panel in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Lung Cancer Diagnosis. *Journal of Cancer*. 2017;8(17):3585-3591. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.21368>
52. Ooki A, Maleki Z, Tsay JJ, et al. A Panel of Novel Detection and Prognostic Methylated DNA Markers in Primary Non-Small Cell Lung Cancer and Serum DNA. *Clinical Cancer Research*. 2017;23(22):7141-7152. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1222>
53. Ren M, Wang C, Sheng D, et al. Methylation analysis of SHOX2 and RASSF1A in bronchoalveolar lavage fluid for early lung cancer diagnosis. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2017;27:57-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2017.01.007>
54. Alanazi IO, AlYahya SA, Ebrahimie E, et al. Computational systems biology analysis of biomarkers in lung cancer; unravelling genomic regions which frequently encode biomarkers, enriched pathways, and new candidates. *Gene*. 2018;659:29-36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.03.038>
55. Li N, Zeng Y, Huang J. Signaling pathways and clinical application of RASSF1A and SHOX2 in lung cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2020;146(6):1379-1393. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00432-020-03188-9>
56. Kalari S, Jung M, Kernstine KH, et al. The DNA methylation landscape of small cell lung cancer suggests a differentiation defect of neuroendocrine cells. *Oncogene*. 2013;32(30):3559-3568. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2012.362>
57. Poirier JT, Gardner EE, Connis N, et al. DNA methylation in small cell lung cancer defines distinct disease subtypes and correlates with high expression of EZH2. *Oncogene*. 2015;34(48):5869-5878. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2015.38>
58. Saito Y, Nagae G, Motoi N, et al. Prognostic significance of CpG island methylator phenotype in surgically resected small cell lung carcinoma. *Cancer Science*. 2016;107(3):320-325. DOI: <https://doi.org/10.1111/cas.12876>
59. Karlsson A, Jönsson M, Lauss M, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of lung carcinoma reveals one neuroendocrine and four adenocarcinoma epitypes associated with patient outcome. *Clinical Cancer Research*.

2014;20(23):6127-6140. DOI:
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1087>

60.Semenova EA, Nagel R, Berns A. Origins, genetic landscape, and emerging therapies of small cell lung cancer. *Genes and Development*. 2015;29(14):1447-62. DOI:
<https://doi.org/10.1101/gad.263145.115>

61.Krushkal J, Silvers T, Reinhold WC, et al. Epigenome-wide DNA methylation analysis of small cell lung cancer cell lines suggests potential chemotherapy targets. *Clinical Epigenetics*. 2020;12:93. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13148-020-00876-8>

62.Zhai G, Li J, Zheng J, et al. hTERT promoter methylation promotes small cell lung cancer progression and radiotherapy resistance. *Journal of Radiation Research*. 2020;61(5):674-683. DOI:
<https://doi.org/10.1093/jrr/rraa052>

63.Mohammad HP, Smitheman KN, Kamat CD, et al. A DNA Hypomethylation Signature Predicts Antitumor Activity of LSD1 Inhibitors in SCLC. *Cancer Cell*. 2015;28(1):57-69. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.06.002>

64.Augert A, Eastwood E, Ibrahim AH, et al. Targeting NOTCH activation in small cell lung cancer through LSD1 inhibition. *Science Signaling*. 2019;12(567):eaau2922. DOI:
<https://doi.org/10.1126/scisignal.aau2922>

65.Shi Y, Lan F, Matson C, et al. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell*. 2004;119(7):941-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.12.012>

66.Khan P, Siddiqui JA, Maurya SK, et al. Epigenetic landscape of small cell lung cancer: small image of a giant recalcitrant disease. *Seminars in Cancer Biology*. 2022;83:57-76. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.11.006>

67.Stewart CA, Byers LA. Altering the Course of Small Cell Lung Cancer: Targeting Cancer Stem Cells via LSD1 Inhibition. *Cancer Cell*. 2015;28(1):4-6. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.06.011>

Статья поступила в редакцию 31 августа 2022 г.

Поступила после доработки 3 октября 2022 г.

Принята к печати 1 декабря 2022 г.

Received 31 August 2022

Revised 3 October 2022

Accepted 1 December 2022

Информация об авторах

Айгуль Ринатовна Низамова, аспирант по научной специальности 1.5.7 – Генетика, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа, Российская Федерация, E-mail nizamova_aigool@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8065-8942>.

Галия Фуатовна Гималова, кандидат биологических наук, научный сотрудник Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа; научный сотрудник ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург; доцент кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: galiyagimalova@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0779-4678>.

Эльза Камильевна Хуснутдинова, доктор биологических наук, профессор, директор Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа; главный научный сотрудник ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург; заведующий кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: elzakh@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>.

Information about the authors

Aigul R. Nizamova, Post-graduate Student in Scientific Specialty 1.5.7 – Genetics, Junior Researcher at the Laboratory of Human Molecular Genetics, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia, E-mail: nizamova_aigool@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8065-8942>.

Galiya F. Gimalova, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa; Researcher, Saint Petersburg State University, Saint Peters-

burg; Associate Professor at the Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: galiyagimalova@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0779-4678>.

Elza K. Khusnutdinova, Doct. Sci. (Biology), Professor, Director of the Institute of Biochemistry

and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa; Chief Researcher, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg; Head of the Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: elzakh@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-2

Outcomes of ROHs (runs of homozygosity)/ LCSHs (long contiguous stretches of homozygosity) spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 among children with neurodevelopmental disorders

Oksana S. Kurinnaia^{1,2} , Kirill S. Vasin^{1,2} , Maria A. Zelenova^{1,2} ,
Yuri B. Yurov^{1,2} , Victoria Y. Voinova^{1,2} , Svetlana G. Vorsanova^{1,2} ,
Ivan Y. Iourov^{1,2}

¹ Pirogov Russian National Research Medical University,

2 Taldomskaya St., Moscow, 125412, Russia

² Mental Health Research Center,

34 Kashirskoe Highway, Moscow, 115522, Russia

Corresponding author: Ivan Y. Iourov (ivan.iourov@gmail.com)

Abstract

Background: Runs of homozygosity or long contiguous stretches of homozygosity (ROHs/LCSHs) are common in the human genome. ROHs/LCSHs spanning the imprinted loci have been previously associated with neurodevelopmental disorders. However, the outcomes of these epigenomic variations remain enigmatic. Accordingly, there is a need to evaluate the ROHs/LCSHs outcomes covering the imprinted loci. **The aim of the study:** To describe the outcomes of ROHs/LCSHs spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 among children with neurodevelopmental disorders. **Materials and methods:** Using molecular karyotyping by high-resolution SNP array, we obtained data on ROHs/LCSHs from 772 children with neurodevelopmental disorders and congenital malformations. ROHs/LCSHs spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 were additionally analyzed by original bioinformatic approaches to uncover the pathogenic value. **Results:** ROHs/LCSHs spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 were detected in 67 (8.7%) individuals. Bioinformatic analyses demonstrated that ROHs/LCSHs affecting imprinted loci of chromosome 7 are not associated with clearly recognizable outcomes. Alternatively, ROHs/LCSHs affecting imprinted loci of chromosome 11 (11p15.5p15.4; Beckwith-Wiedemann syndrome) and chromosome 15 (15q11.2; Prader-Willi/Angelman syndromes) were associated with distinct outcomes as shown by bioinformatics approaches. Prader-Willi/Angelman syndrome loci were affected in 18 cases (2.3%), whereas Beckwith-Wiedemann syndrome loci were affected in 10 cases (1.3%). **Conclusion:** Analysis of the outcomes of ROHs/LCSHs spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 has demonstrated that the epigenomic changes affecting 11p15.5p15.4, and 15q11.2 (28

cases; 3.6%) are associated with atypical forms of Beckwith-Wiedemann and Prader-Willi/Angelman syndromes, respectively. The outcomes of ROHs/LCSHs in chromosome 7 have not been found convincing for a definitive conclusion about the phenotypic effects. Molecular karyotyping by SNP array is a valuable diagnostic technique offering opportunities for detecting these common but underestimated epigenetic causes for neurodevelopmental disorders and congenital malformations.

Keywords: chromosome; runs of homozygosity; long contiguous stretches of homozygosity; neurodevelopmental disorders; SNP array; bioinformatics; cytogenomics

For citation: Kurinnaia OS, Vasin KS, Zelenova MA, et al. Outcomes of ROHs (runs of homozygosity)/LCSHs (long contiguous stretches of homozygosity) spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 among children with neurodevelopmental disorders. Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):312-321. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-2

Introduction. Runs of homozygosity or long contiguous stretches of homozygosity (ROHs/LCSHs) are losses of heterozygosity spanning more than 1 Mb at specific chromosomal loci (i.e. segmental uniparental disomy or a pair of homologous chromosomal loci larger than 1 Mb derived from a single parent). Currently, these epigenomic variations are intimately linked to parental consanguinity (the amount of large ROHs/LCSHs (>3 Mb) per individual genome is high) and autosomal recessive diseases (ROHs/LCSHs involve a locus containing a mutated gene associated with an autosomal recessive condition). ROHs/LCSHs may be occasionally associated with other pathological conditions. However, such reports are rare and irreproducible [1, 2]. Nonetheless, there is a type of ROHs/LCSHs clearly associated with congenital malformations and neurodevelopmental disorders detectable in at least 5% of the affected individuals. More precisely, these are ROHs/LCSHs spanning the loci containing imprinted gene clusters of chromosomes 7, 11 and 15 (alterations to these genes/gene clusters cause imprinting disorders) [3, 4]. These findings are reproducible in unrelated neurodevelopmental cohorts [5]. Epigenetic alterations within these imprinted gene clusters/genomic loci lead to an appreciable impact on molecular and cellular processes [6]. Accordingly, ROHs/LCSHs spanning chromosomal regions 7q21.11/7q21.3, 7q32.2, 11p15.5p15.4 and 15q11.2 containing diseases-associated imprinted genes are likely to cause deregulation of genomic imprinting and, thereby, to produce disease phenotypes [7].

Still, there are a number of unanswered questions surrounding the outcomes of ROHs/LCSHs spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15, which are generally related to phenotypic and molecular consequences of these epigenomic variations.

To answer these questions, applications of sophisticated methods of interpreting genomic or epigenomic variations are required. Recently, pathway-based classification of genomic variations to interpret the outcomes of alterations to genome has been proposed as a promising approach for medical genomics. The underlying basis for this bioinformatic technology is the analysis of genomic variations in the context of molecular and cellular pathways, which are able to be affected by the detected changes within an individual genome [8, 9, 10]. In the light of cytogenomic (chromosomal rearrangements and copy number variations) and (cyto)epigenomic (ROHs/LCSHs), the technology has repeatedly been found effective [7, 8, 11]. Our experience evidences that the most efficient way to define the effect of genetic/epigenetic changes on molecular and cellular pathways by the bioinformatic technology is to use systems analysis of the whole set of genes affected by (epi)genomic defects [12]. Thus, to succeed in studying the outcomes of ROHs/LCSHs spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15, this bioinformatic approach to interpretation of epicytogenomic variations should be applied.

Genomic imprinting disorders have been systematically studied by a variety of genomic,

epigenetic and cytogenetic/cytogenomic techniques. Apart from ROHs/LCSHs, numerous mechanisms for imprinting defects at 7q21.11/7q21.3, 7q32.2, 11p15.5p15.4 and 15q11.2 produced by genomic rearrangements, whole-chromosome uniparental disomy, and methylation defects are known [13, 14, 15]. Moreover, several studies highlight imprinted gene contribution to neurodevelopmental and neuropsychiatric diseases [16]. More specific defects (e.g. mosaic methylation patterns) are able to cause disease-associated alterations to imprinted genes mapped to 15q11.2 [17]. Imprinting defects at chromosomes 7q21.11/7q21.3/7q32.2, 11p15.5p15.4 and 15q11.2 are associated with Silver-Russell, Beckwith-Wiedemann and Prader-Willi/Angelman syndromes, respectively [13, 18, 19, 20]. Consequently, one may suggest that ROHs/LCSHs spanning these imprinted loci are likely to cause atypical forms of the syndromes and/or neurodevelopmental disorders.

The aim of the study. Our study is aimed at evaluating the outcomes of ROHs/LCSHs spanning imprinted loci at 7q21.11/7q21.3/7q32.2, 11p15.5p15.4 and 15q11.2 in a large cohort of children with neurodevelopmental diseases and congenital malformations. Additionally, we aimed at determining the occurrence of pathogenic ROHs/LCSHs spanning the aforementioned regions and the applicability of molecular karyotyping by SNP array for the molecular diagnosis.

Materials and methods. Molecular karyotyping by SNP array (CytoScan HD Arrays by Affymetrix (Santa Clara, CA); ~2.7 billion markers and ~750,000 SNPs for detecting copy number variations and losses of heterozygosity) was applied to uncover ROHs/LCSHs in the Russian cohort of children with neurodevelopmental disorders (intellectual disability, autism, epilepsy) and congenital anomalies (n=772). The cohort was repeatedly described previously [3, 4, 21, 22]; SNP array performance was presented in details previously [21, 22, 23]. Addressing the outcomes of

ROHs/LCSHs spanning imprinted loci at 7q21.11/7q21.3/7q32.2, 11p15.5p15.4 and 15q11.2 was carried out using original bioinformatic methods. Briefly, epigenetic, proteomic/interatomic and metabolomic profiling of imprinted genes of chromosomes 7, 11 and 15 was bioinformatically evaluated using systems analysis and data fusion, as described elsewhere [21, 24, 25]. Imprinted genes affected by ROHs/LCSHs were highlighted according to Geneimprint database (<https://www.geneimprint.com/site/genes-by-species.Homo+sapiens.imprinted-All>). Parental consanguinity was determined according to well-known protocol as reported previously [26].

Results and discussion. Molecular karyotyping using high-resolution SNP array was successfully applied for uncovering ROHs/LCSHs spanning imprinted loci at 7q21.11/7q21.3/7q32.2, 11p15.5p15.4 and 15q11.2 (Fig.1). Sixty seven out of 772 (8.7%) children from the neurodevelopmental cohort were found to exhibit ROHs/LCSHs spanning the loci mentioned previously. Parental consanguinity was uncovered in 11 cases (1.4%). Three cases of parental consanguinity demonstrated ROHs/LCSHs spanning imprinted genes at 11p15.5p15.4 (n=1) and 15q11.2 (n=2). The remaining cases of parental consanguinity were not associated with imprinting defects at the aforementioned loci of chromosome 7, 11 and 15. ROHs/LCSHs spanning imprinted genes of chromosome 7 were found in 39 cases (5%), chromosome 11 – 10 cases (1.3%), and chromosome 15 – 18 cases (2.3%). ROHs/LCSHs spanning the imprinted locus at 7q21.11/7q21.3 recurrently (i.e. more than 2 times) encompassed following genes: *MAGI2*, *TFPI2*, *SGCE*, *PEG10*, *PPP1R9A*, and *DLX5*; 7q32.2 – *CPA4* and *MEST*; 11p15.5p15.4 – *H19*, *IGF2*, *INS*, *KCNQ1*, *KCNQ1DN*, and *CDKN1C*; 15q11.2 – *MKRN3*, *MAGEL2*, *NDN*, *NPAP1*, *SNRPN*, and *UBE3A*. The data obtained correlates with previous reports on ROHs/LCSHs spanning shortly the imprinted loci in individuals with neurodevelopmental disorders and congenital malformations [3, 4].

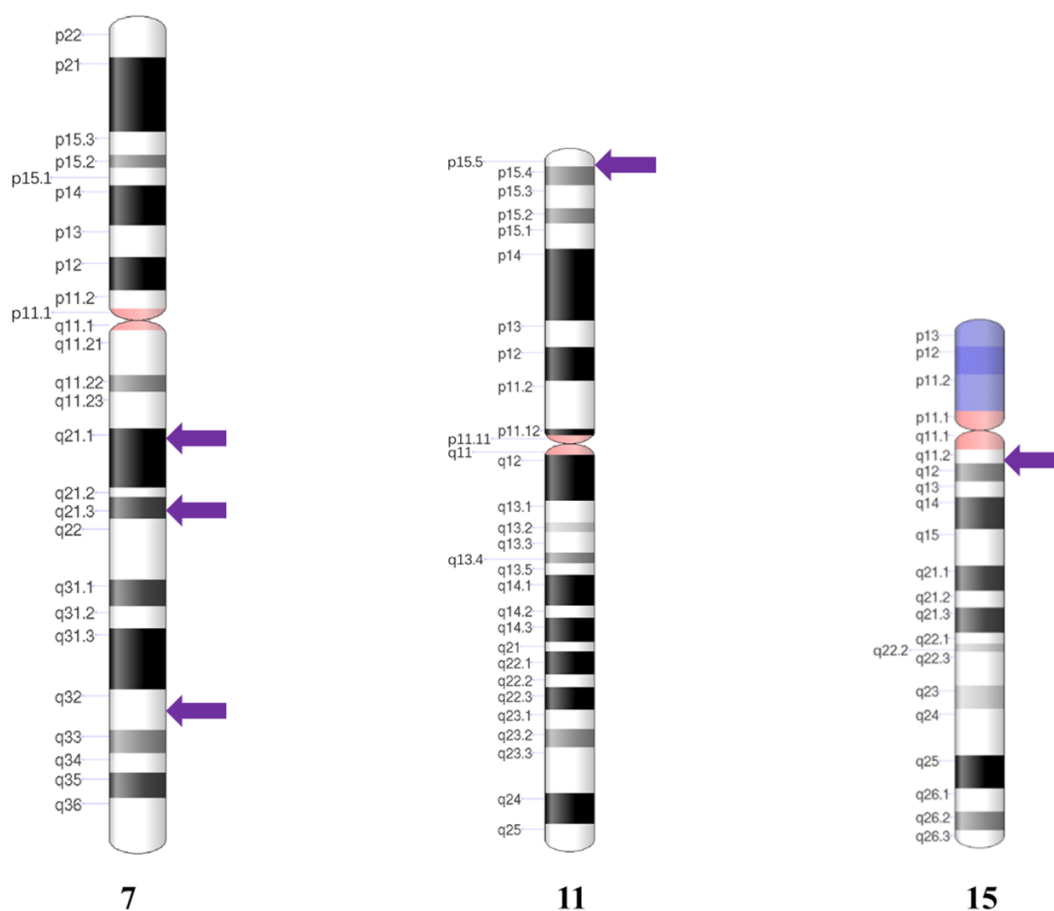


Fig. 1. Ideograms demonstrating the imprinted loci affected by ROHs/LCSHs investigated in the present study (7q21.11, 7q21.3, 7q32.2, 11p15.5p15.4, and 15q11.2).

Analysis of ROHs/LCSHs at 7q21.11, 7q21.3, and 7q32.2 has not allowed to determine direct outcomes of these epigenomic changes. Firstly, the overwhelming majority of these cases demonstrated pathogenic copy number variations ($n > 1$ per case) and chromosomal imbalances (deletions, duplications, aneuploidy) (data not shown). Secondly, bioinformatic analysis yielded contradictory results. Thirdly, phenotypic diversity of these cases hindered genotype-phenotype correlations. In other words, ROHs/LCSHs at these imprinted loci of chromosome 7 were not associated with specific clinical manifestations (e.g. Silver-Russell syndrome or another clinical entity). It is to note that there were only three genes (*SGCE*, *PEG10*, and *PPP1R9A*), which were systematically and concomitantly affected by ROHs/LCSHs at 7q21.3. In summary, we concluded that ROHs/LCSHs spanning imprinted regions 7q21.11, 7q21.3, and 7q32.2 are unlikely to cause a specific phenotype. Still, our

observations do not imply that these epigenomic changes lack any kind of phenotypic consequences

Focusing on 11p15.5p15.4, we found that ROHs/LCSHs at this chromosomal region affect imprinted genes in a recurrent manner. Furthermore, these imprinted genes are involved in a wide spectrum of shared pathways inasmuch as their transcripts form a common interactome. Ontologies of the imprinted genes are frequently shared, as well. Furthermore, all the cases demonstrating ROHs/LCSHs at the imprinted loci 11p15.5p15.4 presented with atypical forms of Beckwith-Wiedemann syndrome, which possesses phenotypically recognizable patterns of malformations and is repeatedly reported in the available literature [13, 15]. Figure 2 presents data on imprinted genes of chromosome 11 involved in ROHs/LCSHs.

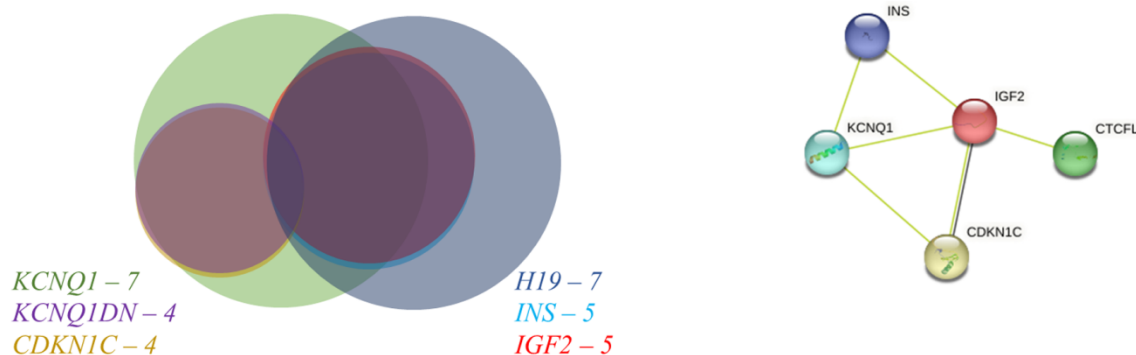


Fig. 2. Imprinted genes of chromosome 11 involved in ROHs/LCSHs: occurrence of ROHs/LCSHs spanning the gene (given in number of cases per gene and depicted by Euler circles) and interactome analysis.

Imprinting deregulation/defects at 15q11.2 are recognized causes of Angelman and Prader-Willi syndromes, which are well-known genetic neurodevelopmental disorders [7, 13-17, 19, 20]. Therefore, it is not surprising that ROHs/LCSHs within this imprinted region possess appreciable pathogenic consequences [3]. Still, the intrinsic outcomes of these epigenomic changes remains poorly understood. Our data indicate that ROHs/LCSHs at this chromosomal region affect imprinted genes in a recurrent manner as in the case of

chromosome 11. Transcripts of ROHs/LCSHs-affected genes within the imprinted locus of chromosome 15 form a common interactome. Shared ontologies between these imprinted genes are described, as well. Finally, similarity between ontologies of imprinted genes of chromosomes 11 and 15 confirms a hypothesis suggesting the existence of genomic imprinting-overlapping phenotypes and an imprinting network [15]. Figure 3 demonstrates data on imprinted genes of chromosome 15 involved in ROHs/LCSHs.

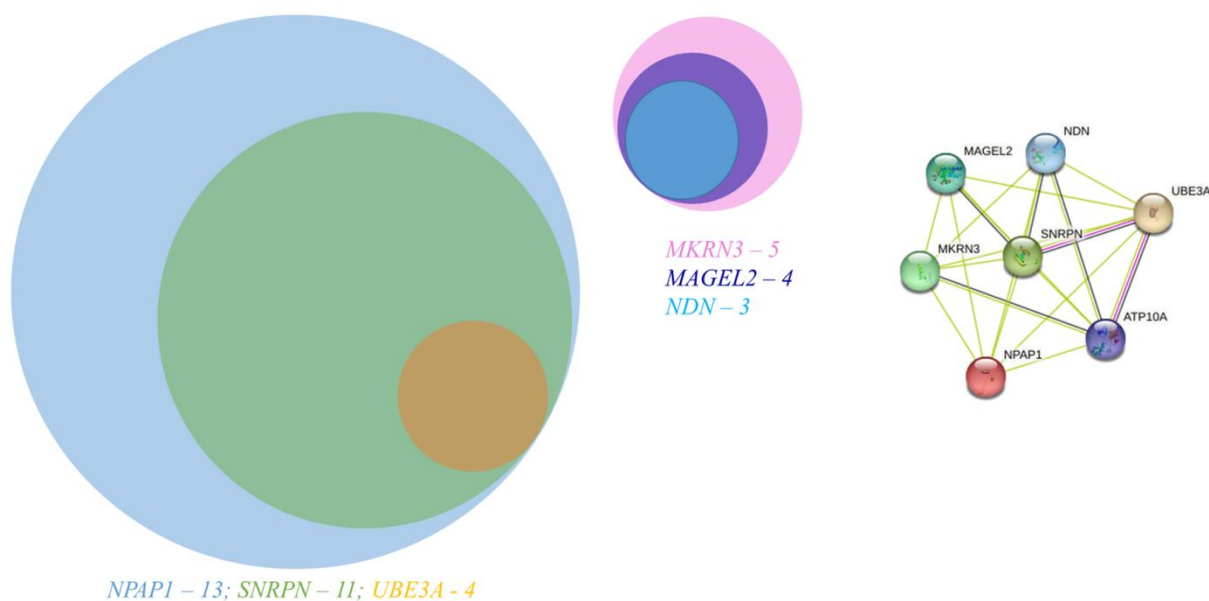


Fig. 3. Imprinted genes of chromosome 15 involved in ROHs/LCSHs: occurrence of ROHs/LCSHs spanning the gene (given in number of cases per gene and depicted by Euler circles) and interactome analysis.

As one may see, there are two distinct sets of genes concomitantly affected by ROHs/LCSHs (segmental uniparental disomy). The first gene set (*NPAP1*, *SNRPN*, and *UBE3A*) was more commonly associated with atypical Angelman syndrome phenotypes, whereas the second gene set (*MKRN3*, *MAGEL2*, and *NDN*) was more commonly associated with atypical Prader-Willi syndrome phenotypes. Unfortunately, parental origin of the segmental uniparental disomy (ROHs/LCSHs at these loci) was impossible to determine due to the impossibility of performing molecular karyotyping using both maternal and paternal DNA. These data would be intriguing for clinical description of these cases in light of the differences between Angelman and Prader-Willi syndromes.

ROHs/LCSHs at the imprinted loci 11p15.5p15.4 and 15q11.2 mimic uniparental disomy of chromosomes 11 and 15. However, regardless of the association between these epigenomic changes and neurodevelopmental disorders and congenital malformations [3, 4], guidelines on genetic diagnostic testing for uniparental disomy completely ignore ROHs/LCSHs or segmental uniparental disomies affecting the imprinted gene clusters [27]. This ignorance results into a major problem, which may be defined as underdiagnosing of epigenetic/epigenomic changes producing neurodevelopmental phenotypes or atypical forms of Beckwith-Wiedemann and Prader-Willi/Angelman syndrome. Additionally, there are numerous problems associated with molecular cytogenetic, cytogenomic and molecular genetic diagnosis of neurodevelopmental diseases associated with cytogenomic/epigenomic changes. These are basically referred to the impossibility of studying genomes and epigenomes at the chromosomal level by the majority of genomic techniques. For instance, SNP array is the only technique for cytogenomic detection of ROHs/LCSHs, whereas FISH is the only visual technique for detecting low-level mosaicism and parental origins of chromosomes in mosaic cases [7, 28, 29, 30]. All these technological aspects are to be taken into account during diagnosis of atypical forms

of Prader-Willi/Angelman and Beckwith-Wiedemann syndromes [30, 31]. To increase the efficiency of cytogenomic approaches to detecting ROHs/LCSHs and copy number variations, bioinformatic analysis (i.e. systems analysis, pathway-based classification etc.) is to be applied [8, 12]. Certainly, current medical genomics has technical potential to solve the diagnostic problems. In the light of uncovering ROHs/LCSHs at the imprinted loci and the outcomes, we may recommend to use molecular karyotyping using SNP array in combination with advanced bioinformatic techniques allowing defining pathogenic values of genomic and epigenomic variations.

Diverse epigenetic mechanisms have been described to regulate and to maintain genomic imprinting [32]. Recently, genomic imprinting has been addressed using profound theoretical and empirical analyses. As a result, the imprintome concept was proposed since regulation, deregulation and defects of imprinting are likely to form a complex system [33]. Unfortunately, chromosomal aspects of deregulation and defects (including occurrence of ROHs/LCSHs) have been totally left aside during the development of this concept. In this context, it is to mention that uniparental disomy is a chromosomal disorder in the first place [34]. Certainly, ROHs/LCSHs also do. To highlight this issue, we have introduced “cytoepigenomic variations” to describe cytogenetic/cytogenomic aspects of disease-associated ROHs/LCSHs during the work of the cytogenomic epileptology consortium. In this context, it is apposite to note that children exhibiting ROHs/LCSHs at the imprinted loci demonstrated epileptic conditions similar to the aforementioned imprinting disorders (Angelman syndrome is a recognized genetic cause of specific epilepsy types) [35]. Thus, theoretical issues related to definitions of ROHs/LCSHs reflect the analytical efforts to describe clinical outcomes of these disorders. To this end, using the data obtained and a review of current challenges and opportunities for cytogenetics and cytogenomics in the clinical context [35, 36], we concluded that sys-

tems analysis of cytogenomic and cytoepigenomic data [37] is the most promising way to uncover the outcomes of related genomic and epigenomic variations.

Conclusion. Cytoepigenomic variations manifesting as ROHs/LCSHs spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 are common among children with neurodevelopmental disorders as detected by molecular karyotyping using SNP array. The incidence is estimated as 8.7%. Evaluations of the outcomes using advanced bioinformatic techniques addressing ontologies and interactomes of imprinted genes affected by ROHs/LCSHs have demonstrated that epigenomic changes affecting 11p15.5p15.4 and 15q11.2 (28 cases; 3.6%) are associated with definable cellular and clinical consequences in affected individuals. These mimic atypical forms of Beckwith-Wiedemann (ROHs/LCSHs spanning imprinted genes at 11p15.5p15.4) and Prader-Willi/Angelman syndromes (ROHs/LCSHs spanning imprinted genes at 15q11.2). Analysis of ROHs/LCSHs spanning imprinted genes chromosome 7 has not allowed us to determine apparent molecular/cellular and phenotypic consequences. Finally, we conclude that molecular karyotyping by SNP array followed by the application of advanced bioinformatic techniques represent a valuable diagnostic approach to uncover cytoepigenomic variations manifesting as ROHs/LCSHs spanning the imprinted loci, which are common but underappreciated sources for neurodevelopmental disorders.

Financial support

Our study is partially supported by the Government Assignment of the Russian Ministry of Health, Assignment no. 121031000238–1 and by the Government Assignment of the Russian Ministry of Science and Higher Education, Assignment no. AAAA-A19–119040490101-6.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Ceballos FC, Joshi PK, Clark DW, et al. Runs of homozygosity: windows into population history and trait architecture. *Nature Reviews Genetics*. 2018;19(4):220-234. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.109>
2. Szpiech ZA, Mak ACY, White MJ, et al. Ancestry-dependent enrichment of deleterious homozygotes in runs of homozygosity. *American Journal of Human Genetics*. 2019;105(4):747-762. DOI: <https://10.1016/j.ajhg.2019.08.011>
3. Iourov IY, Vorsanova SG, Korostelev SA, et al. Long contiguous stretches of homozygosity spanning shortly the imprinted loci are associated with intellectual disability, autism and/or epilepsy. *Molecular Cytogenetics*. 2015;8:77. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-015-0199-3>
4. Iourov IY, Vorsanova SG, Zelenova MA, et al. Epigenomic variations manifesting as a loss of heterozygosity affecting imprinted genes represent a molecular mechanism of autism spectrum disorders and intellectual disability in children. *Journal of Neurology i Psychiatry imeni S.S. Korsakova*. 2019;119(5):91-97. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/jnevro201911905191>
5. Chaves TF, Oliveira LF, Ocampos M, et al. Long contiguous stretches of homozygosity detected by chromosomal microarrays (CMA) in patients with neurodevelopmental disorders in the South of Brazil. *BMC Medical Genomics*. 2019;12(1):50. DOI: <https://10.1186/s12920-019-0496-5>
6. Mishra A, Prabha PK, Singla R, et al. Epigenetic interface of autism spectrum disorders (ASDs): implications of chromosome 15q11-q13 segment. *ACS Chemical Neuroscience*. 2022;13(12):1684-1696. DOI: <https://10.1021/acscchemneuro.2c00060>
7. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. Runs of homozygosity and epigenetic deregulation of genomic imprinting. *OBM Genetics*. 2018;2(3):028. DOI: <https://doi.org/10.21926/obm.genet.1803028>
8. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. Pathway-based classification of genetic diseases. *Molecular Cytogenetics*. 2019;12:4. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-019-0418-4>
9. Ghulam A, Lei X, Guo M, Bian C. Comprehensive analysis of features and annotations of pathway databases. *Current Bioinformatics*. 2020;15(8):803-820. DOI: <https://doi.org/10.2174/1574893615999200413123352>

10. Jiang X-F, Xiong L, Bai L, et al. Structure and dynamics of human complication-disease network. *Chaos, Solitons and Fractals*. 2022;164:112633. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2022.112633>
11. Heng HH, Horne SD, Chaudhry S, et al. A postgenomic perspective on molecular cytogenetics. *Current Genomics*. 2018;19(3):227-239. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389202918666170717145716>
12. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. The variome concept: focus on CNVariome. *Molecular Cytogenetics*. 2019;12:52. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-019-0467-8>
13. Monk D, Mackay DJG, Eggermann T, et al. Genomic imprinting disorders: lessons on how genome, epigenome and environment interact. *Nature Reviews in Genetics*. 2019;20(4):235-248. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0092-0>
14. Butler MG. Imprinting disorders in humans: a review. *Current Opinion in Pediatrics*. 2020;32(6):719-729. DOI: <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000965>
15. Eggermann T, Davies JH, Tauber M, et al. Growth restriction and genomic imprinting-overlapping phenotypes support the concept of an imprinting network. *Genes*. 2021;12(4):585. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes12040585>
16. Isles AR. The contribution of imprinted genes to neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *Translational Psychiatry*. 2022;12(1):210. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-022-01972-4>
17. Aypar U, Hoppman NL, Thorland EC, Dawson DB. Patients with mosaic methylation patterns of the Prader-Willi/Angelman Syndrome critical region exhibit AS-like phenotypes with some PWS features. *Molecular Cytogenetics*. 2016;9:26. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-016-0233-0>
18. Nakabayashi K, Fernandez BA, Teshima I, et al. Molecular genetic studies of human chromosome 7 in Russell-Silver syndrome. *Genomics*. 2002;79(2):186-96. DOI: <https://doi.org/10.1006/geno.2002.6695>
19. Sazhenova EA, Lebedev IN. Epigenetic mosaicism in genomic imprinting disorders. *Russian Journal of Genetics*. 2019;55(10):1196-1207. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1022795419100119>
20. Mendiola AJ, LaSalle JM. Epigenetics in Prader-Willi syndrome. *Frontiers in Genetics*. 2021;12:624581. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.624581>
21. 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>
22. Vorsanova SG, Demidova IA, Kolotii AD, et al. Klinefelter syndrome mosaicism in boys with neurodevelopmental disorders: a cohort study and an extension of the hypothesis. *Molecular Cytogenetics*. 2022;15(1):8. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-022-00588-z>
23. Romdhane L, Mezzi N, Dallali H, et al. A map of copy number variations in the Tunisian population: a valuable tool for medical genomics in North Africa. *NPJ Genomic Medicine*. 2021;6(1):3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41525-020-00166-5>
24. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. In silico molecular cytogenetics: a bioinformatics approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research. *Molecular Cytogenetics*. 2014;7(1):98. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0098-z>
25. Yurov YB, Vorsanova SG, Iourov IY. Network-based classification of molecular cytogenetic data. *Current Bioinformatics*. 2017;12:27-33. DOI: <https://doi.org/10.2174/1574893611666160606165119>
26. Fan YS, Ouyang X, Peng J, et al. Frequent detection of parental consanguinity in children with developmental disorders by a combined CGH and SNP microarray. *Molecular Cytogenetics*. 2013;6(1):38. DOI: <https://doi.org/10.1186/1755-8166-6-38>
27. Del Gaudio D, Shinawi M, Astbury C, et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Diagnostic testing for uniparental disomy: a points to consider statement from the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine*. 2020;22(7):1133-1141. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41436-020-0782-9>
28. Vorsanova SG, Yurov YB, Soloviev IV, et al. Molecular cytogenetic diagnosis and somatic genome variations. *Current Genomics*. 2010;11(6):440-446. DOI: <https://doi.org/10.2174/138920210793176010>
29. Pellikaan K, van Woerden GM, Kleinendorst L, et al. The diagnostic journey of a

patient with Prader-Willi-Like syndrome and a unique homozygous SNURF-SNRPN variant; bio-molecular analysis and review of the literature. *Genes*. 2021;12(6):875. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes12060875>

30. Iourov IY, Vorsanova SG, Kurinnaia OS, et al. The use of molecular cytogenetic and cytogenetic techniques for the diagnosis of Prader-Willi and Angelman syndrome. *Journal of Neurology i Psychiatry imeni S.S. Korsakova*. 2014;114(1):49-53. Russian.

31. Fontana L, Tabano S, Maitz S, et al. Clinical and molecular diagnosis of Beckwith-Wiedemann syndrome with single- or multi-locus imprinting disturbance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(7):3445. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22073445>

32. Andergassen D, Smith ZD, Kretzmer H, et al. Diverse epigenetic mechanisms maintain parental imprints within the embryonic and extraembryonic lineages. *Developmental Cell*. 2021;56(21):2995-3005.e4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.10.010>

33. Jima DD, Skaar DA, Planchart A, et al. Genomic map of candidate human imprint control regions: the imprintome. *Epigenetics*. 2022;17(13):1920-1943. DOI: <https://doi.org/10.1080/15592294.2022.2091815>

34. Liehr T. Uniparental disomy is a chromosomal disorder in the first place. *Molecular Cytogenetics*. 2022;15(1):5. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-022-00585-2>

35. Iourov IY, Gerasimov AP, Zelenova MA, et al. Cytogenomic epileptology. *Molecular Cytogenetics*. 2023;16(1):1. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-022-00634-w>

36. Heng E, Thanedar S, Heng HH. Challenges and opportunities for clinical cytogenetics in the 21st century. *Genes*. 2023;14(2):493. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes14020493>

37. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. Systems cytogenomics: are we ready yet? *Current Genomics*. 2021;22(2):75-78. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389202922666210219112419>

Received 12 January 2023

Revised 21 February 2023

Accepted 30 February 2023

Information about the authors

Oksana S. Kurinnaia, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Professor Vorsanova Laboratory of Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases, Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University; Senior Researcher at the Professor Yurov Laboratory of Molecular Genetics and Brain Cytogenetics, Mental Health Research Center, Moscow, Russia, E-mail: kurinnaiaos@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7087-3929>.

Kirill S. Vasin, Cand. Sci. (Medicine), Researcher at the Professor Yurov Laboratory of Molecular Genetics and Brain Cytogenetics, Mental Health Research Center; Researcher at the Professor Vorsanova Laboratory of Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases, Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia, E-mail: va-sinks@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2799-3706>.

Maria A. Zelenova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Professor Yurov Laboratory of Molecular Genetics and Brain Cytogenetics, Mental Health Research Center; Researcher at the Professor Vorsanova Laboratory of Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases, Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia, E-mail: maria_zelenova@yahoo.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7458-5396>.

Yuri B. Yurov, Doct. Sci. (Biology), Professor, Honored Scientist of Russia, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of the Laboratory of Cytogenetics and Genomics of Mental diseases (before 2017), Mental Health Research Center; Chief Researcher at the Laboratory of Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases (before 2017), Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia, E-mail: ivan.iourov@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4134-8367>.

Victoria Y. Voinova, Doct. Sci. (Medicine), Deputy Director for Translational Medicine and Leading Researcher of Department of Clinical Genetics, Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery,

Pirogov Russian National Research Medical University; Leading Researcher at the Professor Yurov Laboratory of Molecular Genetics and Brain Cytogenetics, Mental Health Research Center, Moscow, Russia, E-mail: vivoinova@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8491-0228>.

Svetlana G. Vorsanova, Doct. Sci. (Biology), Professor, Honored Scientist of Russia, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases, Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University; Chief Researcher at the Professor Yurov Laboratory of Molecular Genetics and Brain Cytogenomics (before 2021), Mental Health Research Center,

Moscow, Russia, E-mail: svorsanova@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4869-5361>.

Ivan Y. Iourov, Doct. Sci. (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Professor Yurov Laboratory of Molecular Genetics and Brain Cytogenetics, Mental Health Research Center; Head of the Professor Vorsanova Laboratory of Molecular Cytogenetics of Neuropsychiatric Diseases, Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University; Professor at the Department of Medical Genetics, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia, E-mail: ivan.iourov@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4134-8367>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-3

УДК 575.113.2

Анализ полиморфных вариантов генов рецепторов серотонина и гамма-аминомасляной кислоты у больных сахарным диабетом 2 типа

О.В. Кочетова^{1,2} , Д.Ш. Авзалетдинова² , Г.Ф. Корытина^{1,2} ,
Т.В. Викторова²

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук,
пр-т. Октября, д. 71, г. Уфа, 450054, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Башкирский государственный медицинский университет»,
ул. Ленина, д.3, г. Уфа, 450008, г. Уфа, Российская Федерация

Автор для переписки: О.В. Кочетова (Olga_mk78@mail.ru)

Резюме

Актуальность: СД2 одно из наиболее распространенных заболеваний 21 века. СД2 имеет многофакторную природу, в его этиологии ведущую роль играют такие факторы, как возраст и ожирение, а также генетическая предрасположенность, обусловленная полиморфизмом ряда генов. **Цель исследования:** Анализ полиморфных вариантов генов рецепторов серотонина *HTRD* rs674386, *HTR1F* rs56398417, *HTR2A* rs6313, *HTR3A* rs1062613, *HTR2C* rs6318, гена рецептора гамма-аминомасляной кислоты *GABRA2* rs279845, среди больных СД2, проживающих в РБ. **Материалы и методы:** Образцы ДНК включали группу больных СД2 691 человек и контроль 1096 человек. Исследование полиморфных маркеров проводили с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) TaqMan. **Результаты:** В результате изучения 6 полиморфных локусов генов нейротрансмиттерной системы были выявлены протективные маркеры, включающие генотипы СТ и СС полиморфного локуса rs1062613 гена *HTR3A* ($OR=0,73$, $P_{\text{cor_FDR}}=0,0007$) и генотипы риска GC и CC полиморфного локуса rs6318 гена *HTR2C* ($OR=2,21$, $P_{\text{cor_FDR}}=0,0045$) среди женщин, генотип СС является рисковым и среди мужчин ($OR=4,05$, $P_{\text{cor_FDR}}=0,0045$). Мультилокусный анализ комбинаций генотипов и аллелей выявил пять сочетаний повышенного и пониженного риска развития СД2. Наиболее значимая ассоциация была выявлена для комбинации *HTR3A* rs1062613 аллель С+*HTR2A* rs6313 аллель А+*HTRD* rs674386 аллель А+*HTR1F* rs55639841 генотип СС ($OR=1,74$, $P_{\text{cor_FDR}}=0,0004$). Проведенный анализ ROC кривых показал, что исследуемые локусы *HTRD* rs674386, *HTR1F* rs56398417, *HTR3A* rs1062613, *GABRA2* rs279845 и такие переменные как пол, возраст обследуемых и уровень ИМТ, включенные в построение модели расчета риска, могут предсказывать развитие СД2 с чувствительностью 79,0% и специфичностью 75,0%, площадь под кривой AUC составила 83,40% (95% CI 83,50-87,40). **Заключение:** Полученные результаты могут свидетельствовать о высоком уровне прогностической значимости полиморфных вариантов генов нейротрансмиттерной системы в оценке предрасположенности к риску СД2.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа; нейротрансмиттерная система; рецепторы серотонина; рецептор гамма-аминомасляной кислоты

Для цитирования: Кочетова ОВ, Авзалетдинова ДШ, Корытина ГФ, и др. Анализ полиморфных вариантов генов рецепторов серотонина и гамма-аминомасляной кислоты у больных сахарным диабетом 2 типа. Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3): 322-332. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-3

Analysis of polymorphic variants of serotonin and gamma-aminobutyric acid receptor genes in patients with type 2 diabetes mellitus

Olga V. Kochetova^{1,2} , Diana Sh. Avzaletdinova² , Gulnaz F. Korytina^{1,2} ,
Tatiana V. Viktorova² 

¹ Ufa Scientific Center, RAS,
71 Oktyabrya Ave., Ufa, 450054, Russia

² Bashkir State Medical University,
3 Lenin St., Ufa, 450008, Russia

Corresponding author: Olga V. Kochetova (Olga_mk78@mail.ru)

Abstract

Background: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is an expanding global health problem of the 21st century. There has been a global increase in the number of patients with T2DM. It has established a strong association of obesity and age with T2DM. **The aim of the study:** To analyze polymorphic variants of the serotonin receptor genes *HTRD* rs674386, *HTR1F* rs56398417, *HTR2A* rs6313, *HTR3A* rs1062613, *HTR2C* rs6318, the gamma-aminobutyric acid receptor gene *GABRA2* rs279845, in patients with type 2 diabetes living in the Republic of Bashkortostan. **Materials and methods:** DNA samples included a group of patients with T2DM – 691 individuals and control – 1096 individuals. The study of polymorphic markers was carried out using the polymerase chain reaction (PCR) TaqMan. **Results:** As a result of the study of 6 polymorphic loci of the genes of the neurotransmitter system, protective markers were identified, including the CT and CC genotypes of the rs1062613 polymorphic locus of the *HTR3A* gene (OR=0.73, P_{cor_FDR}=0.0007) and the GC and CC risk genotypes of the rs6318 polymorphic locus of the *HTR2C* gene (OR=2.21, P_{cor_FDR}=0.0045) among women, the CC genotype is also at risk among men (R=4.05, P_{cor_FDR}=0.0045). Multilocus analysis of combinations of genotypes and alleles revealed five combinations of increased and decreased risk of developing T2DM. The most significant association was found for the combination of *HTR3A* rs1062613 allele C + *HTR2A* rs6313 allele A + *HTRD* rs674386 allele A + *HTR1F* rs55639841 CC genotype (OR=1.74, P_{cor_FDR}=0.0004). The analysis of ROC curves showed that the studied loci *HTRD* rs674386, *HTR1F* rs56398417, *HTR3A* rs1062613, *GABRA2* rs279845 and variables such as gender, age of the subjects and the level of BMI included in the construction of the risk calculation model can predict the development of T2DM with a sensitivity of 79.0% and a specificity of 75.0%, the area under the AUC curve was 83.40% (95% CI 83.50-87.40). **Conclusion:** The results obtained may indicate a high level of prognostic significance of polymorphic variants of the genes of the neurotransmitter system in the formation of predisposition to T2DM.

Keywords: type 2 diabetes mellitus; neurotransmitter system; serotonin receptors; gamma-aminobutyric acid receptor

For citation: Kochetova OV, Avzaletdinova DSh, Korytina GF, et al. Analysis of polymorphic variants of serotonin and gamma-aminobutyric acid receptor genes in patients with type 2 diabetes mellitus. Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):322-332. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-3

Введение. Сахарный диабет 2 типа (СД2) является метаболическим заболеванием, характеризующимся повышенным содержанием глюкозы в крови, его развитие обусловлено формированием резистентности инсулину [1]. Распространенность СД2 увеличивается во всем мире, приводя к снижению качества жизни и преждевременной смерти [1]. Основываясь на концепции психобиосоциальной модели патогенеза СД2 и рассматривая образ жизни в качестве триггерного фактора формирования СД2, актуальным и целесообразным представляется изучение нейротрансмиттеров при развитии СД2. Одним из нейромедиаторов центральной нервной системы является серотонин (5-НТ), который принимает участие в регуляции сложного поведения, например, такого как агрессия и контроль аппетита [2]. Серотонин встречается в организме в двух разных пулах, один в центральной нервной системе и другой в периферических тканях. Примерно 90% всего 5-НТ, присутствующего в организме, вырабатывается клетками желудочно-кишечного тракта, выделяемый нейромедиатор принимает участие в контроле секреции инсулина [3]. Установлено, что измененные функции серотонина обуславливают дисфункцию β -клеток поджелудочной железы и в конечном итоге приводят к развитию СД2 [4]. Bennet H., 2015 установили, что повышенная экспрессия генов *HTR1D* и *HTR2A* в ткани β -клеток поджелудочной железы среди больных СД2 по сравнению со здоровым контролем [5]. Исследования связи СД2 и серотонинергической системы выявили ассоциацию полиморфных вариантов генов рецепторов серотонина *HTR2A*, *HTR2C* с риском развития СД2 типа у европеоидов [6, 7], полиморфные варианты гена *HTR3B* ассоциированы с СД2 типа у корейцев [8], полиморфизм гена *HTR2C* связан с СД2 у иранцев [9]. Полиморфные варианты гена *GABRA2*, кодирующий $\alpha 2$ субъединицу рецептора гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК- α),

были связаны с риском зависимости от алкоголя [10]. Также эти рецепторы, играют важную роль в регуляции секреции инсулина и высвобождения глюкагона в островковых клетках поджелудочной железы как у здоровых, так и у пациентов СД2 [11]. По результатам GWAS исследований среди жителей Арабских Эмиратов для генов ГАМК- α были определены маркеры риска развития СД2 [12]. Однако роль нейротрансмиттеров в патогенезе СД2 остается мало изученной. В этой связи анализ полиморфных вариантов генов нейротрансмиттерной системы представляет актуальную проблему.

Цель исследования. Анализ полиморфных вариантов генов рецепторов серотонина *HTRD* rs674386, *HTR1F* rs56398417, *HTR2A* rs6313, *HTR3A* rs1062613, *HTR2C* rs6318, гена рецептора гамма-аминомасляной кислоты *GABRA2* rs279845, среди больных СД2, проживающих в Республике Башкортостан (РБ).

Материалы и методы исследования. В работе были использованы образцы ДНК неродственных индивидов, татар по этнической принадлежности, проживающих на территории Республики Башкортостан. Группа больных СД2 включала 691 человек. Клинический диагноз СД2 определялся согласно диагностическим критериям Всемирной организации здравоохранения (1999-2013 гг.) и Алгоритмам специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом от 2021 г.: концентрация глюкозы в плазме венозной крови натощак более или равно 7,0 ммоль/л, либо концентрация глюкозы в плазме венозной крови через 2 часа после проведения ПГТТ более или равно 11,1 ммоль/л [1]. Группа пациентов была сформирована с учетом клинко-инструментального исследования на базе многопрофильного стационара Городская клиническая больница №21 г. Уфа. Контрольная группа включала 1096 практически здоровых индивидов. Характеристика групп пациентов и контроля представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика выборок, включенных в исследование

Table 1

Characteristics of the samples included in the study

Параметры	Контроль n = 1096	СД2 n = 691	P value
Возраст, лет, среднее $\pm$ Std,Dv	51,82 $\pm$ 9,70	58,08 $\pm$ 12,28	0,050
Мужчины, n (%)	263 (23,90)	158 (22,20)	0,483
Женщины, n (%)	833 (76,01)	555 (77,80)	
Индекс массы тела (ИМТ) (кг/м ²), среднее $\pm$ SD	26,72 $\pm$ 2,78	31,12 $\pm$ 5,82	< 0,0001
Ожирение, n (%)	-	612 (85,80)	-
Длительность СД2, медиана [Q1;Q3]	-	7,23 [2; 15]	-
Артериальная гипертензия, n (%)	-	602 (84,50)	-
Сердечно сосудистые заболевания, n (%)	-	256 (36,00)	-
HbA _{1c} (%), медиана [Q1;Q3]	4,90 [3,8; 5,90]	9,20 [7,10; 14,00]	< 0,0001
Глюкоза натощак (ммоль/л), медиана [Q1;Q3]	4,80 [3,20; 5,90]	8,36 [8,31; 15,00]	< 0,0001
Общий холестерин (ммоль/л), медиана [Q1;Q3]	4,50 [3,30; 6,12]	5,30 [3,20; 10,30]	0,0008
ЛПНП (ммоль/л), медиана [Q1;Q3]	2,70 [0,79; 3,99]	3,20 [1,60; 7,09]	< 0,005
ЛПВП (ммоль/л), медиана [Q1;Q3]	1,10 [0,87; 1,40]	1,10 [0,85; 1,30]	0,080
Триглицериды (ммоль/л), медиана [Q1;Q3]	1,32 [1,10; 2,07]	1,67 [1,15; 2,17]	0,029

Примечание: ЛПНП – липопротеины низкой плотности, ЛПВП – липопротеины высокой плотности, Std. dv. – стандартное отклонение

Note: ЛПНП – low density lipoproteins, ЛПВП – high density lipoproteins, Std. dv. – standard deviation

Исследование одобрено комитетом по этике ИБГ УФИЦ РАН. От всех участников исследования получали информированное добровольное согласие на использование биологического материала в планируемых исследованиях.

ДНК выделяли из венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Исследование полиморфных маркеров проводили с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) TaqMan (<https://oligos.ru>, ООО «ДНК-синтез», Россия) на приборе CFX Bio-Rad Laboratories Inc., USA. Флуоресценцию «по конечной точке» и дискриминацию генотипов определяли по протоколу BioRad CFX96TM, используя программу CFX ManagerTM Software.

Статистическая обработка. Оценку соответствия частота генотипов и аллелей равновесию Харди-Вайнберга проводили с помощью критерия χ^2 ($P_{\text{Х-В}}$). Анализ ассоциаций с развитием СД2 проводили с использованием программы PLINK v.1.9 [13]. Поправку на множественность сравнения

$P_{\text{cor_FDR}}$ оценивали с помощью он-лайн калькулятора

<https://www.sdmproject.com/utilities/?show=FDR>. Ассоциация считалась значимой при уровне $P_{\text{cor_FDR}}$ менее 0.05, а 95% доверительный интервал не пересекал единицу. Анализ ассоциаций рассчитанной для основной группы представлен в моделях: кодоминантной и аддитивной, а также в виде аллельного теста. Множественной логистический регрессионный анализ и ROQ-анализ проводился с использованием SPSS v.22. Анализ ген-генных ассоциаций с СД2 между аллелем и или/генотипом был рассчитан с помощью программы APSampler 3.6.0 (<http://apsampler.sourceforge.net>).

Результаты и обсуждения. Для проведения анализа ассоциаций первоначально был произведен расчет на соответствие распределения частот генотипов исследованных полиморфных локусов равновесию Харди-Вайнберга, с учетом частоты редкого аллеля (MAF) среди больных и здоровых испытуемых (Табл. 2).

Таблица 2

Описание исследуемых генов и равновесие Харди-Вайнберга

Table 2

Description of the studied genes and the Hardy-Weinberg equilibrium

Полиморфизм	Ген	Локализация	P X-B контроль	P X-B пациенты	MAF (European)	MAF
rs279845	GABRA2	chr 4:46327706	0,10	0,05	44,8	44,0
rs1062613	HTR3A	chr11:113975284	0,06	0,42	22,6	25,0
rs6318	HTR2C	chrX:114731326	0,52	0,26	16,2	8,0
rs6313	HTR2A	chr 13:46895805	0,11	0,39	42,0	48,0
rs674386	HTRD	chr1:23192984	0,28	0,79	22,1	27,0
rs56398417	HTR1F	chr3:87975836	0,42	0,01	28,8	17,0

Примечание: X-B уровень значимости при определении равновесия Харди-Вайнберга, MAF (European) частота минорного аллеля в популяция европеоидов (проект 1000 геномов), MAF – частота минорного аллеля в контрольной группе.

Note: X-B significance level in determining the Hardy-Weinberg equilibrium, MAF (European) minor allele frequency in the Caucasian population (1000 genomes project), MAF – minor allele frequency in the control group.

Локус гена *HTR2C* расположенного в X-хромосоме анализировали отдельно у женщин и мужчин. Анализ проводился в кодоминантной и аддитивной моделях, а также оценивался аллельный тест, данные представлены в таблице 3. Статистически значимые различия были получены для локуса rs1062613 гена *HTR3A* в кодоминантной модели для генотипов СТ и СС ($OR=0,71$ и $OR=0,59$, $P_{cor_FDR}=0,004$). В аддитивной модели показатель OR составил $0,73$, $P_{cor_FDR}=0,0007$. Для полиморфного локуса rs6318 гена *HTR2C* получены статистически значимые различия в группе женщин. В кодоминантной модели ассоциация с риском развития СД2 определена для генотипов GC и СС ($OR=2,37$ (95% CI 1,74-3,24), $P_{cor_FDR}=0,0045$, $OR=2,77$ (95% CI 0,93-8,25), $P_{cor_FDR}=0,0045$). Учитывая, что доверительный интервал во-втором случае пересек 1, наиболее статистически значимой моделью является аддитивная $OR=2,21$ (95% CI 1,66-2,94), $P_{cor_FDR}=0,0045$). Среди мужчин генотип СС также ассоциировал с риском развития СД2 ($OR=4,05$, $P_{cor_FDR}=0,0045$). Анализ локуса rs279845 гена *GABRA2* выявил тенденцию к увеличению частоты генотипа ТТ среди пациентов до 37,2% по сравнению с 31,0% в контроле ($OR=0,75$ и $OR=0,79$, $P_{cor_FDR}=0,046$), соответственно для проективных генотипов СТ и СС.

В результате проведения мультилокусного анализа ассоциаций определено

пять сочетаний генотипов и аллелей, показавших статистическую значимость с СД2. Аллель С локуса rs1062613 гена *HTR3A* входил в состав двух моделей повышенного риска СД2 и аллель Т входит в состав трех моделей пониженного риска. В трех моделях встречался локус rs674386 гена *HTRD*, в этом случае аллель А представлена в модели повышенного риска заболевания, аллель G определялся в составе моделей пониженного риска ($P_{cor_FDR}=0,007$ и ($P_{cor_FDR}=0,001$). При индивидуальном анализе ассоциация аллель G также чаще встречался среди здоровых. наиболее значимая ассоциация была выявлена для сочетания *HTR3A* rs1062613 аллель С + *HTR2A* rs6313 аллель А + *HTRD* rs674386 аллель А + *HTR1F* rs5639841 генотип СС ($OR=1,74$, $P_{cor_FDR}=0,0004$).

При анализе ROC кривых для оценки прогностической значимости выявленных рисков значений в развитии СД2 были построены две модели, для первой модели были учтены только полиморфные локусы: *HTRD* rs674386, *HTR1F* rs56398417, *HTR3A* rs1062613, *GABRA2* rs279845, во вторую модель были включены эти же локусы, а также такие переменные как пол, возраст обследуемых и ИМТ. Эффективность прогноза измеряли с использованием площади под кривой (AUC). ROC-анализ показал AUC равную 56.70% (95% CI 53,90-59,40) для модели, включающей только исследуемые полиморфные варианты.

Таблица 3 (начало)

Ассоциация исследованных полиморфных локусов генов рецепторов серотонина и *GABRA2*

Beginning of Table 3

Association of studied polymorphic loci of serotonin receptor genes and *GABRA2*

Ген, ОНП	Модель	Аллель, генотип	СД2 n / (%)	Контроль n / (%)	OR (95 CI)	P	P _{FDR}
<i>HTR1D</i> rs674386	Кодоминантная	GG/AG/AA	330 (47,80)/ 296 (42,90)/ 63 (9,10)	591 (53,90)/ 418 (38,10)/ 87 (7,90)	1,00/ 1,27 (1,04-1,56)/ 1,30 (0,91-1,84)	0,045	0,062
<i>HTR1D</i> rs674386	Аллельный тест	G/A	957 (69,00)/ 423 (31,00)	1600 (73,00)/ 592 (27,00)	1,19 (1,02-1,39)	0,019	0,046
<i>HTR1D</i> rs674386	Аддитивная	---	---	---	1,19 (1,03-1,38)	0,021	0,046
<i>HTR1F</i> rs56398417	Кодоминантная	CC/CT/TT	499 (72,30)/ 165 (23,90)/ 26 (3,80)	780 (71,20)/ 294 (26,80)/ 22 (2,00)	1,00/ 0,88 (0,70-1,09)/ 1,85 (1,04-3,30)	0,041	0,062
<i>HTR1F</i> rs56398417	Аллельный тест	C/T	1163 (84,00)/ 217 (16,00)	1854 (85,00)/ 338 (17,00)	1,02 (0,85-1,23)	0,843	0,932
<i>HTR1F</i> rs56398417	Аддитивная	---	---	---	1,02 (0,85-1,23)	0,812	0,932
<i>GABRA2</i> rs279845	Кодоминантная	TT/AT/AA	257 (37,20)/ 307 (44,40)/ 127 (18,40)	340 (31,00)/ 542 (49,50)/ 214 (19,50)	1,00/ 0,75 (0,60-0,93) / 0,79 (0,60-1,03)	0,023	0,046
<i>GABRA2</i> rs279845	Аллельный тест	T/A	821 (59,00)/ 561 (41,00)	1222 (56,00)/ 970 (44,00)	0,86 (0,75-0,98)	0,034	0,055
<i>GABRA2</i> rs279845	Аддитивная	---	---	---	0,86 (0,76-0,99)	0,034	0,055
<i>HTR3A</i> rs1062613	Кодоминантная	CC/CT/TT	440 (63,70)/ 227 (32,90)/ 24 (3,50)	604 (55,10)/ 435 (39,70)/ 57 (5,20)	1,00/ 0,71 (0,58-0,87)/ 0,59 (0,36-0,96)	0,0012	0,004
<i>HTR3A</i> rs1062613	Аллельный тест	C/T	1107 (80,00)/ 275 (20,00)	1643 (74,90)/ 549 (25,00)	0,74 (0,63-0,88)	0,0001	0,00045
<i>HTR3A</i> rs1062613	Аддитивная	---	---	---	0,73 (0,64-0,88)	0,0002	0,0007
<i>HTR2A</i> rs6313	Кодоминантная	CC/CA/AA	177 (25,60)/ 356 (51,60)/ 157 (22,80)	290 (26,50)/ 559 (51,00)/ 247 (22,50)	1,00 / 1,04 (0,83-1,31)/ 1,04 (0,79-1,37)	0,931	0,931
<i>HTR2A</i> rs6313	Аллельный тест	C/A	710 (51,00)/ 670 (49,00)	1139 (52,00)/ 1053 (48,00)	1,02 (0,89-1,17)	0,931	0,931
<i>HTR2A</i> rs6313	Аддитивная	---	---	---	1,02 (0,89-1,17)	0,761	0,931

Таблица 3 (окончание)

Ассоциация исследованных полиморфных локусов генов рецепторов серотонина и *GABBR2*

End of Table 3

Association of studied polymorphic loci of serotonin receptor genes and *GABBR2*

Ген, ОНП	Модель	Аллель, генотип	СД2 n / (%)	Контроль n / (%)	OR (95 CI)	P	P _{FDR}
<i>HTR2C</i> rs6318	Кодоминантная женщины	GG/GC/CC	554 (68,70)/ 235 (29,10)/ 18 (2,20)	341 (84,00)/ 61 (15,00)/ 4 (1,00)	1,00 2,37 (1,74-3,24)/ 2,77 (0,93-8,25)	0,0001	0,00045
<i>HTR2C</i> rs6318	Аллельный тест женщины	G/C	1343 (83,00)/ 271 (17,00)	743 (92,00)/ 69 (8,00)	2,17 (1,64-2,87)	0,0001	0,00045
<i>HTR2C</i> rs6318	Аддитивная женщины		---	---	2,21 (1,66-2,94)	0,0001	0,00045
<i>HTR2C</i> rs6318	Мужчины гемизиготы	G/C	114 (75,50)/ 37 (24,50)	237 (92,60)/ 19 (7,40)	1,00/ 4,05 (2,23-7,35)	0,0001	0,00045

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически значимые различия, ОНП – однонуклеотидный полиморфизм.

Note: Statistically significant differences are in bold, SNPs are single nucleotide polymorphisms.

Для второй модели AUC составила 83,40% (95% CI 83,50-87,40) с чувствительностью 79,0% и специфичностью 75,0%, что указывает на высокую способность показателей включенных в анализ правильно классифицировать индивидов с СД2 и здоровых.

Наибольшее количество ассоциаций продемонстрировал полиморфный вариант rs1062613 гена *HTR3A*. Данный полиморфизм расположен в 5'UTR области гена, установлено, что аллель С данного полиморфного локуса влияет на аффинность связывания фактора транскрипции CTCF с промоторной областью гена *HTR3A* [14]. По данным ряда авторов аллель С ассоциирован с низкой экспрессией гена *HTR3A* [15] и высоким уровнем метилирования [16]. Низкая экспрессия, в свою очередь, обуславливает снижение уровня серотонина в центральной нервной системе, приводит к изменению пищевого поведения и развитию гиперфагии, а впоследствии и ожирения, провоцирующего развитие СД2 [17]. Ассоциация с развитием СД2 была показана для локуса rs6318 гена *HTR2C*. Данный полиморфизм обусловлен заменой аминокислоты Cys на Ser в 23 положении. Показано, что белок, кодируемый аллелем Ser23 или С имеет пониженную аффинность к серотонину [18]. Рядом авторов установлена ассоциация данного локуса с риском развития депрессии [18], а также ожирения и СД2, что подтверждает наши данные [19-21]. Локус rs279845 гена *GABRA2* ассоциирован с алкоголизмом, носители аллеля Т в меньшей степени страдают алкоголизмом [22, 23].

Заключение. В данном исследовании мы провели оценку влияния полиморфных вариантов генов нейротрансмиттерной системы на риск развития СД2 с помощью анализа комбинаций генотипов и аллелей, а также анализа ROC кривых. Показано, что набор генетических вариантов (*HTRD* rs674386, *HTR1F* rs56398417, *HTR3A* rs1062613, *GABRA2* rs279845) и таких показателей как пол, возраст и значение ИМТ,

достоверно улучшает прогнозирование развития СД2 среди жителей РБ. Анализ комбинаций генотипов и аллелей выявил пять сочетаний повышенного и пониженного риска развития СД2. Тем не менее, необходимы дальнейшие масштабные исследования нейротрансмиттерной системы для подтверждения значимости генов рецепторов серотонина в развитии СД2.

Информация о финансировании

Исследование поддержано Российским научным фондом (№22-25-00010).

Financial support

The study was supported by the Russian Science Foundation (No22-25-00010).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Дедов ИИ, Шестакова МВ, Майоров АЮ, редакторы. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. 10-й выпуск. М.; 2021. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM12802>
2. Cataldo Bascuñan LR, Lyons C, Bennet H, et al. Serotonergic regulation of insulin secretion. *Acta Physiologica*. 2019;225(1):e13101. DOI: <https://doi.org/10.1111/apha.13101>
3. Choi WG, Choi W, Oh TJ, et al. Inhibiting serotonin signaling through HTR2B in visceral adipose tissue improves obesity-related insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*. 2021;131(23):e145331. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI145331>
4. Georgescu T, Lyons D, Heisler LK. Role of serotonin in body weight, insulin secretion and glycaemic control. *Journal of Neuroendocrinology*. 2021;33(4):e12960. DOI: <https://doi.org/10.1111/jne.12960>
5. Bennet H, Balhuizen A, Medina A, et al. Altered serotonin (5-HT) 1D and 2A receptor expression may contribute to defective insulin and glucagon secretion in human type 2 diabetes. *Peptides*. 2015;71:113-120. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.07.008>

6. Kring SI, Werge T, Holst C, et al. Polymorphisms of serotonin receptor 2A and 2C genes and COMT in relation to obesity and type 2 diabetes. *PLoS ONE*. 2009;4(8):e6696. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006696>
7. Iordanidou M, Tavridou A, Vasiliadis MV, et al. The-759C/T polymorphism of the 5-HT2C receptor is associated with type 2 diabetes in male and female Caucasians. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2008;18(2):153-159. DOI: <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3282f4ae93>
8. Kwon YJ, Hong KW, Park BJ, et al. Serotonin receptor 3B polymorphisms are associated with type 2 diabetes: The Korean Genome and Epidemiology Study. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2019;153:76-85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.05.032>
9. Asadzadeh A, Seyedhosseini GH, Sholehvar F, et al. Investigation of the Association between 5-Hydroxytryptamine Transporter Gene-Linked Polymorphic Region with Type 2 Diabetes Mellitus, Obesity and Biochemical Profiles of Serum in Iranian Population. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*. 2019;11(3):239-244.
10. Gajos JM, Russell MA, Cleveland HH, et al. Romantic Partner Alcohol Misuse Interacts with GABRA2 Genotype to Predict Frequency of Drunkenness in Young Adulthood. *Journal of Contemporary Criminal Justice*. 2019;35(1):7-20. DOI: <https://doi.org/10.1177/1043986218810578>
11. Al-Kuraishy HM, Hussian NR, Al-Naimi MS, et al. The Potential Role of Pancreatic γ -Aminobutyric Acid (GABA) in Diabetes Mellitus: A Critical Reappraisal. *International Journal of Preventive Medicine*. 2021;12:19. DOI: https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_278_19
12. Al Safar HS, Cordell HJ, Jafer O, et al. A genome-wide search for type 2 diabetes susceptibility genes in an extended Arab family. *Annals of Human Genetics*. 2013;77(6):488-503. DOI: <https://doi.org/10.1111/ahg.12036>
13. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*. 2007;81(3):559-75. DOI: <https://doi.org/10.1086/519795>
14. Jahn K, Kurz B, Sinke C, et al. Serotonin system-associated genetic and epigenetic changes in pedophilia and child sexual offending. *Journal of Psychiatric Research*. 2021;145:60-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2021.11.042>
15. Suchanecka A, Chmielowiec J, Chmielowiec K, et al. Serotonin Receptor HTR3A Gene Polymorphisms rs1985242 and rs1062613, E-Cigarette Use and Personality. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(8):4746. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph19084746>
16. Ledermann K, Hasler G, Jenewein J, et al. 5'UTR polymorphism in the serotonergic receptor HTR3A gene is differently associated with striatal Dopamine D2/D3 receptor availability in the right putamen in Fibromyalgia patients and healthy controls-Preliminary evidence. *Synapse*. 2020;74(5):e22147. DOI: <https://doi.org/10.1002/syn.22147>
17. Manfredi L, Accoto A, Couyoumdjian A, et al. A Systematic Review of Genetic Polymorphisms Associated with Binge Eating Disorder. *Nutrients*. 2021;13(3):848. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13030848>
18. Levchenko A, Vyalova NM, Nurgaliev T, et al. NRG1, PIP4K2A, and HTR2C as Potential Candidate Biomarker Genes for Several Clinical Subphenotypes of Depression and Bipolar Disorder. *Frontiers in Genetics*. 2020;11:936. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00936>
19. Drago A, Serretti A. Focus on HTR2C: A possible suggestion for genetic studies of complex disorders. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2009;150(5):601-637. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30864>
20. Bah J, Westberg L, Baghaei F, et al. Further exploration of the possible influence of polymorphisms in HTR2C and 5HTT on body weight. *Metabolism*. 2010;59(8):1156-1163. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2009.11.007>
21. Santos-Júnior AD, Henriques TB, de Mello MP, et al. Pharmacogenetics of Risperidone and Cardiovascular Risk in Children and Adolescents. *International Journal of Endocrinology*. 2016;2016:5872423. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/5872423>
22. Schlomer GL, Cleveland HH, Deutsch AR, et al. Developmental Change in Adolescent Delinquency: Modeling Time-Varying Effects of a Preventative Intervention and GABRA2 Haplotype Linked to Alcohol Use. *Journal of Youth and Adolescence*. 2019;48(1):71-85. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10964-018-0929-z>
23. Kim J, Park A. A systematic review: Candidate gene and environment interaction on alcohol use and misuse among adolescents and young adults. *American Journal on Addictions*. 2018;10:10.1111/ajad.12755. DOI: <https://doi.org/10.1111/ajad.12755>

References

1. Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY., editors. Standards of specialized diabetes care. 10th edition. Moscow; 2021. Russian. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM12802>
2. Cataldo Bascuñan LR, Lyons C, Bennet H, et al. Serotonergic regulation of insulin secretion. *Acta Physiologica*. 2019;225(1):e13101. DOI: <https://doi.org/10.1111/apha.13101>
3. Choi WG, Choi W, Oh TJ, et al. Inhibiting serotonin signaling through HTR2B in visceral adipose tissue improves obesity-related insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*. 2021;131(23):e145331. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI145331>
4. Georgescu T, Lyons D, Heisler LK. Role of serotonin in body weight, insulin secretion and glycaemic control. *Journal of Neuroendocrinology*. 2021;33(4):e12960. DOI: <https://doi.org/10.1111/jne.12960>
5. Bennet H, Balhuizen A, Medina A, et al. Altered serotonin (5-HT) 1D and 2A receptor expression may contribute to defective insulin and glucagon secretion in human type 2 diabetes. *Peptides*. 2015;71:113-120. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.07.008>
6. Kring SI, Werge T, Holst C, et al. Polymorphisms of serotonin receptor 2A and 2C genes and COMT in relation to obesity and type 2 diabetes. *PLoS ONE*. 2009;4(8):e6696. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006696>
7. Iordanidou M, Tavridou A, Vasiliadis MV, et al. The-759C/T polymorphism of the 5-HT2C receptor is associated with type 2 diabetes in male and female Caucasians. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2008;18(2):153-159. DOI: <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3282f4ae93>
8. Kwon YJ, Hong KW, Park BJ, et al. Serotonin receptor 3B polymorphisms are associated with type 2 diabetes: The Korean Genome and Epidemiology Study. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2019;153:76-85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.05.032>
9. Asadzadeh A, Seyedhosseini GH, Sholehvar F, et al. Investigation of the Association between 5-Hydroxytryptamine Transporter Gene-Linked Polymorphic Region with Type 2 Diabetes Mellitus, Obesity and Biochemical Profiles of Serum in Iranian Population. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*. 2019;11(3):239-244.
10. Gajos JM, Russell MA, Cleveland HH, et al. Romantic Partner Alcohol Misuse Interacts with GABRA2 Genotype to Predict Frequency of Drunkenness in Young Adulthood. *Journal of Contemporary Criminal Justice*. 2019;35(1):7-20. DOI: <https://doi.org/10.1177/1043986218810578>
11. Al-Kuraishy HM, Hussian NR, Al-Naimi MS, et al. The Potential Role of Pancreatic γ -Aminobutyric Acid (GABA) in Diabetes Mellitus: A Critical Reappraisal. *International Journal of Preventive Medicine*. 2021;12:19. DOI: https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_278_19
12. Al Safar HS, Cordell HJ, Jafer O, et al. A genome-wide search for type 2 diabetes susceptibility genes in an extended Arab family. *Annals of Human Genetics*. 2013;77(6):488-503. DOI: <https://doi.org/10.1111/ahg.12036>
13. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*. 2007;81(3):559-75. DOI: <https://doi.org/10.1086/519795>
14. Jahn K, Kurz B, Sinke C, et al. Serotonin system-associated genetic and epigenetic changes in pedophilia and child sexual offending. *Journal of Psychiatric Research*. 2021;145:60-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2021.11.042>
15. Suchanecka A, Chmielowiec J, Chmielowiec K, et al. Serotonin Receptor HTR3A Gene Polymorphisms rs1985242 and rs1062613, E-Cigarette Use and Personality. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(8):4746. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph19084746>
16. Ledermann K, Hasler G, Jenewein J, et al. 5'UTR polymorphism in the serotonergic receptor HTR3A gene is differently associated with striatal Dopamine D2/D3 receptor availability in the right putamen in Fibromyalgia patients and healthy controls-Preliminary evidence. *Synapse*. 2020;74(5):e22147. DOI: <https://doi.org/10.1002/syn.22147>
17. Manfredi L, Accoto A, Couyoumdjian A, et al. A Systematic Review of Genetic Polymorphisms Associated with Binge Eating Disorder. *Nutrients*. 2021;13(3):848. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13030848>
18. Levchenko A, Vyalova NM, Nurgaliev T, et al. NRG1, PIP4K2A, and HTR2C as Potential Candidate Biomarker Genes for Several Clinical Subphenotypes of Depression and Bipolar Disorder. *Frontiers in Genetics*. 2020;11:936. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00936>
19. Drago A, Serretti A. Focus on HTR2C: A possible suggestion for genetic studies of complex disorders. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*.

2009;150(5):601-637. DOI:
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30864>

20. Bah J, Westberg L, Baghaei F, et al. Further exploration of the possible influence of polymorphisms in HTR2C and 5HTT on body weight. *Metabolism*. 2010;59(8):1156-1163. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2009.11.007>

21. Santos-Júnior AD, Henriques TB, de Mello MP, et al. Pharmacogenetics of Risperidone and Cardiovascular Risk in Children and Adolescents. *International Journal of Endocrinology*. 2016;2016:5872423. DOI:
<https://doi.org/10.1155/2016/5872423>

22. Schlomer GL, Cleveland HH, Deutsch AR, et al. Developmental Change in Adolescent Delinquency: Modeling Time-Varying Effects of a Preventative Intervention and GABRA2 Haplotype Linked to Alcohol Use. *Journal of Youth and Adolescence*. 2019;48(1):71-85. DOI:
<https://doi.org/10.1007/s10964-018-0929-z>

23. Kim J, Park A. A systematic review: Candidate gene and environment interaction on alcohol use and misuse among adolescents and young adults. *American Journal on Addictions*. 2018;10:10.1111/ajad.12755. DOI:
<https://doi.org/10.1111/ajad.12755>

Статья поступила в редакцию 1 сентября 2022 г.
Поступила после доработки 28 октября 2022 г.
Принята к печати 24 декабря 2022 г.

Received 1 September 2022

Revised 28 October 2022

Accepted 24 December 2022

Информация об авторах

Ольга Владимировна Кочетова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологической генетики Института биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук; доцент кафедры биологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: Olga_mk78@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2071-0969>.

Диана Шамилевна Авзалетдинова, кандидат медицинских наук, доцент кафедры эндокринологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный

медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: ecolab_203@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1590-6433>.

Гульназ Фаритовна Корытина, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник лаборатории физиологической генетики Института биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук; профессор кафедры биологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: guly_kory@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1695-5173>.

Татьяна Викторовна Викторова, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: t_vict@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8900-2480>.

Information about the authors

Olga V. Kochetova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Laboratory of Physiological Genetics, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS; Associate Professor at the Department of Biology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: Olga_mk78@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2071-0969>.

Diana Sh. Avsaleydinova, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Endocrinology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: ecolab_203@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1590-6433>.

Gulnas F. Korytina, Doct. Sci. (Biology), Associate Professor, Chief Researcher at the Laboratory of Physiological Genetics, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS; Professor at the Department of Biology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: guly_kory@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1695-5173>.

Tatiana V. Viktorova, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Biology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: t_vict@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8900-2480>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-4

УДК 616.342

Ассоциации полиморфных вариантов генов-кандидатов с развитием *H. pylori*-негативной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у жителей Центрального Черноземья России

О.В. Рашина 

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация
Автор для переписки: О.В Рашина (helga-witch@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: Язвенная болезнь (ЯБ) – это хроническое рецидивирующее заболевание, протекающее с чередованием периодов обострения и ремиссии, ведущим проявлением которого служит образование дефекта (язвы) в стенке желудка и двенадцатиперстной кишки. Наследственная предрасположенность является одним из этиопатогенетических факторов развития ЯБ, следовательно, требуется изучение генетических детерминант заболевания. **Цель исследования:** Изучить роль специально отобранных для исследования 9 полиморфных вариантов генов-кандидатов *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК (GWAS-значимые для ЯБ: rs2294008 *PSCA*, rs505922 *ABO*; гены молекул клеточной адгезии, патогенетически значимые для развития *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК: rs6136 *SELP*; rs8176720, rs2519093, rs507666 *ABO*; rs651007, rs579459, rs649129 *ABO/RF00019*) в развитии *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК у жителей Центрального Черноземья России. **Материалы и методы:** Объем выборки: 78 больных *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК, 347 лиц контрольной группы. Регуляторный потенциал выбранных для исследования локусов оценивался с помощью интернет-ресурсов HaploReg v4.1, PolyPhen-2 и GTEch Portal. Анализ ассоциаций проводился методом логистической регрессии в рамках аллельной, аддитивной, доминантной и рецессивной генетических моделей. **Результаты:** Аллель С гена *SELP* (rs6136) (аллельная модель: OR=1,88; 95%CI 1,13-3,13; $p_{perm}=0,024$; аддитивная модель: OR=1,77; 95%CI 1,06-2,96; $p_{perm}=0,023$; доминантная модель: OR=1,93; 95%CI 1,06-3,53; $p_{perm}=0,043$) и аллель С гена *PSCA* (rs2294008) (рецессивная модель: OR=2,34; 95%CI 1,34-4,08; $p_{perm}=0,003$) ассоциированы с повышенным риском развития *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК. Полиморфный вариант rs6136 *SELP* и 1 сильно сцепленный ($r^2 \geq 0,8$) с ним SNP влияют на экспрессию гена *F5* и альтернативный сплайсинг гена *BLZF1*. Полиморфизм rs2294008 *PSCA* и 48 сильно сцепленных ($r^2 \geq 0,8$) с ним локусов оказывают действие на экспрессию 11 генов (*ARC*, *CTD-2292P10.4*, *JRK*, *LY6D*, *LY6K*, *LYNX1*, *LYPD2*, *PSCA*, *RP11-706C16.7*, *SLURP1*, *THEM6*) и альтернативный сплайсинг 4 генов (*JRK*, *LY6D*, *LYNX1*, *THEM6*). Указанные гены играют роль в ключевых этиопатогенетических процессах при язвенной болезни: рост и деление клеток, посттрансляционная модификация гликозилфосфатидилинозитол-заякоренных

белков, клеточная адгезия, реакции иммунной системы, активность никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, гемостаз. **Заключение:** Аллель С гена *SELP* (rs6136) и аллель С гена *PSCA* (rs2294008) ассоциированы с повышенным риском развития *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК.

Ключевые слова: язвенная болезнь; двенадцатиперстная кишка; гены; полиморфные варианты; *SELP*; *PSCA*

Для цитирования: Рашина ОВ. Ассоциации полиморфных вариантов генов-кандидатов с развитием *H. pylori*-негативной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у жителей Центрального Черноземья России. Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3):333-346. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-4

Associations of polymorphic variants of candidate genes with the development of *H. pylori*-negative duodenal ulcer in residents of the Central Chernozem region of Russia

Olga V. Rashina 

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

Corresponding author: Olga V. Rashina (helga-witch@yandex.ru)

Abstract

Background: Peptic ulcer disease (PUD) is a chronic recurrent disease that occurs with alternating periods of exacerbation and remission, the leading manifestation of which is the formation of a defect (ulcer) in the wall of the stomach and duodenum. Hereditary predisposition is one of the etiopathogenetic factors of the development of PUD, therefore, it is necessary to study the genetic determinants of the disease. **The aim of the study:** To study the role of 9 polymorphic variants of candidate genes for *H. pylori*-negative duodenal ulcer (DU) specially selected for the study (GWAS-significant for PUD: rs2294008 *PSCA*, rs505922 *ABO*; genes of cell adhesion molecules pathogenetically significant for the development of *H. pylori*-negative DU: rs6136 *SELP*; rs8176720, rs2519093, rs507666 *ABO*; rs651007, rs579459, rs649129 *ABO/RF00019*) in the development of *H. pylori*-the negative DU in residents of the Central Chernozem region of Russia. **Materials and methods:** Sample size: 78 patients with *H. pylori*-negative DU, 347 persons of the control group. The regulatory potential of the loci selected for the study was evaluated using the Internet resources HaploReg v4.1, PolyPhen-2 and GTEx Portal. The analysis of associations was carried out by the method of logistic regression (allelic, additive, dominant and recessive genetic models). **Results:** Allele C of the *SELP* gene (rs6136) (allelic model: OR=1.88; 95%CI 1.13-3.13; Pperm=0.024; additive model: OR=1.77; 95%CI 1.06-2.96; Pperm=0.023; dominant model: OR=1.93; 95%CI 1.06-3.53; Pperm=0.043) and allele C of the *PSCA* gene (rs2294008) (recessive model: OR=2.34; 95%CI 1.34-4.08; Pperm=0.003) are associated with an increased risk of *H. pylori*-negative DU. The polymorphic variant rs6136 *SELP* and 1 proxy ($r^2 \geq 0.8$) SNP with it affect the expression of the *F5* gene and alternative splicing of the *BLZF1* gene. The rs2294008 *PSCA* polymorphism and 48 proxy ($r^2 \geq 0.8$) loci with it have an effect on the expression of 11 genes (*ARC*, *CTD-2292P10.4*, *JRK*, *LY6D*, *LY6K*, *LYNX1*, *LYPD2*, *PSCA*, *RP11-706C16.7*, *SLURP1*, *THEM6*) and alternative splicing of 4 genes (*JRK*, *LY6D*, *LYNX1*, *THEM6*). These genes play

a role in key etiopathogenetic processes in peptic ulcer disease: cell growth and division, posttranslational modification of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins, cell adhesion, immune system reactions, activity of nicotine acetylcholine receptors, hemostasis. **Conclusion:** Allele C of the *SELP* gene (rs6136) and C of the *PSCA* gene (rs2294008) are associated with an increased risk of developing *H. pylori*-negative DU.

Keywords: peptic ulcer; duodenum; genes; polymorphic variants; *SELP*; *PSCA*

For citation: Rashina OV. Associations of polymorphic variants of candidate genes with the development of *H. pylori*-negative duodenal ulcer in residents of the Central Chernozem region of Russia. Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):333-346. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-4

Введение. Язвенная болезнь (ЯБ) – это хроническое рецидивирующее заболевание, протекающее с чередованием периодов обострения и ремиссии, ведущим проявлением которого служит образование дефекта (язвы) в стенке желудка и двенадцатиперстной кишки [1]. Поражение двенадцатиперстной кишки (ДПК) характерно для лиц 30-55 лет [2], и регистрируется в 4 раза чаще, чем поражение желудка [1].

Согласно современным представлениям, образование язвенного дефекта происходит при нарушении равновесия между защитными факторами (бикарбонаты, простагландины, слизистый барьер, адекватное кровообращение слизистой оболочки) и агрессивными (инфекция *H. pylori*, кислотно-пептический фактор, прием НПВС) с перевесом последних [3-6]. Наряду с курением, употреблением алкоголя, несоблюдением режима и структуры питания, нарушением нервно-гуморальной регуляции, вклад в повышение активности кислотно-пептического фактора вносят наследственные факторы, в т.ч. за счет гиперплазии париетальных и увеличения количества гастрин-продуцирующих клеток [6]. Таким образом, изучение генетических детерминант ЯБ ДПК представляется весьма интересным.

В настоящее время в литературе имеется информация только о двух GWAS-исследованиях ЯБ [7, 8]. В них приводятся значимые ассоциации 10 локусов 8 генов: *PSCA* (rs2294008, rs2976388), *ABO* (rs505922, rs687621), *MUC6* (rs78459074), *FUT2* (rs681343), *CCKBR* (rs10500661), *MUC1* (rs147048677), *GAST* (rs34074411), *CDX2* (rs9581957) с развитием патологии. Из этих локусов для rs2294008 и rs505922 проведены репликативные исследования

[9, 10, 11], причем с ЯБ ДПК значимо ассоциирован лишь полиморфизм rs2294008 [10, 11]. Изучение ассоциаций различных генов с развитием ЯБ ДПК разрозненны, неоднозначны и нередко противоречивы [12-17].

Для изучения ассоциаций с развитием ЯБ ДПК представляют интерес гены молекул клеточной адгезии в связи с их ролью в развитии хронического воспалительного процесса [18]. Согласно GWAS-исследованиям, обнаружена связь более 20-ти SNPs с уровнем молекул клеточной адгезии в плазме крови, причем в большинстве работ показана значимая роль полиморфизма гена *ABO* (rs579459, rs8176719, rs651007, rs176746, rs2519093, rs649129, rs507666) [19-29]. А учитывая ассоциации полиморфных локусов гена *ABO* (rs505922 и rs687621) с риском развития ЯБ по данным полногеномных исследований [7, 8], можно предположить наличие связи между полиморфными вариантами, детерминирующими уровень молекул клеточной адгезии и, в том числе, расположенными в регионе гена *ABO*, с риском развития ЯБ. Данное предположение нуждается в подтверждении в генетико-эпидемиологических исследованиях ЯБ. Также необходимо проведение репликативных исследований GWAS-значимых для ЯБ полиморфных локусов в различных популяциях России, так как до настоящего времени эти исследования не проводились.

Цель исследования. Изучить ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов-кандидатов (rs2294008 *PSCA*, rs505922 *ABO*, rs6136 *ABO*, rs8176720 *ABO*, rs2519093 *ABO*, rs507666 *ABO*, rs651007 *RF00019/ABO*, rs579459 *RF00019/ABO*,

rs649129 RF00019/ABO) с развитием *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК.

Материалы и методы исследования. Формирование выборки проводилось на базе гастроэнтерологического отделения ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа» после подписания каждым участником добровольного информированного согласия на включение его в исследование. Все обследуемые лица - коренные жители Центрального Черноземья РФ русской национальности, между которыми отсутствует родство. Группа больных *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК составила 29 женщин и 49 мужчин (всего 78 человека). Контрольная группа: 230 женщин и 117 мужчин (всего 347 человек). В обеих группах средний возраст участников исследования составил 48 лет. Каждому из них проведено клиническое, лабораторное и инструментальное обследование (эзофагогастродуоденоскопия с биопсией), выделение ДНК из периферической крови. Все отобранные 9 полиморфных вариантов генов-кандидатов имеют выраженный регуляторный потенциал по данным онлайн-баз данных Harporeg v4.1, GTEch Portal и PolyPhen-2 и являются GWAS-значимыми: ассоциированные с ЯБ rs2294008, rs505922 [7], ассоциированные с уровнем молекул клеточной адгезии в слюворотке крови (rs6136, rs8176720, rs2519093, rs507666, rs651007, rs579459, rs649129) [20-29]. Генотипирование на термощиклере CFX-96 (Bio-Rad) проведено методом полимеразной цепной реакции, наборы реагентов, подготовлены ООО «ТестГен» (г. Ульяновск) [30]. Проведено популяционно-генетическое исследование полиморфных вариантов генов-кандидатов ЯБ, определено соответствие эмпирического распределения генотипов теоретически ожидаемому согласно закону Харди-Вайнберга, рассчитаны частоты минорных аллелей по каждому из рассматриваемых локусов. Анализ ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов-кандидатов *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК осуществлен с помощью метода логистической регрессии в рамках 4х генетических

моделей (аллельной, аддитивной, доминантной и рецессивной) с учетом коррекции на ковариаты (пол, возраст, индекс массы тела) (программа gPLINK v2.050 <http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>). Характер ассоциаций оценивался с помощью отношения шансов (OR – odds ratio) и его 95% доверительного интервала (95%CI). При $OR > 1$ ОНП определялся как фактор риска развития *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК, при $OR < 1$ – как фактор защиты. Также был проведен адаптивный пермутационный тест. Достоверными считались результаты при $p_{perm} < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При оценке соответствия эмпирического распределения генотипов теоретически ожидаемому у больных *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК наблюдается отклонение от равновесия Харди-Вайнберга для полиморфных локусов rs2294008 гена *PSCA* и rs507666 гена *ABO* ($p_{hwe} = 0,014$, $p_{hwe} = 0,041$ соответственно), однако при введении поправки Бонферрони на количество анализируемых локусов ($n=9$, $p_{bonf} < 0,05/9 < 0,006$), распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому как в группе больных *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК, так и в контрольной группе; частота минорных аллелей по всем изучаемым полиморфным вариантам была больше 5% (Табл. 1).

Изучение ассоциаций аллелей полиморфных локусов генов-кандидатов с развитием заболевания показало значимую роль аллеля С гена *SELP* (rs6136) ($OR = 1,88$; 95%CI 1,13-3,13; $p = 0,014$; $p_{perm} = 0,024$; $N_{perm} = 797$) (Табл. 2).

При рассмотрении трех генетических моделей обнаружена ассоциация аллеля С гена *PSCA* (rs2294008) (рецессивная модель: $OR = 2,34$; 95%CI 1,34-4,08; $p = 0,003$; $p_{perm} = 0,003$; $N_{perm} = 6608$) и аллеля С гена *SELP* (rs6136) (аддитивная модель: $OR = 1,77$; 95%CI 1,06-2,96; $p = 0,030$; $p_{perm} = 0,023$; $N_{perm} = 820$; доминантная модель: $OR = 1,93$; 95%CI 1,06-3,53; $p = 0,032$; $p_{perm} = 0,043$; $N_{perm} = 437$) с повышенным риском развития *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК (Табл. 3).

Таблица 1

Распределение однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов-кандидатов у больных *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК и лиц контр. группы

Table 1

Distribution of single-nucleotide polymorphisms (SNP) of candidate genes in patients with *H. pylori*-negative DU and control group individuals

ОНП	Аллели		Количество			Гетерозиготность		P _{hwe}
	Минор-ный	Частый	Гомозиготы (мин. аллель)	Гетерозиготы	Гомозиготы (частый аллель)	Наблюдаемая	Ожидаемая	
Больные <i>H. pylori</i> -негативной ЯБ ДПК								
rs6136 гена <i>SELP</i>	C	A	3	18	57	0,231	0,260	0,372
rs2294008 гена <i>PSCA</i>	C	T	28	28	22	0,359	0,497	0,014
rs8176720 гена <i>ABO</i>	C	T	10	31	35	0,408	0,446	0,448
rs2519093 гена <i>ABO</i>	T	C	4	20	54	0,256	0,295	0,251
rs505922 гена <i>ABO</i>	C	T	9	37	29	0,493	0,464	0,803
rs507666 гена <i>ABO</i>	T	C	2	7	66	0,093	0,136	0,041
rs651007 гена <i>ABO/RF00019</i>	T	C	3	26	47	0,342	0,332	1,000
rs579459 гена <i>ABO/RF00019</i>	C	T	4	27	45	0,355	0,355	1,000
rs649129 гена <i>ABO/RF00019</i>	T	C	4	27	47	0,346	0,348	1,000
Контрольная группа								
rs6136 гена <i>SELP</i>	C	A	2	19	95	0,164	0,179	0,301
rs2294008 гена <i>PSCA</i>	T	C	31	66	20	0,564	0,496	0,191
rs8176720 гена <i>ABO</i>	C	T	13	60	41	0,526	0,470	0,237
rs2519093 гена <i>ABO</i>	T	C	5	31	79	0,270	0,293	0,351
rs505922 гена <i>ABO</i>	C	T	10	54	46	0,491	0,446	0,393
rs507666 гена <i>ABO</i>	T	C	1	5	106	0,045	0,061	0,092
rs651007 гена <i>ABO/RF00019</i>	T	C	6	35	74	0,304	0,325	0,564
rs579459 гена <i>ABO/RF00019</i>	C	T	5	39	71	0,339	0,335	1,000
rs649129 гена <i>ABO/RF00019</i>	T	C	5	38	71	0,333	0,332	1,000

Таблица 2

Ассоциации аллелей полиморфных вариантов генов-кандидатов с *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК

Table 2

Associations of alleles of polymorphic variants of candidate genes with *H. pylori*-negative DU

Номер хро- мосомы	ОНП	Ген	Мин. аллель	Частота мин. аллеля		OR (95% CI)	p
				Больные <i>H. pylori</i> -негативной ЯБ ДПК	Контр. группа		
1	rs6136	SELP	C	0,154	0,088	1,88 (1,13-3,13)	0,014
8	rs2294008	PSCA	C	0,539	0,470	1,32 (0,93-1,87)	0,121
9	rs8176720	ABO	C	0,336	0,376	0,84 (0,58-1,22)	0,353
9	rs2519093	ABO	T	0,180	0,195	0,90 (0,57-1,41)	0,650
9	rs505922	ABO	C	0,367	0,385	0,93 (0,64-1,34)	0,681
9	rs507666	ABO	T	0,073	0,054	1,39 (0,69-2,79)	0,360
9	rs651007	ABO/RF00019	T	0,511	0,226	0,91 (0,60-1,40)	0,682
9	rs579459	ABO/RF00019	C	0,230	0,224	1,04 (0,68-1,58)	0,86
9	rs649129	ABO/RF00019	T	0,224	0,227	0,98 (0,65-1,49)	0,935

Примечание: OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал; p – уровень значимости. Статистически значимые результаты выделены жирным шрифтом
Note: OR – odds ratio; 95% CI – 95% confidence interval; p – significance level. Statistically significant results are highlighted in bold

Таблица 3

Ассоциации аллелей полиморфных вариантов генов-кандидатов с *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК

Table 3

Associations of alleles of polymorphic variants of candidate genes with *H. pylori*-negative DU

ОНП	Мин. аллель	N	Аддитив. модель			Домин. модель			Рецессив. модель		
			OR	95%CI	p	OR	95%CI	p	OR	95%CI	p
rs6136 гена <i>SELP</i>	C	424	1,77	1,06-2,96	0,030	1,93	1,06-3,53	0,032	2,38	0,49-11,47	0,279
rs2294008 гена <i>PSCA</i>	C	425	1,39	0,97-1,99	0,076	0,98	0,55-1,74	0,952	2,34	1,34-4,08	0,003
rs8176720 гена <i>ABO</i>	C	414	0,82	0,55-1,23	0,338	0,65	0,39-1,10	0,110	1,20	0,55-2,60	0,643
rs2519093 гена <i>ABO</i>	T	421	0,99	0,63-1,56	0,966	0,95	0,55-1,65	0,854	1,19	0,37-3,84	0,769
rs505922 гена <i>ABO</i>	C	409	1,03	0,69-1,53	0,894	1,03	0,60-1,77	0,913	1,04	0,47-2,31	0,915
rs507666 гена <i>ABO</i>	T	408	1,80	0,90-3,60	0,098	1,80	0,78-4,14	0,168	4,82	0,62-37,65	0,133
rs651007 гена <i>ABO/RF00019</i>	T	417	0,98	0,64-1,52	0,942	1,06	0,62-1,80	0,835	0,67	0,19-2,37	0,529
rs579459 гена <i>ABO/RF00019</i>	C	416	0,28	0,16-0,48	0,279	1,13	0,67-1,92	0,643	1,19	0,37-3,80	0,767
rs649129 гена <i>ABO/RF00019</i>	T	421	1,05	0,69-1,61	0,822	1,09	0,65-1,84	0,747	0,94	0,30-2,94	0,921

Примечание: Результаты получены с учетом коррекции на ковариаты; OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал; p – уровень статистической значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые результаты с учетом адаптивного пермутационного теста

Note: The results were obtained taking into account the correction for covariates; OR – odds ratio; 95% CI – 95% confidence interval; p – the level of statistical significance. Statistically significant results are highlighted in bold, taking into account the adaptive permutation test

Наши данные согласуются с полногеномными исследованиями ЯБ ДПК [7]: реплицирован локус rs2294008 *PSCA* среди жителей Центрального Черноземья России, показана роль GWAS-значимого полиморфизма rs6136 *SELP*, ассоциированного с уровнем Р-селектина ($p=1\times 10^{-25}$, $p=3\times 10^{-105}$) [26, 27] и его растворенной формы ($p=4,05\times 10^{-61}$) [23], в развитии *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК.

Полиморфный вариант rs6136 *SELP* приводит к замене треонина на пролин. Предикторный потенциал данной миссенс-мутации, по данным онлайн-ресурса PolyPhen-2 обозначен как вероятно патогенный (score=0,758; чувствительность=0,85; специфичность=0,92). Локус rs6136 находится в областях гистоновых белков, маркирующих промоторы и энхансеры, гиперчувствительности к ДНКазе и связывания с регуляторными белками NFkB, EBF1, PAX5N19. Один сильно сцепленный ($r^2\geq 0,8$) с ним rs9332575 локализован в регионах гистоновых белков, маркирующих энхансеры, и 8 регуляторных мотивов (HaploReg v4.1). Оба варианта влияют на экспрессию гена *F5* (кровь: $p=7,7e^{-7}$, NES=-0,19, слизистая оболочка пищевода: $p=0,00019$, NES=-0,28) (Рис. 1) и альтернативный сплайсинг гена *BLZF1* (Рис. 2) (

слизистая оболочка пищевода: Intron Id 169368362:169369473:clu_52454, NES=0,36, $p=0,0000066$) (GTEx Portal).

Полиморфизм rs2294008 *PSCA* и 48 сильно сцепленных с ним SNPs ($r^2\geq 0,8$) также имеют выраженный регуляторный потенциал. В эволюционно консервативном районе находится rs2294008, 35 и 43 локуса располагаются в областях гистоновых белков, маркирующих промоторы и энхансеры соответственно, 42 – в регионах гиперчувствительности к ДНКазе, 12 и 43 – в районах связывания с регуляторными белками и регуляторными мотивами соответственно (HaploReg v4.1). Согласно базе GTEx Portal, эти 49 SNPs оказывают влияние на экспрессию 11 генов (*ARC*, *CTD-2292P10.4*, *JRK*, *LY6D*, *LY6K*, *LYNX1*, *LYPD2*, *PSCA*, *RP11-706C16.7*, *SLURP1*, *THEM6*) (например, ген *PSCA* - желудок: $p=2,4e^{-48}$, NES=0,64; слизистая оболочка пищевода: $p=8,1e^{-45}$, NES=0,33, и др.) (Рис. 3) и альтернативный сплайсинг 4 генов (*JRK*, *LY6D*, *LYNX1*, *THEM6*) (например, ген *JRK* – желудок: Intron Id 142679856:142681705:clu_56031, NES=0,47, $p=2,2e^{-8}$; ген *LYNX1* – гастро-эзофагеальное соединение: Intron Id 142766171:142768864:clu_54955, NES=-0,29, $p=0,0000050$ и др.) (Рис. 4).

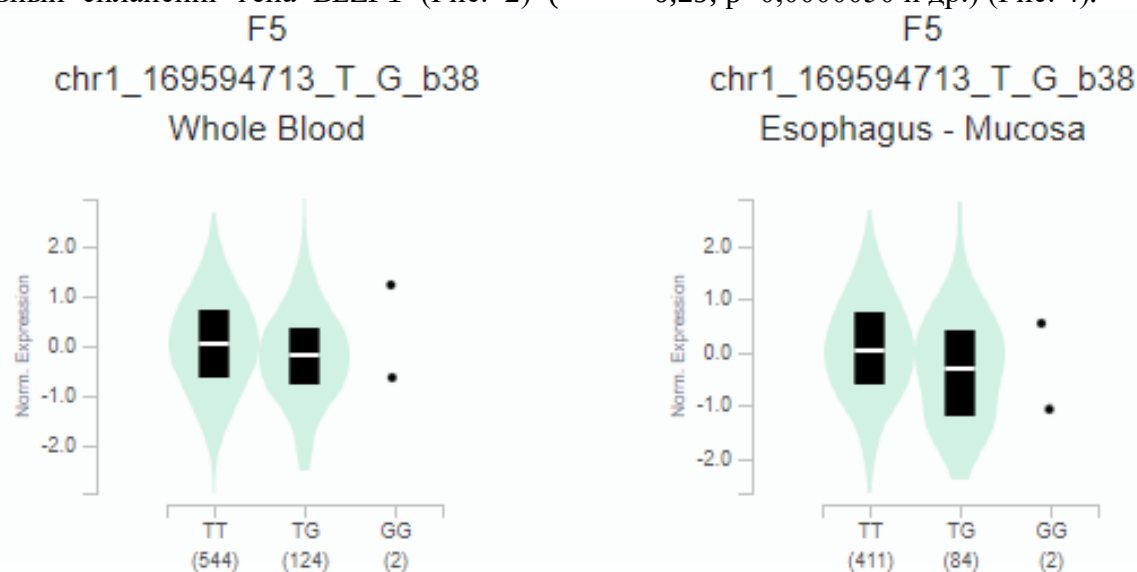


Рис. 1. Влияние rs6136 на экспрессию гена *F5* в цельной крови и слизистой оболочке пищевода

Fig. 1. Effect of rs6136 on *F5* gene expression in whole blood and esophageal mucosa

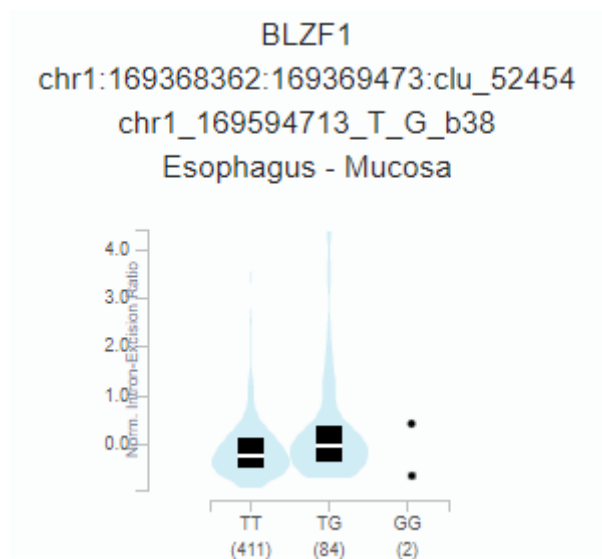


Рис. 2. Влияние rs6136 на экспрессию гена *BLZF1* в слизистой оболочке пищевода
Fig. 2. Effect of rs6136 on the expression of the *BLZF1* gene in the esophageal mucosa

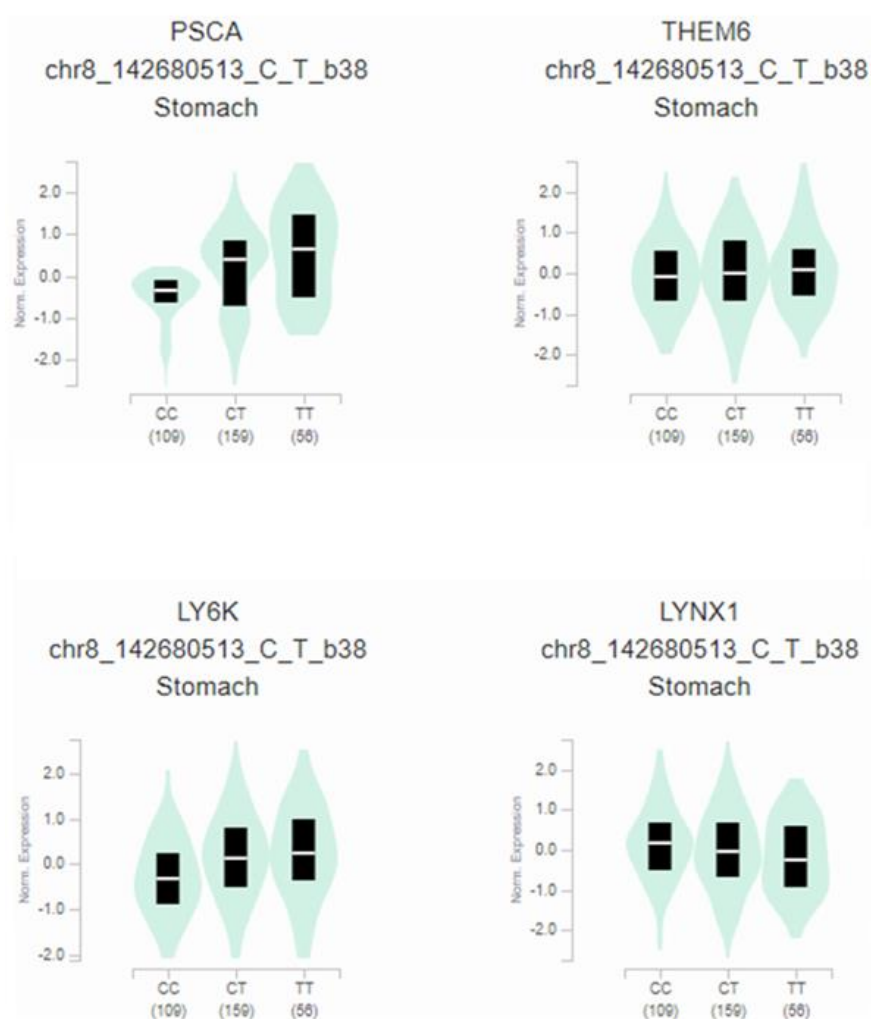


Рис. 3. Влияние rs2294008 на экспрессию генов *LY6K*, *LYNX1*, *PSCA*, *THEM6* в желудке
Fig. 3. Effect of rs2294008 on the expression of *LY6*, *LYNX1*, *PSCA*, *THEM6* genes in the stomach

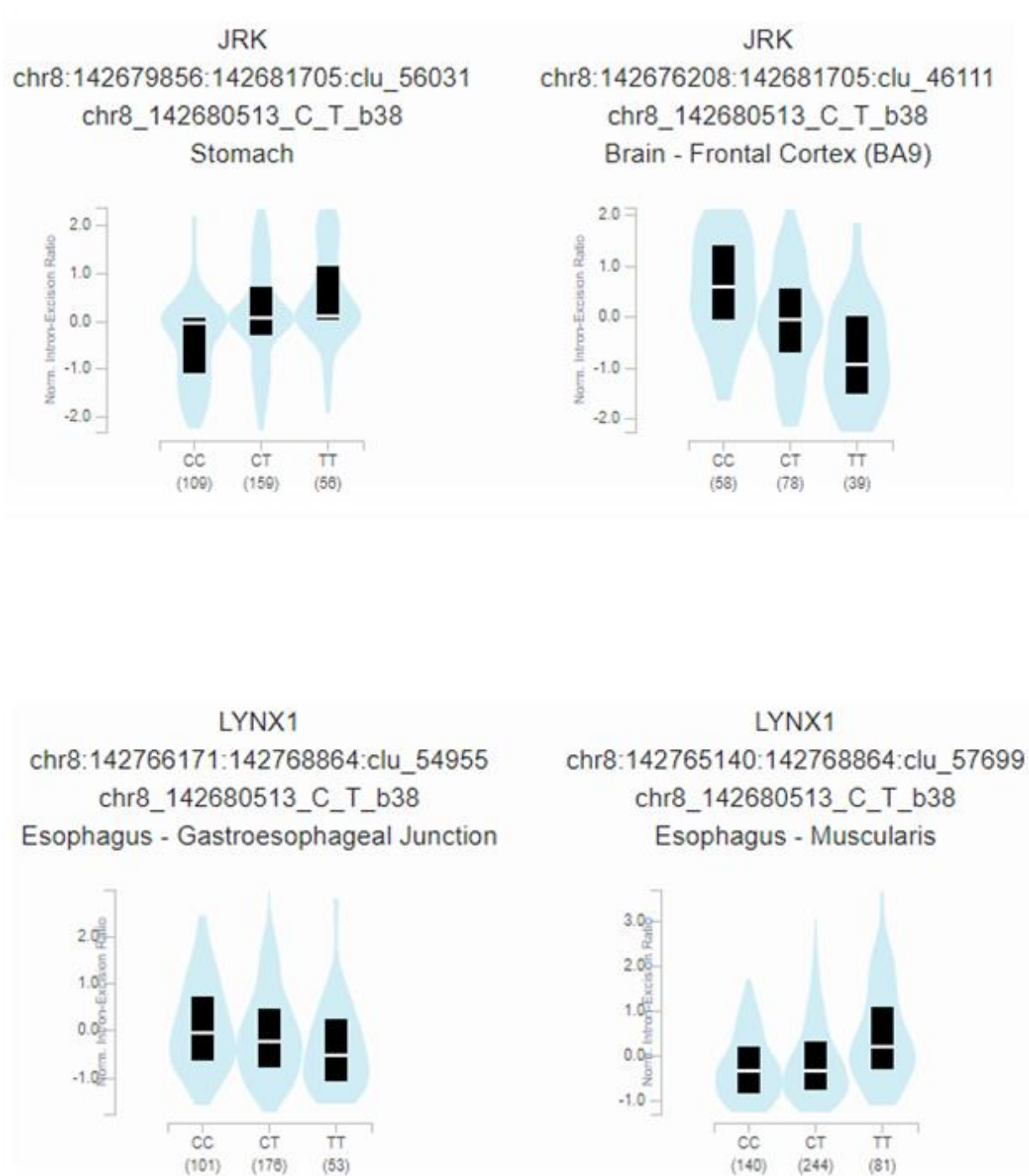


Рис. 4. Влияние rs2294008 на альтернативный сплайсинг гена *JRK* в желудке и головном мозге (фронтальная кора), гена *LYNX1* в пищеводно-желудочном переходе и мышечной оболочке пищевода

Fig. 4. Effect of rs2294008 on alternative splicing of the *JRK* gene in the stomach and brain (frontal cortex), the *LYNX1* gene in the gastroesophageal junction and esophagus (muscularis)

При развитии *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК (в условиях отсутствия инфекции) ограниченный по площади язвенный дефект (некроз) может возникнуть при ло-

кальной ишемии слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки. Прочие этиопатогенетические факторы (нарушение моторики гастро-дуоденальной зоны, изменение

уровня соляной кислоты, стрессовые состояния, вегетативные нарушения, несоблюдение режима питания с длительными перерывами между приемами пищи и едой всухомятку) – вспомогательные. Их роль заключается в усилении неблагоприятного действия ишемии до критического уровня с последующим образованием некроза слизистой оболочки. Нарушение кровообращения в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки возникает вследствие врожденной гипоплазии сосудов мелкого и среднего калибра [6, 31]. Генетической основой данного механизма может являться влияние rs6136 на экспрессию гена *F5*, белковый продукт которого совместно с активированным *X* фактором свертывания крови участвует в превращении протромбина в тромбин [32, 33].

P-селектин, относящийся к молекулам клеточной адгезии, является белковым продуктом гена *SELP*. Его роль заключается во влиянии на взаимодействие активированных эндотелиальных клеток или тромбоцитов с лейкоцитами, т.е. *P*-селектин участвует в развитии хронического воспалительного процесса, в том числе при *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК [18, 32, 33]. В процессах клеточной адгезии и работе иммунной системы также играют роль гены *PSCA*, *LY6K*, *LYPD2*, *LY6D* за счет их действия на посттрансляционную модификацию гликозилфосфатидилинозитол-заякоренных белков.

При образовании язвенного дефекта имеет важное значение нарушение равновесия между пролиферацией и обновлением клеток. В этих разнонаправленных процессах принимают участие гены *PSCA*, *LY6K*, *SLURP1*, *LYPD2* [7, 10, 11, 32, 33].

Таким образом, полиморфные варианты rs6136 и rs2294008 посредством влияния на 14 генов (*SELP*, *F5*, *BLZF1*, *ARC*, *CTD-2292P10.4*, *JRK*, *LY6D*, *LY6K*, *LYNX1*, *LYPD2*, *PSCA*, *RP11-706C16.7*, *SLURP1*, *THEM6*) участвуют в процессах роста и деления клеток (*PSCA*, *LY6K*, *SLURP1*, *LYPD2*) [7, 9, 10, 11, 32, 33, 34], посттрансляционной модификации гликозилфосфатидилинозитол-заякоренных белков, т.е. в

клеточной адгезии и реакции иммунной системы (*PSCA*, *LY6K*, *LYPD2*, *LY6D*) [32, 35], действуют в качестве модуляторов активности никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (*LYNX1*, *LY6D*, *SLURP1*, *LYPD2*) и кофактора в регуляции гемостаза (*F5*) [32, 33]. Следовательно, rs6136 и rs2294008 действуют на ключевые этиопатогенетические процессы при развитии язвенной болезни [18, 22, 23, 35].

Заключение. Аллель *C* гена *SELP* (rs6136) и аллель *C* гена *PSCA* (rs2294008) ассоциированы с повышенным риском развития *H. pylori*-негативной ЯБ ДПК. Указанные SNPs посредством влияния на экспрессию и альтернативный сплайсинг 14 генов (*SELP*, *F5*, *BLZF1*, *ARC*, *CTD-2292P10.4*, *JRK*, *LY6D*, *LY6K*, *LYNX1*, *LYPD2*, *PSCA*, *RP11-706C16.7*, *SLURP1*, *THEM6*) участвуют в ключевых этиопатогенетических процессах при развитии язвенной болезни.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Ивашкин ВТ, Маев ИВ, Царьков ПВ, и др. Диагностика и лечение язвенной болезни у взрослых (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российского общества колоректальных хирургов и Российского эндоскопического общества). Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2020;30(1):49-70. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-1-49-70>
2. McQuaid KR. Peptic ulcer disease. Current medical diagnosis and treatment. 2020.

3. Chang YW. Non-Helicobacter pylori, Non-nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Peptic Ulcer Disease. The Korean journal of gastroenterology = Taehan Sohwagi Hakhoe chi. 2016;67(6):313-317. Korean. DOI: <https://doi.org/10.4166/kjg.2016.67.6.313>
4. Dhar P, Nq GZ, Sutton P. How host regulation of *Helicobacter pylori*-induced gastritis protects against peptic ulcer disease and gastric cancer. American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology. 2016;311(3):G514-G520. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00146.2016>
5. Shim YK. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug and Aspirin-induced Peptic Ulcer Disease. The Korean journal of gastroenterology = Taehan Sohwagi Hakhoe chi. 2016;67(6):300-312. Korean. DOI: <https://doi.org/10.4166/kjg.2016.67.6.300>
6. Рашина ОВ, Чурносков МИ. Многофакторный этиопатогенез язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;192(8):154-159. DOI: [10.31146/1682-8658-ecg-192-8-154-159](https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-192-8-154-159)
7. Tanikawa C, Urabe Y, Matsuo K, et al. A genome-wide association study identifies two susceptibility loci for duodenal ulcer in the Japanese population. Nature Genetics. 2012;4(44):430-436. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.1109>
8. Wu Y, Murray GK, Byrne EM, et al. GWAS of peptic ulcer disease implicates *Helicobacter pylori* infection, other gastrointestinal disorders and depression. Nature Communications. 2021;12:1146. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21280-7>
9. Tanikawa C, Matsuo K, Kubo M, et al. Impact of *PSCA* variation on gastric ulcer susceptibility. PLoS ONE. 2013;8(5):e0063698. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063698>
10. Garcia-Gonzalez MA, Bujanda L, Quintero E, et al. Association of *PSCA* rs2294008 gene variants with poor prognosis and increased susceptibility to gastric cancer and decreased risk of duodenal ulcer disease. International Journal of Cancer. 2015;137(6):1362-1373. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.29500>
11. Usui Y, Matsuo K, Oze I, et al. Impact of *PSCA* polymorphism on the risk of duodenal ulcer. Journal of Epidemiology. 2021;31(1):12-20. DOI: <https://doi.org/10.2188/jea.JE20190184>
12. Рашина ОВ, Чурносков МИ. Гены-кандидаты язвенной болезни. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;2:52-57. DOI: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-186-2-52-57>
13. Рашина ОВ, Чурносков МИ. Вклад межгенных взаимодействий полиморфных вариантов генов-кандидатов в развитие язвенной болезни желудка. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;11:102-109. DOI: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-207-11-102-109>
14. Minyaylo O, Ponomarenko I, Reshetnikov E, et al. Polymorphisms of the matrix metalloproteinase 9 gene are associated with duodenal ulcer in a Caucasian population of Central Russia. Journal of King Saud University - Science. 2022;34(6):102142. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102142>
15. Minyaylo O, Ponomarenko I, Reshetnikov E, et al. Functionally significant polymorphisms of the *MMP-9* gene are associated with peptic ulcer disease in the Caucasian population of Central Russia. Scientific Reports. 2021;11(1):13515. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92527-y>
16. Миняйло ОН, Пономаренко ИВ, Чурносков МИ. Гендерные особенности ассоциаций полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ с развитием язвенной болезни у населения Центрального Черноземья России. Генетика. 2021;57(10):1185-1193. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0016675821100088>
17. Миняйло ОН. Распределение аллелей и гаплоглобальная структура полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ у больных *H. pylori*-негативной язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(4):488-502. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-5>
18. Galustian C, Elviss N, Chart H, et al. Interactions of the gastrotropic bacterium *Helicobacter pylori* with the leukocyte-endothelium adhesion molecules, the selectins – a preliminary report. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 2003;36(3):127-134. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0928-8244\(03\)00021-X](https://doi.org/10.1016/S0928-8244(03)00021-X)
19. Рашина ОВ, Чурносков МИ. Роль молекул клеточной адгезии в воспалительном процессе и развитии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, их молекулярно-генетические детерминанты. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;9:201-208. DOI: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-207-9-201-208>

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-205-9-201-208>

20. Pare G, Chasman DI, Kellogg M, et al. Novel Association of ABO Histo-Blood Group Antigen with Soluble ICAM-1: Results of a Genome-Wide Association Study of 6578 Women. *PLoS Genetics*. 2008;4(7):e1000118. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000118>

21. Pare G, Ridker PM, Rose L, et al. Genome-Wide Association Analysis of Soluble ICAM-1 Concentration Reveals Novel Associations at the NFKB1K, PNPLA3, RELA, and SH2B3 Loci. *PLoS Genetics*. 2011;7(4):e1001374. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001374>

22. Paterson AD, Lopes-Virella MF, Waggott D, et al. Genome-Wide Association Identifies the ABO Blood Group as a Major Locus Associated With Serum Levels of Soluble E-Selectin and The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2009;29(11):1958-1967. DOI: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.192971>

23. Barbalic M, Dupuis J, Dehghan A, et al. Large-scale genomic studies reveal central role of ABO in sP-selectin and sICAM-1 levels. *Human Molecular Genetics*. 2010;19(9):1863-1872. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq061>

24. Qi L, Cornelis MC, Kraft P, et al. Genetic variants in ABO blood group region, plasma soluble E-selectin levels and risk of type 2 diabetes. *Human Molecular Genetics*. 2010;19(9):1856-1862. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq057>

25. Enroth S, Johansson A, Enroth SB, et al. Strong effects of genetic and lifestyle factors on biomarker variation and use of personalized cutoffs. *Nature Communications*. 2014;5:4684. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms5684>

26. Suhre K, Arnold M, Bhagwat AM, Connecting genetic risk to disease end points through the human blood plasma proteome. *Nature Communications*. 2017;8:14357. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms14357>

27. Sun BB, Maranville JC, Peters JE, et al. Genomic atlas of the human plasma proteome. *Nature*. 2018;558:73-79. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0175-2>

28. Emilsson V, Ilkov M, Lamb JR, et al. Co-regulatory networks of human serum proteins link genetics to disease. *Science*. 2018;361(6404):769-773. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aag1327>

29. Sliz E, Kalaoja M, Ahola-Olli A, et al. Genome-wide association study identifies seven novel loci associating with circulating cytokines and cell adhesion molecules in Finns. *Journal of Medical Genetics*. 2019;56:607-616. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105965>

30. Головченко ИО. Генетические детерминанты уровня половых гормонов у больных эндометриозом. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2023;9(1):5-21. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2023-9-1-0-1>

31. Литовский ИА., Гордиенко АВ. Дискуссионные вопросы патогенеза гастродуоденальных язв. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2015;4(52):197-204.

32. GeneCards: The Human Gene Database. [Электронный ресурс] [дата обращения: 22.07.2022]. URL: <https://www.genecards.org>

33. OMIM: An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. [Электронный ресурс] [дата обращения: 22.07.2022]. URL: <https://www.omim.org>

34. Oguma J, Ozawa S, Sakakibara T, et al. Prognostic impact of *LY6K* and *CDCA1* expression for patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Annals of Gastroenterological Surgery*. 2020;5(2):194-203. DOI: <https://doi.org/10.1002/ags3.12415>

35. Шаронов ГВ, Балацкая МН, Ткачук ВА. Гликозилфосфатидилинозит-заякоренные белки как регуляторы примембранного цитоскелета. *Биохимия*. 2016;81(6):844-859.

References

1. Ivashkin VT, Maev IV, Tsar'kov PV, et al. Diagnosis and Treatment of Peptic Ulcer in Adults (Clinical Guidelines of the Russian Gastroenterological Association, the Russian Society of Colorectal Surgeons and the Russian Endoscopic Society). *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2020;30(1):49-70. Russian. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-1-49-70>

2. McQuaid KR. Peptic ulcer disease. Current medical diagnosis and treatment. 2020.

3. Chang YW. Non-Helicobacter pylori, Non-steroidal Anti-inflammatory Drug Peptic Ulcer Disease. *The Korean journal of gastroenterology = Taehan Sohwagi Hakhoe chi*. 2016;67(6):313-317. Korean. DOI: <https://doi.org/10.4166/kjg.2016.67.6.313>

4. Dhar P, Nq GZ, Sutton P. How host regulation of *Helicobacter pylori*-induced gastritis protects against peptic ulcer disease and gastric cancer. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2016;311(3):G514-G520. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00146.2016>
5. Shim YK. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug and Aspirin-induced Peptic Ulcer Disease. *The Korean journal of gastroenterology = Taehan Sohwagi Hakhoe chi*. 2016;67(6):300-312. Korean. DOI: <https://doi.org/10.4166/kjg.2016.67.6.300>
6. Rashina OV, Churnosov MI. Multi-Factor etiopathogenesis of gastric and duodenal peptic ulcer disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;192(8):154-159. Russian. DOI: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-192-8-154-159>
7. Tanikawa C, Urabe Y, Matsuo K, et al. A genome-wide association study identifies two susceptibility loci for duodenal ulcer in the Japanese population. *Nature Genetics*. 2012;4(44):430-436. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.1109>
8. Wu Y, Murray GK, Byrne EM, et al. GWAS of peptic ulcer disease implicates *Helicobacter pylori* infection, other gastrointestinal disorders and depression. *Nature Communications*. 2021;12:1146. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21280-7>
9. Tanikawa C, Matsuo K, Kubo M, et al. Impact of *PSCA* variation on gastric ulcer susceptibility. *PLoS ONE*. 2013;8(5):e0063698. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063698>
10. Garcia-Gonzalez MA, Bujanda L, Quintero E, et al. Association of *PSCA* rs2294008 gene variants with poor prognosis and increased susceptibility to gastric cancer and decreased risk of duodenal ulcer disease. *International Journal of Cancer*. 2015;137(6):1362-1373. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.29500>
11. Usui Y, Matsuo K, Oze I, et al. Impact of *PSCA* polymorphism on the risk of duodenal ulcer. *Journal of Epidemiology*. 2021;31(1):12-20. DOI: <https://doi.org/10.2188/jea.JE20190184>
12. Rashina OV, Churnosov MI. Peptic ulcer candidate genes. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;2:52-57. Russian. DOI: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-186-2-52-57>
13. Rashina OV, Churnosov MI. Contribution of intergenic interactions of polymorphic variants of candidate genes to the development of a gastric ulcer. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;11:102-109. Russian. DOI: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-207-11-102-109>
14. Minyaylo O, Ponomarenko I, Reshetnikov E, et al. Polymorphisms of the matrix metalloproteinase 9 gene are associated with duodenal ulcer in a Caucasian population of Central Russia. *Journal of King Saud University - Science*. 2022;34(6):102142. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102142>
15. Minyaylo O, Ponomarenko I, Reshetnikov E, et al. Functionally significant polymorphisms of the *MMP-9* gene are associated with peptic ulcer disease in the Caucasian population of Central Russia. *Scientific Reports*. 2021;11(1):13515. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92527-y>
16. Minyaylo ON, Ponomarenko IV, Churnosov MI. Gender-Specific Features of Associations of Polymorphism of Matrix Metalloproteinase Genes with the Development of Peptic Ulcer Disease in the Population of the Central Chernozem Region of Russia. *Genetics*. 2021;57(10):1185-1193. Russian. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0016675821100088>
17. Minyaylo ON. Allele distribution and haploblock structure of matrix metalloproteinase gene polymorphism in patients with *H. pylori*-negative gastric ulcer and duodenal ulcer. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(4):488-502. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-5>
18. Galustian C, Elviss N, Chart H, et al. Interactions of the gastrotropic bacterium *Helicobacter pylori* with the leukocyte-endothelium adhesion molecules, the selectins – a preliminary report. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2003;36(3):127-134. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0928-8244\(03\)00021-X](https://doi.org/10.1016/S0928-8244(03)00021-X)
19. Rashina OV, Churnosov MI. The role of cell adhesion molecules in the inflammatory process and development of gastric and duodenal peptic ulcer disease, their molecular genetic determinants. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;9:201-208. Russian. DOI: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-205-9-201-208>
20. Pare G, Chasman DI, Kellogg M, et al. Novel Association of ABO Histo-Blood Group Antigen with Soluble ICAM-1: Results of a Genome-Wide Association Study of 6578 Women. *PLoS Genetics*. 2008;4(7):e1000118. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000118>

21. Pare G, Ridker PM, Rose L, et al. Genome-Wide Association Analysis of Soluble ICAM-1 Concentration Reveals Novel Associations at the NFKB1K, PNPLA3, RELA, and SH2B3 Loci. *PLoS Genetics*. 2011;7(4):e1001374. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001374>
22. Paterson AD, Lopes-Virella MF, Waggott D, et al. Genome-Wide Association Identifies the ABO Blood Group as a Major Locus Associated With Serum Levels of Soluble E-Selectin and The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2009;29(11):1958-1967. DOI: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.192971>
23. Barbalic M, Dupuis J, Dehghan A, et al. Large-scale genomic studies reveal central role of ABO in sP-selectin and sICAM-1 levels. *Human Molecular Genetics*. 2010;19(9):1863-1872. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq061>
24. Qi L, Cornelis MC, Kraft P, et al. Genetic variants in ABO blood group region, plasma soluble E-selectin levels and risk of type 2 diabetes. *Human Molecular Genetics*. 2010;19(9):1856-1862. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq057>
25. Enroth S, Johansson A, Enroth SB, et al. Strong effects of genetic and lifestyle factors on biomarker variation and use of personalized cutoffs. *Nature Communications*. 2014;5:4684. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms5684>
26. Suhre K, Arnold M, Bhagwat AM, Connecting genetic risk to disease end points through the human blood plasma proteome. *Nature Communications*. 2017;8:14357. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms14357>
27. Sun BB, Maranville JC, Peters JE, et al. Genomic atlas of the human plasma proteome. *Nature*. 2018;558:73-79. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0175-2>
28. Emilsson V, Ilkov M, Lamb JR, et al. Co-regulatory networks of human serum proteins link genetics to disease. *Science*. 2018;361(6404):769-773. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aag1327>
29. Sliz E, Kalaoja M, Ahola-Olli A, et al. Genome-wide association study identifies seven novel loci associating with circulating cytokines and cell adhesion molecules in Finns. *Journal of Medical Genetics*. 2019;56:607-616. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105965>
30. Golovchenko IO. Genetic determinants of sex hormone levels in endometriosis patients. *Research Results in Biomedicine*. 2023;9(1):5-21. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2023-9-1-0-1>
31. Litovskij IA, Gordienko AV. Discussion issues of the pathogenesis of gastroduodenal ulcers. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2015;4(52):197-204. Russian.
32. GeneCards: The Human Gene Database [Internet] [cited 2022 July 22]. Available from: <https://www.genecards.org>
33. OMIM: An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders [Internet] [cited 2022 July 22]. Available from: <https://www.omim.org>
34. Oguma J, Ozawa S, Sakakibara T, et al. Prognostic impact of LY6K and CDCA1 expression for patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Annals of Gastroenterological Surgery*. 2020;5(2):194-203. DOI: <https://doi.org/10.1002/ags3.12415>
35. Sharonov GV, Balatskaya MN, Tkachuk VA. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins as regulators of cortical cytoskeleton. *Biochemistry*. 2016;81(6):844-859. Russian.
- Статья поступила в редакцию 31 ноября 2022 г.
Поступила после доработки 5 января 2023 г.
Принята к печати 3 февраля 2023 г.
- Received 31 November 2022
Revised 5 January 2023
Accepted 3 February 2023
- Информация об авторе**
Ольга Викторовна Рашина, аспирант по научной специальности 1.5.7 – Генетика ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: helga-witch@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1182-7201>.
- Information about the author**
Olga V. Rashina, Post-graduate Student in Scientific Specialty 1.5.7 – Genetics, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: helga-witch@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1182-7201>.

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ PHARMACOLOGY



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-5

УДК 615.214

Стресспротекторная активность экстракта *Astragalus physodes* на модели «социального» стресса

В.Х. Мурталиева , А.А. Цибизова , М.У. Сергалиева ,
М.А. Самотруева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет»,
ул. Бакинская, д. 121, г. Астрахань, 414000, Российская Федерация
Автор для переписки: М.У. Сергалиева (charlina_astr@mail.ru)

Резюме

Актуальность: В последние десятилетия в условиях существования человека особое внимание уделяется проблеме стресса и реакции организма на воздействие стрессорных факторов различной природы (соматические, когнитивные, эмоциональные и др.). Доказано, что влияние различных видов стресса приводит к нарушению психоэмоционального состояния и регуляции различных систем и, как следствие, постепенному истощению адаптационных возможностей организма и развитию стресс-ассоциированных заболеваний. Растительные препараты входят в число эффективных корректоров стресс-индуцированных нарушений. Исследовательское внимание привлекают фитопрепараты, полученные на основе растений рода Астрагал. Доказано, что различные представители данного рода содержат активные вещества с широким спектром биологической активности. **Цель исследования:** Оценить влияние экстракта травы Астрагала вздутого (*Astragalus physodes*) на поведенческие реакции лабораторных животных на примере тестов «Порсолт» и «Решетка». **Материалы и методы** Исследование проводили на белых беспородных крысах-самцах 6-8 месячного возраста. Животные были разделены на группы (n=10): 1 – контрольная группа образована интактными крысами, которые находились по одной особи в клетке; 2 – животные, подвергавшиеся воздействию «социального» стресса (жертвы/агрессоры); 3 – особи, подвергавшиеся воздействию «социального» стресса и получавшие внутрижелудочно экстракт Астрагала вздутого в дозе 50 мг/кг/сут на протяжении 14 дней (жертвы/агрессоры), начиная с 21 дня эксперимента. «Социальный» стресс моделировали путем формирования агрессивного (агрессоры) и субмиссивного (жертвы) типов поведения в условиях парного сенсорного контакта. Поведение животных оценивали, применяя психофармакологические тесты «Порсолт» и «Решетка». **Результаты:** Установлено, что «социальный» стресс способствует развитию тревожно-депрессивного состояния, требующего коррекции средствами со стресспротекторной активностью. Установлена нейро- и стресспротекторная активность растений рода Астрагал, которая обеспечивается, вероятно, наличием сапонинов и флавоноидов, оказывающих корригирующее влияние

на нейромедиаторные системы. **Заключение:** Полученные результаты исследования подтверждают наличие у экстракта Астралага вздутого психомодулирующей активности в условиях стрессогенного воздействия, что проявлялось усилением горизонтальной и вертикальной двигательной активности, а также снижением параметров тревожно-депрессивного характера в поведении лабораторных животных.

Ключевые слова: стресс; «социальный» стресс; экстракт *Astragalus physodes*; белые крысы; поведение; тест «Порсолт»; тест «Решетка»

Для цитирования: Мурталиева ВХ, Цибизова АА, Сергалиева МУ, и др. Стресспротекторная активность экстракта *Astragalus physodes* на модели «социального» стресса. Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3):347-356. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-5

Stress-protective activity of *Astragalus physodes* extract on the model of «social» stress

Veronika Kh. Murtalieva , Aleksandra A. Tsibizova ,
Mariyam U. Sergaliyeva , Marina A. Samotrueva 

Astrakhan State Medical University,
121 Bakinskaya St., Astrakhan, 414000, Russia

Corresponding author: Mariyam U. Sergaliyeva (charlina_astr@mail.ru)

Abstract

Background: In recent decades, in the conditions of human existence, special attention has been paid to the problem of stress and the body's response to the impact of stress factors of various nature (somatic, cognitive, emotional, etc.). It has been proven that the influence of various types of stress leads to disruption of the psycho-emotional state and regulation of various systems and, as a result, the gradual depletion of the body's adaptive capabilities and the development of stress-associated diseases. Herbal preparations are among the effective correctors of stress-induced disorders. Phytopreparations based on plants of the *Astragalus* genus attract research attention. It has been proven that various representatives of this genus contain active substances with a wide range of biological activity. **The aim of the study:** To evaluate the effect of *Astragalus physodes* herb extract on the behavioral responses of laboratory animals using the Porsolt and Lattice tests as an example. **Materials and methods:** The study was carried out on outbred male rats aged 6-8 months. The animals were divided into groups (n=10): 1 – the control group was formed by intact rats, which were one individual per cage; 2 – animals exposed to social» stress (victims/aggressors); 3 – individuals exposed to «social» stress and receiving intragastrically an extract of *Astragalus physodes* at a dose of 50 mg/kg/day for 14 days (victims/aggressors), starting from the 21st day of the experiment. «Social» stress was modeled by the formation of aggressive (aggressors) and submissive (victims) types of behavior in conditions of paired sensory contact. Animal behavior was assessed using the Porsolt and Lattice psychopharmacological tests. **Results:** It has been established that «social» stress contributes to the development of an anxiety-depressive state, which requires correction by medicines with stress-protective activity. The neuro- and stress-protective activity of plants of the genus *Astragalus* was established, which is probably ensured by the presence of saponins and flavonoids, which have a corrective effect on neurotransmitter systems. **Conclusion:** The obtained results confirm the presence of psychomodulatory activity of *Astragalus physodes* extract under stressogenic

conditions, which was manifested by an increase in horizontal and vertical motor activity, as well as a decrease in the anxiety-depressive parameters in the behavior of laboratory animals.

Keywords: stress; «social» stress; *Astragalus physodes* extract; white rats; behavior; Porsolt test; Lattice test

For citation: Murtalieva VKh, Tsibizova AA, Sergaliyeva MU, et al. Stress-protective activity of *Astragalus physodes* extract on the model of «social» stress. Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):347-356. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-5

Введение. В настоящее время воздействие хронического стресса рассматривается как один из наиболее важных этиологических факторов развития различной патологии, в том числе и нейропсихической. Жизнедеятельность человека в современных условиях определяется воздействием разнообразных стрессовых факторов, наибольшее значение из которых имеют факторы социальной направленности, приводящие к развитию стресс-опосредованных изменений различных систем организма, что в последующем приводит к истощению адаптационных возможностей [1, 2, 3]. Установлено, что на первоначальных стадиях формирования стресс-реактивности проявляются психоэмоциональные изменения [4, 5, 6], свидетельствующие нередко о запуске процессов дезадаптации и требующие эффективной коррекции. При разработке новых антистрессорных препаратов особое внимание уделяется экспериментальным доклиническим исследованиям, направленным на изучение поведенческих реакций животных, отражающих двигательные, эмоциональные и когнитивные изменения, развивающиеся на фоне воздействия стресс-факторов с целью определения возможности их коррекции [7-11].

Растительные препараты входят в число эффективных корректоров стресс-индуцированных нарушений. Исследовательское внимание привлекают фитопрепараты, полученные на основе растений рода Астрагал. Доказано, что различные представители данного рода содержат активные вещества с широким спектром биологической активности. Химический состав астрагала представлен флавоноидами, сапонинами, органическими кислотами и др. со-

единениями, определяющими широту фармакологических эффектов [12, 13, 14]. В фармакологических исследованиях экстракты различных частей растений рода Астрагал показали противовоспалительное, иммуностропное, противоопухолевое, антидиабетическое, антиоксидантное, гепатопротекторное, противомикробное, противовирусное, а также нейро- и психотропное действие. Установлено, что астрагал является богатейшим источником сапонинов циклоартанового типа, обладающих преимущественно кардиотонической, гипохолестеринемической, антидепрессивной активностью [15, 16, 17]. Флавоноиды этого рода включают флавонолы, флавоны, флавононы и изофлавоноиды, также обеспечивают разносторонние биологические эффекты, в том числе и психотропные.

Интерес представляет астрагал вздутый (*Astragalus physodes*). В ходе проведенного нами количественного фитохимического исследования было выявлено, что экстракт надземной части *Astragalus physodes* содержит органические (7,6 %) и гидроксикоричные (0,57 %) кислоты, флавоноиды (1,2 %), аскорбиновую кислоту (0,08 %) и др. [18, 19], что позволяет предположить наличие стресспротекторной активности.

Цель исследования. Оценить влияние экстракта травы астрагала вздутого (*Astragalus physodes*) на поведенческие реакции лабораторных животных.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах (6-8 месяцев), содержащихся в стандартных условиях вивария. Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с Межгосудар-

ственным стандартом «Принципы надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ 33044-2014) и локальным этическим комитетом Астраханского государственного медицинского университета (протокол № 6 от 27 ноября 2018 года).

Исследования проводили на модели «социального» стресса, воспроизводимой путем помещения животных попарно в клетку с прозрачной перегородкой, в результате чего крысы были разделены на агрессоров и жертв. Перегородку каждый день убрали и наблюдали за межсамцовыми конфронтациями в течение 10 минут. Эксперименты проводили в течение 20 дней [20, 21], после чего все животные были разделены на несколько групп ($n=10$): 1) контрольная группа образована интактными крысами; 2) стрессированные животные (жертвы/агрессоры); 3) стрессированные особи, которым внутривенно вводили жидкий экстракт Астралага вздутого (50 мг/кг/сут) в течение 14 дней (жертвы/агрессоры), начиная с 21 дня эксперимента.

Жидкий экстракт астралага вздутого получен в соотношении 1:1 путем настаивания измельченной до 3 мм травы на водной бане с водно-спиртовым раствором 60% в течение 2,5 ч. при температуре 60°C с последующим отгоном экстрагента с использованием роторного испарителя. При изучении поведения животных при стрессогенном воздействии на организм применяли психофармакологические тесты в стандартной модификации: тест «Порсолт» и тест «Решетка». Показатели тревожно-депрессивного состояния в тестах оценивались в течение 5 минут.

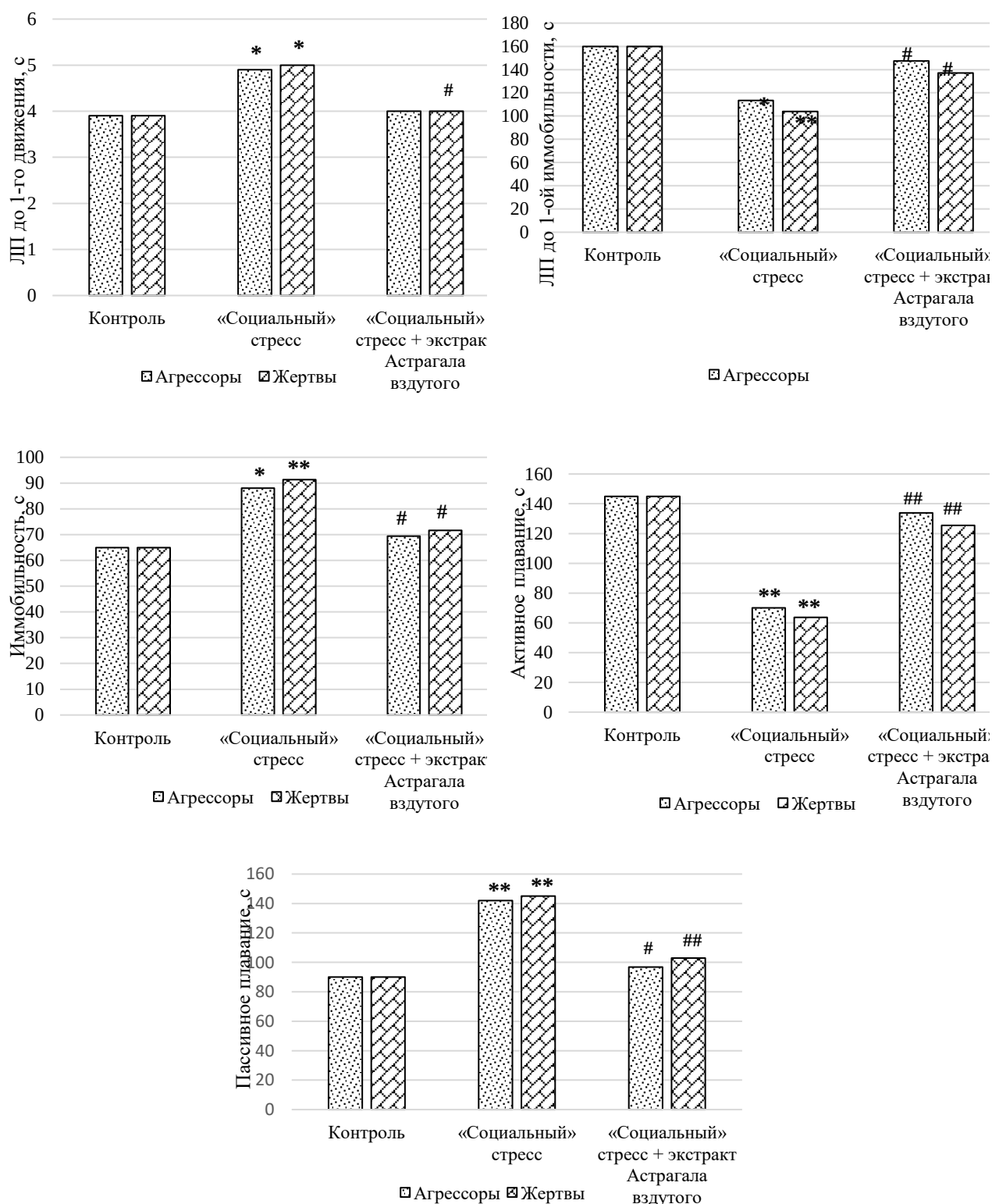
Результаты обрабатывались с применением программы BIOSTAT 2008 Professional 5.1.3.1. с использованием критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали результаты при $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение. Изменение поведения крыс в тесте «Порсолт» свидетельствует о развитии тревожно-депрессивного состояния. Так, развитие

«социального» стресса у крыс с агрессивным и субмиссивным типами поведения способствовали увеличению времени иммобильности в 1,3 ($p<0,05$) и 1,4 раза ($p<0,01$) соответственно; латентного периода до первого движения в среднем в 1,3 раза ($p<0,05$) по сравнению с контролем; латентный период до первой иммобильности уменьшился на 30% ($p<0,05$) у агрессоров, и на 35% ($p<0,01$) у жертв по сравнению с контрольными животными. На фоне этого, время пассивного плавания статистически значимо увеличилось практически в 1,6 раза ($p<0,01$), тогда как время активного плавания, напротив, уменьшилось в 2 раза ($p<0,01$), как у крыс-агрессоров, так и жертв относительно контроля (Рис. 1).

В тесте «Порсолт» на фоне введения экстракта Астралага во всех опытных группах наблюдалось увеличение латентного периода до первой иммобильности в среднем в 1,3 раза ($p<0,05$), а продолжительность периода иммобильности – в 1,2 раза ($p<0,05$) в сравнении группами «социального» стресса. Более того, экстракт способствовал снижению продолжительности пассивного плавания в среднем в 1,3 раза у агрессоров и жертв ($p<0,05$ и $p<0,01$ соответственно), и увеличению активного – более чем в 1,9 раза ($p<0,01$) относительно стрессированных животных (Рис. 1).

В тесте «Решетка» при стрессогенном воздействии также были отмечены изменения поведения, характерные для развития тревожно-депрессивного расстройства. Было установлено, что в сравнении с контролями в группах агрессоров и жертв количество пересеченных ячеек снижалось на 42% ($p<0,01$) и 35% ($p<0,01$) соответственно; число вставаний на задние лапы также снижалось практически на 36% ($p<0,01$). Количество «заглядываний» вниз при стрессе как у агрессоров, так и жертв снижалось на 10% ($p>0,05$) и 24% ($p<0,05$) соответственно; число «соскальзываний» увеличилось на 18% и 20%, однако данные изменения не имели статистической значимости (Рис. 2).

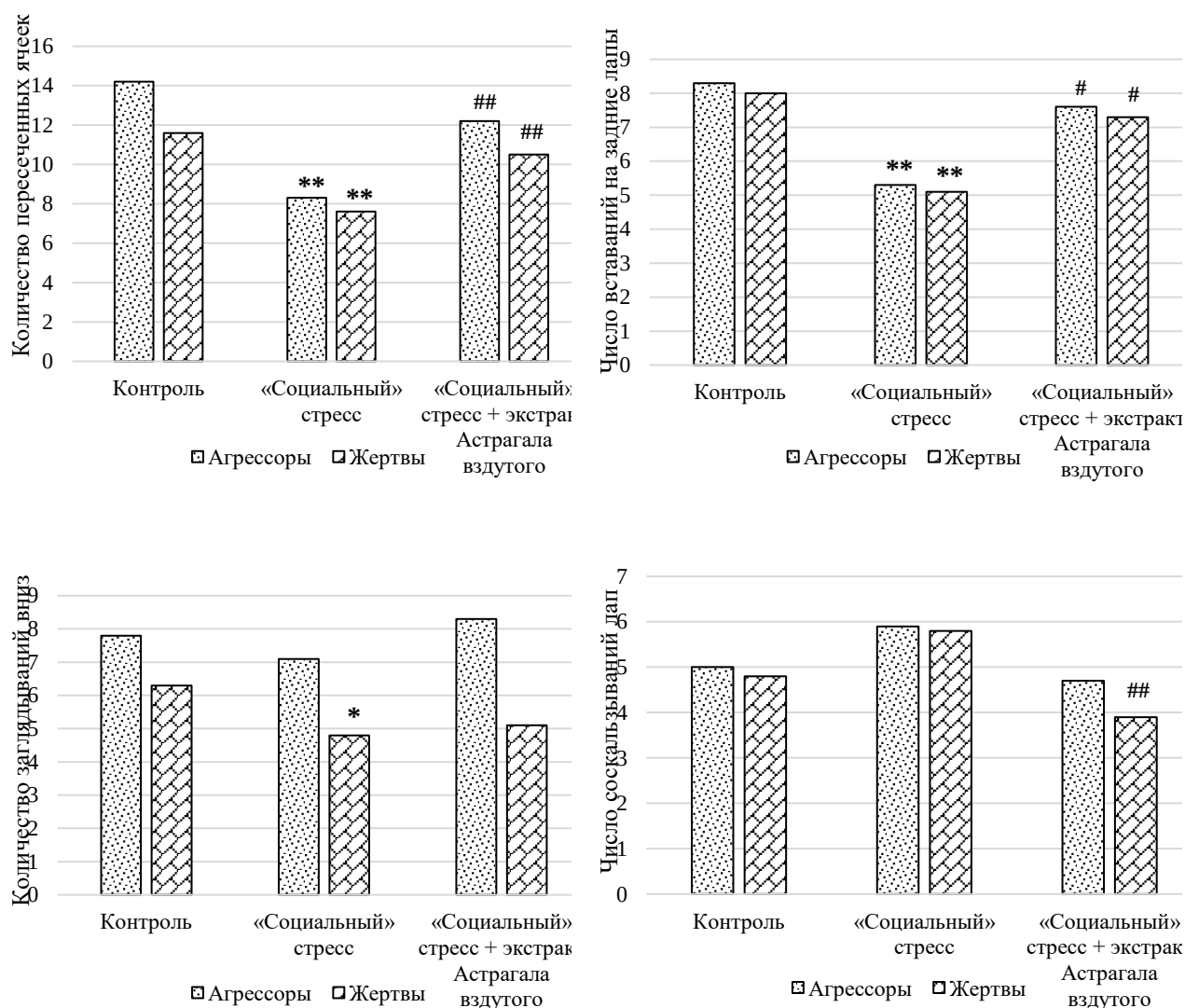


Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – относительно контроля; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ – относительно стресса; ЛП – латентный период.

Рис. 1. Влияние экстракта астрагала вздутого на поведение крыс-самцов в тесте «Порсолт» в условиях «социального» стресса

Note: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – relative to the control; # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$ – relative to stress; ЛП – latency period.

Fig. 1. Influence of *Astragalus physodes* extract on the behavior of male rats in the «Porsolt» test under conditions of «social» stress



Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – относительно контроля; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ – относительно стресса.

Рис. 2. Влияние экстракта астрагала вздутого на поведение крыс-самцов в тесте «Решетка» в условиях «социального» стресса

Note: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – relative to the control; # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$ – relative to stress.

Fig. 2. Influence of *Astragalus physodes* extract on the behavior of male rats in the Lattice test under conditions of «social» stress

При введении экстракта астрагала вздутого наблюдалось усиление горизонтальной и вертикальной двигательной активности как в группе агрессоров, так и жертв на 47% ($p < 0,001$) и 38% ($p < 0,01$) соответственно по отношению к группе-стресс; количество «заглядываний» вниз в группе животных с агрессивным и субмиссивным типом поведения увеличились в сравнении со стрессированными животными на 17% ($p > 0,05$) и 7% ($p > 0,05$); число «соскальзываний» снизилось относительно

животных со стрессом на 20% ($p > 0,05$) и 33% ($p < 0,01$).

Результаты исследования сопоставимы с результатами других экспериментов. Установлено, что стресс-воздействие способствует развитию тревожно-депрессивного состояния, требующего коррекции средствами со стресспротекторной активностью в том числе и фитопрепаратами, фармакологическое действие которых опосредовано их химическим составом, в частности наличием флавоноидов [22]. Уста-

новлена нейро- и стресспротекторная активность растений рода Астрагал, которая обеспечивается, вероятно, наличием сапонинов и флавоноидов, оказывающих корригирующее влияние на нейромедиаторные системы, в результате чего наблюдается их активация секреции медиаторов, концентрация которых снижена в условиях стресса. В исследованиях показано, что антидепрессивное действие некоторых флавоноидов зависит от его взаимодействия с серотонинергическим 5-HT_{1A} рецепторами, а также повышением уровня катехоламинов в синаптической щели, и взаимодействием с норадренергическими- α_2 , и дофаминергическими-D₁, D₂ и D₃ рецепторами [22]. Так же установлено, что реализация антидепрессивного эффекта сопряжена с антиоксидантной активностью астрагала, в результате чего наблюдается ингибирование митохондрий-опосредованного апоптотического процесса и снижением концентрации провоспалительных цитокинов [23, 24].

Заключение. Полученные результаты исследования подтверждают наличие у жидкого экстракта астрагала вздутого психомодулирующей активности в условиях стрессогенного воздействия, что проявлялось усилением горизонтальной и вертикальной двигательной активности, а также снижением параметров тревожно-депрессивного характера в поведении лабораторных животных. Изучаемый фитопрепарат обладает стресспротекторным действием и устраняет психоэмоциональные нарушения, формирующиеся под влиянием «социального» стресса, что актуализирует проведение детальных фармакологических исследований с целью возможного создания лекарственных препаратов на основе астрагала вздутого.

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 author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Kruk J, Aboul-Enein BH, Bernstein J, et al. Psychological Stress and Cellular Aging in Cancer: A Meta-Analysis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019:1270397. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/1270397>
2. Ridout KK, Ridout SJ, Guille C, et al. Physician-Training Stress and Accelerated Cellular Aging. *Biological Psychiatry*. 2019;86(9):725-730. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.04.030>
3. Sazonova MA, Sinyov VV, Ryzhkova AI, et al. Some Molecular and Cellular Stress Mechanisms Associated with Neurodegenerative Diseases and Atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(2):699. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020699>
4. Chipurupalli S, Samavedam U, Robinson N. Crosstalk Between ER Stress, Autophagy and Inflammation. *Frontiers in Medicine*. 2021;8:2125. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.758311>
5. Morshed SA, Davies TF. Understanding Thyroid Cell Stress. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2020;105(3):e66-e69. DOI: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgz193>
6. Koolhaas JM, de Boer SF, Buwalda B, et al. Social stress models in rodents: Towards enhanced validity. *Neurobiology of Stress*. 2017;6:104-112. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.09.003>
7. Murra D, Hilde KL, Fitzpatrick A, et al. Characterizing the Behavioral and neuroendocrine features of susceptibility and resilience to social stress. *Neurobiology of Stress*. 2022;17:100437. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2022.100437>
8. van Doeselaar L, Yang H, Bordes J, et al. Chronic social defeat stress in female mice leads to sex-specific behavioral and neuroendocrine effects. *Stress*. 2021;24(2):168-180. DOI: <https://doi.org/10.1080/10253890.2020.1864319>
9. Nakagawa H, Matsunaga D, Ishiwata T. Effect of heat acclimation on anxiety-like behavior of rats in an open field. *Journal of Thermal Biology*. 2020;87:102458. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.102458>

10. Totty MS, Warren N, Huddleston I, et al. Behavioral and brain mechanisms mediating conditioned flight behavior in rats. *Scientific Reports*. 2021;11:8215. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87559-3>

11. Pi G, Gao D, Wu D, et al. Posterior basolateral amygdala to ventral hippocampal CA1 drives approach behaviour to exert an anxiolytic effect. *Nature Communications*. 2020;11:183. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13919-3>

12. Zeidan MM, Raddam QN. Physiological and histological protective role of Astragalus spinosus root alcoholic extract against oxidative stress induced by H₂O₂ in rabbits. *Journal of Physics: Conference Series*. 2021;1879(2):022039. DOI: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1879/2/022039>

13. Du Y, Wan H, Huang P, et al. A critical review of Astragalus polysaccharides: From therapeutic mechanisms to pharmaceuticals. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2022;147:112654. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112654>

14. Meng X, Wei M, Wang D, et al. Astragalus polysaccharides protect renal function and affect the TGF- β /Smad signaling pathway in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of International Medical Research*. 2020;48(5):0300060520903612. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300060520903612>

15. Zexi Z, Lei Z, Hansong X. Effect of Astragalus polysaccharide in treatment of diabetes mellitus: a narrative review. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2019;39(1):133-138. DOI: <https://doi.org/10.19852/j.cnki.jtcm.2019.01.017>

16. Zheng Y, Ren W, Zhang L, et al. A Review of the Pharmacological Action of Astragalus Polysaccharide. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:349. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00349>

17. Самотруева МА, Цибизова АА, Сергалиева МУ. Изучение влияния экстракта *Astragalus vulpinus* на процессы перекисного окисления липидов в гипоталамической области на модели липополисахаридного иммунного стресса. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021;41(5):47-52. DOI: <https://doi.org/10.18699/SSMJ20210506>

18. Сергалиева МУ, Ахадова ДА. Количественное определение свободных органических кислот в траве астрагала вздутого. В: Проблемы эффективного использования научного потенциала общества. Сборник статей по итогам Международной

научно-практической конференции; 12 января 2018. Стерлитамак: АМИ; 2018;136-138.

19. Сергалиева МУ, Самотруева МА, Ахадова ДА. Содержание аминокислот в траве астрагала вздутого. В: Проблемы эффективного использования научного потенциала общества. Сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции; 12 января 2018. Стерлитамак: АМИ; 2018;138-142.

20. Kudryavtseva NN. Positive fighting experience, addiction-like state, and relapse: Retrospective analysis of experimental studies. *Aggression and Violent Behavior*. 2020;52:101403. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.avb.2020.101403>

21. Ясенявская АЛ, Самотруева МА, Цибизова АА, и др. Влияние глипролинов на перекисное окисление липидов в гипоталамической и префронтальной областях головного мозга в условиях «социального» стресса. *Астраханский медицинский журнал*. 2020;15(3):79-85. DOI: <https://doi.org/10.17021/2020.15.3.79.85>

22. Maan G, Sikdar B, Kumar A, et al. Role of flavonoids in neurodegenerative diseases: Limitations and future perspectives. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2020;20(13):1169-1194. DOI: <https://doi.org/10.2174/1568026620666200416085330>

23. Ullah A, Munir S, Badshah SL, et al. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules*. 2020;25(22):5243. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>

24. Gong G, Zheng Y, Yang Y, et al. Pharmaceutical Values of Calycosin: One Type of flavonoid isolated from Astragalus. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;2021:9952578. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/9952578>

References

1. Kruk J, Aboul-Enein BH, Bernstein J, et al. Psychological Stress and Cellular Aging in Cancer: A Meta-Analysis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019:1270397. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/1270397>

2. Ridout KK, Ridout SJ, Guille C, et al. Physician-Training Stress and Accelerated Cellular Aging. *Biological Psychiatry*. 2019;86(9):725-730. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.04.030>

3. Sazonova MA, Sinyov VV, Ryzhkova AI, et al. Some Molecular and Cellular Stress

Mechanisms Associated with Neurodegenerative Diseases and Atherosclerosis. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(2):699. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020699>

4. Chipurupalli S, Samavedam U, Robinson N. Crosstalk Between ER Stress, Autophagy and Inflammation. Frontiers in Medicine. 2021;8:2125. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.758311>

5. Morshed SA, Davies TF. Understanding Thyroid Cell Stress. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2020;105(3):e66-e69. DOI: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgz193>

6. Koolhaas JM, de Boer SF, Buwalda B, et al. Social stress models in rodents: Towards enhanced validity. Neurobiology of Stress. 2017;6:104-112. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.09.003>

7. Murra D, Hilde KL, Fitzpatrick A, et al. Characterizing the Behavioral and neuroendocrine features of susceptibility and resilience to social stress. Neurobiology of Stress. 2022;17:100437. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2022.100437>

8. van Doeselaar L, Yang H, Bordes J, et al. Chronic social defeat stress in female mice leads to sex-specific behavioral and neuroendocrine effects. Stress. 2021;24(2):168-180. DOI: <https://doi.org/10.1080/10253890.2020.1864319>

9. Nakagawa H, Matsunaga D, Ishiwata T. Effect of heat acclimation on anxiety-like behavior of rats in an open field. Journal of Thermal Biology. 2020;87:102458. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.102458>

10. Totty MS, Warren N, Huddleston I, et al. Behavioral and brain mechanisms mediating conditioned flight behavior in rats. Scientific Reports. 2021;11:8215. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87559-3>

11. Pi G, Gao D, Wu D, et al. Posterior basolateral amygdala to ventral hippocampal CA1 drives approach behaviour to exert an anxiolytic effect. Nature Communications. 2020;11:183. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13919-3>

12. Zeidan MM, Raddam QN. Physiological and histological protective role of Astragalus spinosus root alcoholic extract against oxidative stress induced by H₂O₂ in rabbits. Journal of Physics: Conference Series. 2021;1879(2):022039. DOI: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1879/2/022039>

13. Du Y, Wan H, Huang P, et al. A critical review of Astragalus polysaccharides: From therapeutic mechanisms to pharmaceuticals. Biomedicine and Pharmacotherapy.

2022;147:112654.

DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112654>

14. Meng X, Wei M, Wang D, et al. Astragalus polysaccharides protect renal function and affect the TGF- β /Smad signaling pathway in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of International Medical Research. 2020;48(5):0300060520903612. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300060520903612>

15. Zexi Z, Lei Z, Hansong X. Effect of Astragalus polysaccharide in treatment of diabetes mellitus: a narrative review. Journal of Traditional Chinese Medicine. 2019;39(1):133-138. DOI: <https://doi.org/10.19852/j.cnki.jtcm.2019.01.017>

16. Zheng Y, Ren W, Zhang L, et al. A Review of the Pharmacological Action of Astragalus Polysaccharide. Frontiers in Pharmacology. 2020;11:349. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00349>

17. Samotrueva MA, Tsibizova AA, Sergalieva MU. Study of effect of *Astragalus vulpinus* extract on lipid peroxidation processes in hypothalamic region on lipopolysaccharide immune stress model. Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal. 2021;41(5):47-52. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18699/SSMJ20210506>

18. Sergalieva MU, Akhadova DA. Quantitative determination of free organic acids in the grass of *Astragalus physodes*. In: Problems of effective use of the scientific potential of society. Collection of articles on the results of the International Scientific and Practical Conference; January 12, 2018. Sterlitamak: AMI; 2018;136-138. Russian.

19. Sergalieva MU, Samotrueva MA, Akhadova DA. The content of amino acids in the grass of *Astragalus physodes*. In: Problems of effective use of the scientific potential of society. Collection of articles on the results of the International Scientific and Practical Conference; January 12, 2018. Sterlitamak: AMI; 2018;138-142. Russian.

20. Kudryavtseva NN. Positive fighting experience, addiction-like state, and relapse: Retrospective analysis of experimental studies. Aggression and Violent Behavior. 2020;52:101403. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.avb.2020.101403>

21. Yasenyavskaya AL, Samotrueva MA, Tsibizova AA, et al. The influence of glyprolines on lipid peroxidation in the hypothalamic and prefrontal areas of the brain under conditions of “social” stress. Astrakhan medical journal.

2020;15(3):79-85.

DOI:

<https://doi.org/10.17021/2020.15.3.79.85>

22. Maan G, Sikdar B, Kumar A, et al. Role of flavonoids in neurodegenerative diseases: Limitations and future perspectives. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2020;20(13):1169-1194.

DOI:

<https://doi.org/10.2174/1568026620666200416085330>

23. Ullah A, Munir S, Badshah SL, et al. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules*. 2020;25(22):5243. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>

24. Gong G, Zheng Y, Yang Y, et al. Pharmaceutical Values of Calycosin: One Type of flavonoid isolated from Astragalus. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;2021:9952578. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/9952578>

Статья поступила в редакцию 24 февраля 2022 г.
Поступила после доработки 6 октября 2022 г.
Принята к печати 27 декабря 2022 г.

Received 24 February 2022

Revised 6 October 2022

Accepted 27 December 2022

Информация об авторах

Вероника Хамидуллаевна Мурталиева, ассистент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань, Российская Федерация, E-mail: murtalieva90@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0860-4952>.

Александра Александровна Цибизова, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань, Российская Федерация, E-mail: sasha3633@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9994-4751>.

Мариям Утежановна Сергалиева, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань, Российская Федерация, E-mail: charlina astr@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9630-2913>.

Марина Александровна Сомотруева, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань, Российская Федерация, E-mail: ms1506@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5336-4455>.

Information about the authors

Veronika Kh. Murtalieva, Assistant at the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, E-mail: murtalieva90@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0860-4952>.

Aleksandra A. Tsibizova, Cand. Sci. (Pharmacy), Associate Professor at the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, E-mail: sasha3633@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9994-4751>.

Mariyam U. Sergaliev, Cand. Sci. (Biology), Senior Lecturer at the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, E-mail: charlina astr@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9630-2913>.

Marina A. Samotrueva, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, E-mail: ms1506@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5336-4455>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-6

УДК 616.45-001.1/3:547.853.3:615.015

Влияние производного пиримидина на уровень цитокинов в условиях экспериментальной генерализованной стафилококковой инфекции

А.Л. Ясенявская¹ , А.А. Цибизова¹ , И.Н. Тюренков² ,
А.А. Озеров² , О.А. Башкина¹ , М.А. Самотруева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет», ул. Бакинская, д. 121, г. Астрахань, 414000, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет», пл. Павших Борцов, д. 1, г. Волгоград, 400131, Российская Федерация

Автор для переписки: А.Л. Ясенявская (yasen_9@mail.ru)

Резюме

Актуальность: На сегодняшний день бактериальные инфекции, вызванные микроорганизмами характеризуются устойчивостью к антибиотикам, что является одной из ведущих причин затяжного течения инфекционно-воспалительных заболеваний или же генерализации процесса, протекающего с развитием системной воспалительной реакции. Тяжесть инфекционной патологии обусловлена гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, что может привести к развитию, так называемого, «цитокинового шторма» с последующим развитием полиорганной недостаточности. Для преодоления этой проблемы были приложены значительные усилия, в том числе и разработка новых эффективных антимикробных препаратов, способных оказывать иммунорегуляторный эффект. В настоящее время пиримидиновые гетероциклические соединения рассматриваются как перспективная группа веществ для использования их в качестве основы для лекарственных препаратов. **Цель исследования:** Оценка уровня про- и противовоспалительных цитокинов в условиях экспериментальной генерализованной стафилококковой инфекции под влиянием производного пиримидина – 3-(2-Фенил-2-оксоэтил)-хиназолин-4(3H)-она. **Материалы и методы:** Влияние производного пиримидина на уровень про- и противовоспалительных цитокинов оценивали на модели генерализованной инфекции, вызванной внутрибрюшинным введением мышам *Staphylococcus aureus*. Мыши 5-недельного возраста (самцы, 40 особей) были разделены на группы (n=10): контроль I – животные, получавшие внутрибрюшинно эквивалент объема воды для инъекций; контроль II – инфицированные стафилококком мыши, не получавшие лечения; две опытные группы – мыши, получавшие внутрибрюшинно цефтриаксон в средней терапевтической дозе – 50 мг/кг и 3-(2-Фенил-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-она в дозе 21 мг/кг в течение 7 дней. Уровень цитокинов в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. **Результаты:** Введение производного пиримидина 3-(2-фенил-2-оксоэтил)-хиназолин-4(3H)-он приводило к снижению уровня провоспалительных цитокинов. Данные изменения были менее выраженными по сравнению с группой животных, получавших препарат сравнения – цефтриаксон. Наряду с этим, введение

производного пиримидина способствовало повышению уровня противовоспалительных интерлейкинов (ИЛ-4, ИЛ-10) по сравнению с контролем II. **Заключение:** Полученные результаты свидетельствуют о наличии у изучаемого соединения регуляторного влияния на цитокиновый профиль и возможной активации механизмов, способствующих подавлению инфекционного агента.

Ключевые слова: производные пиримидина; генерализованная инфекция; золотистый стафилококк; цитокины; интерлейкины; фактор некроза опухоли

Для цитирования: Ясенявская АЛ, Цибизова АА, Тюренков ИН, и др. Влияние производного пиримидина на уровень цитокинов в условиях экспериментальной генерализованной стафилококковой инфекции. Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3): 357-365. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-6

Effect of pyrimidine derivative on cytokine levels in experimental generalized staphylococcal infection

Anna L. Yasenyavskaya¹ , Alexandra A. Tsibizova¹ , Ivan N. Tyurenkov² ,
Alexandr A. Ozerov² , Olga A. Bashkina¹ , Marina A. Samotrueva¹ 

¹ Astrakhan State Medical University,
121 Bakinskaya St., Astrakhan, 414000, Russia

² Volgograd State Medical University,
1 Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russia

Corresponding author: Anna L. Yasenyavskaya (yasen_9@mail.ru)

Abstract

Background: To date, bacterial infections caused by microorganisms characterized by antibiotic resistance are one of the leading causes of the protracted course of infectious and inflammatory diseases that occur with the development of a systemic inflammatory reaction. It is proved that the severity of infectious pathology is caused by hyperproduction of proinflammatory cytokines, which can lead to the development of the so-called "cytokine storm" with the subsequent development of multiple organ failure. Considerable efforts have been made to overcome this problem, including the development of new effective antimicrobial drugs capable of having an immunoregulatory effect. Currently, pyrimidine heterocyclic compounds are considered as the main group of substances for their use as a basis for medicines. **The aim of the study:** Evaluation of the effect of pyrimidine derivative 3-(2-Phenyl-2-oxoethyl)-quinazoline-4(3H)-one on the level of cytokines in experimental generalized staphylococcal infection. **Materials and methods:** The effect of pyrimidine derivative on the level of pro- and anti-inflammatory cytokines was evaluated on a model of generalized infection caused by intraperitoneal administration of *Staphylococcus aureus* to mice at a dose of 10^8 microbial bodies. 5-week-old mice (40 individuals) were divided into the groups: control I – animals receiving intraperitoneal water for injection; control II – mice infected with staphylococcus who did not receive treatment; two experimental groups were mice that received intraperitoneal ceftriaxone at an average therapeutic dose of 50 mg/kg and pyrimidine compound at a dose of 21 mg/kg. The level of pro- and anti-inflammatory cytokines in blood serum was determined by enzyme immunoassay. **Results:** Pyrimidine derivative 3-(2-Phenyl-2-oxoethyl)-quinazoline-4(3H)-one on led to a decrease in the level

of proinflammatory cytokines; it was found that the data the changes were less pronounced in comparison with the group of animals receiving the comparison drug – ceftriaxone. The introduction of a pyrimidine derivative led to an increase in the level of anti-inflammatory interleukins (IL-4, IL-10) compared with control II. **Conclusion:** The results obtained indicate that the studied compound has a regulatory effect on the cytokine profile and possible activation of mechanisms that contribute to the suppression of the infectious agent.

Keywords: pyrimidine derivatives; generalized infection; *Staphylococcus aureus*; cytokines; interleukins; tumor necrosis factor

For citation: Yasyavskaya AL, Tsibizova AA, Tyurenkov IN, et al. Effect of pyrimidine derivative on cytokine levels in experimental generalized staphylococcal infection. Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):357-365. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-6

Введение. На сегодняшний день бактериальные инфекции, вызванные микроорганизмами, как патогенными, так и условно-патогенными, характеризующимися устойчивостью к антибиотикам, являются одной из ведущих причин затяжного течения инфекционно-воспалительных заболеваний или же генерализации процесса, протекающего с развитием системной воспалительной реакции [1, 2]. Выраженность воспалительной реакции находится в зависимости от баланса про- и противовоспалительных цитокинов, наиболее значимые из которых соответственно IL-1 β , IL-6, TNF- α и IL-10, IL-4 [3, 4]. Тяжесть инфекционной патологии обусловлена гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, что может привести к развитию, так называемого, «цитокинового шторма» с последующим развитием полиорганной недостаточности [5, 6]. Для преодоления этой проблемы были приложены значительные усилия, в том числе и разработка новых эффективных антимикробных препаратов, способных оказывать иммунорегуляторный эффект [7].

В настоящее время пиримидиновые гетероциклические соединения рассматриваются как перспективная группа веществ для использования их в качестве основы для лекарственных препаратов [8, 9]. Доказано, что производные пиримидина способны оказывать широкое фармакологическое действие, а именно психотропное, нейротропное, противовоспалительное, антиоксидантное, иммунотропное, противо-

опухолевое, регенераторное, противомикробное и др. [10-13] На сегодняшний день пиримидинсодержащие субстанции рассматриваются в качестве основы для разработки новых антибактериальных препаратов [14]. Интерес к указанным гетероциклическим субстанциям связан с их функциональными свойствами, а именно сходством биологической активности с многими эндогенными веществами, что является преимуществом, позволяющим производным пиримидина взаимодействовать с ферментами, коферментами и другими веществами в клетке [15, 16]. Установлено, что наряду с указанными свойствами, еще одним преимуществом пиримидиновых соединений является их химическая структура и сравнительная простота синтеза, позволяющего получать большое количество фармакологического вещества.

На сегодняшний день учеными Волгоградского государственного медицинского университета синтезирован ряд соединений пиримидиновой структуры, фармакологическая активность которых, в том числе противомикробная и иммунотропная, активно изучаются [10, 13].

Цель исследования. Оценка уровня про- и противовоспалительных цитокинов в условиях экспериментальной генерализованной стафилококковой инфекции под влиянием производного пиримидина – 3-(2-Фенил-2-оксоэтил)-хиназолин-4(3H)-она.

Материалы и методы исследования. Влияние производного пиримидина на уровень про- и противовоспалительных ци-

токинов оценивали на модели генерализованной инфекции, сформированной введением мышам внутрибрюшинно *Staphylococcus aureus* в дозе $\times 10^8$ микробных тел [17].

Животные получены из экспериментально-биологической клиники (виварий) Научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России. Животные во время эксперимента находились на стандартном режиме питания (ГОСТ Р 50258-92) при естественном освещении. Содержание мышей соответствовало правилам лабораторной практики (ГОСТ Р 51000.3-96 и 51000.4-96). Исследования проводились на основании протокола Этического комитета ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России № 6 от 27 ноября 2018 г.

Мыши 5-недельного возраста (самцы, 40 особей) были разделены на следующие группы (n=10): контроль I – животные, получавшие внутрибрюшинно эквивалент воды для инъекций (Новосибхимфарм ОАО (Россия); контроль II – инфицированные стафилококком мыши, не получавшие лечения; две опытные группы – мыши, получавшие внутрибрюшинно препарат сравнения – цефтриаксон (Биосинтез ОАО (Россия) в средней терапевтической дозе – 50 мг/кг и 3-(2-Фенил-2-оксоэтил)-хиназолин-4(3H)-она в дозе 21 мг/кг (1/10 от молекулярной массы) в течение 7 дней.

С помощью метода иммуноферментного анализа определяли уровень провоспалительных (IL-1 β , IL-6, TNF- α) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов в сыворотке крови. Для этого использовали наборы ELISA Kit соответствующих реагентов (Cloud-Clone Corp., США).

С помощью пакетов программ BIOSTAT 2008 Professional 5.1.3.1. («AnalystSoft Inc.», США) осуществляли статистическую обработку результатов ис-

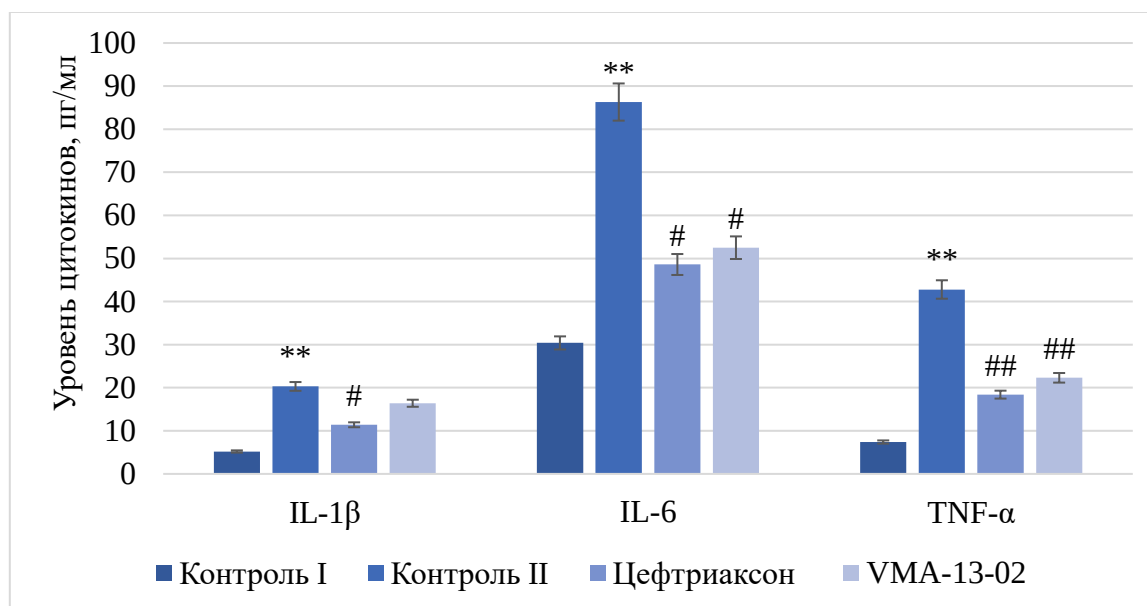
следования. В группах сравнения использовали критерий Манна-Уитни, оценивая различия при постоянно выбранном уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Выраженность антистафилококковой активности пиримидинового производного 3-(2-оксопропил)-хиназолин-4(3H)-он оценивали на основании определения выживаемости лабораторных животных в условиях генерализованной инфекции. В результате было установлено, что в группе нелеченых животных на 7 сутки наблюдалась 70% гибель; при введении препарата сравнения и пиримидиновой субстанции – 20% гибель мышей.

Результаты влияния пиримидинового производного на уровень провоспалительных цитокинов в условиях генерализованной стафилококковой инфекции представлены на рисунке 1.

В процессе развития стафилококковой инфекции было установлено повышение уровня провоспалительных цитокинов в сравнении с интактным контролем: IL-1 β – практически в 4 ($p \leq 0,01$) раза, IL-6 – в 2,8 ($p \leq 0,01$) раза, TNF- α – в 5,8 ($p \leq 0,01$) раза. Введение цефтриаксона привело к снижению указанных показателей по отношению к группе инфицированных животных: IL-1 β и IL-6 – в 1,8 ($p \leq 0,01$) раза, TNF- α – в 2,3 ($p \leq 0,01$) раза. Производное пиримидина также привело к снижению уровня провоспалительных цитокинов (IL-1 β – практически в 1,2 ($p \geq 0,05$) раза, IL-6 – в 1,6 ($p \leq 0,05$) раза, TNF- α – практически в 2 ($p \leq 0,01$) раза. Установлено, что данные изменения были менее выражены в сравнении с группой животных, получавших препарат сравнения.

Результаты влияния пиримидинового производного на уровень противовоспалительных цитокинов в условиях генерализованной стафилококковой инфекции представлены на рисунке 2.

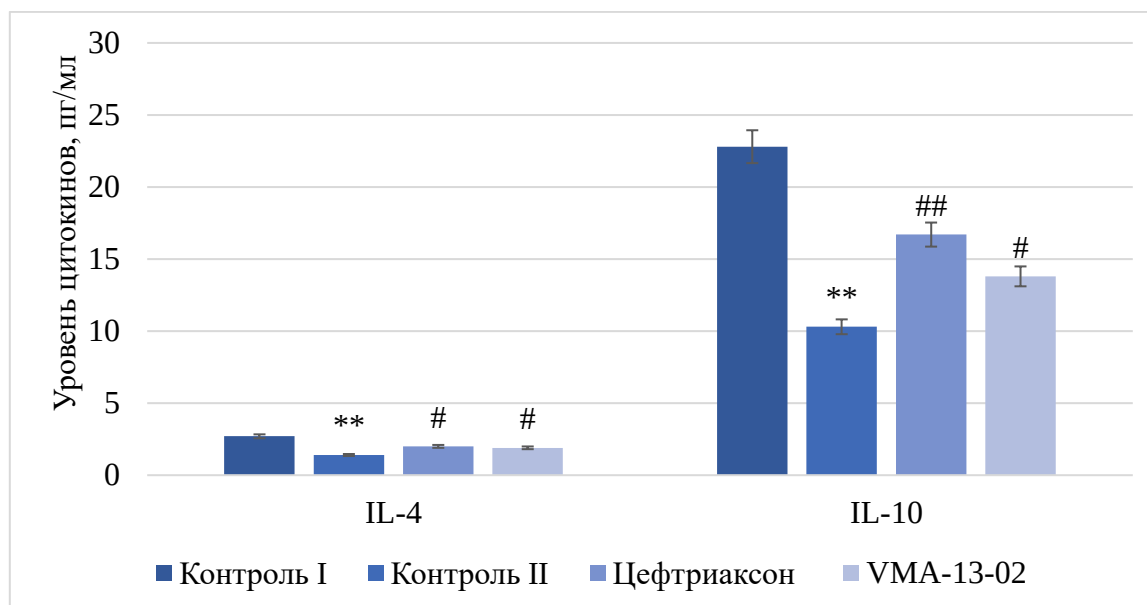


Примечание: # – $p \leq 0,05$ – по отношению к показателям группы контроля II; ** и ## – $p \leq 0,01$ – по отношению к показателям группы контроля I и контроля II соответственно.

Рис. 1. Влияние производного пиримидина и цефтриаксона на уровень провоспалительных цитокинов в условиях экспериментальной стафилококковой инфекции у мышей

Note: # – $p \leq 0,05$ – in relation to the indicators of control group II; ** and ## – $p \leq 0.01$ – in relation to the indicators of control group I and control II, respectively.

Fig. 1. Effect of pyrimidine derivative and ceftriaxone on the level of proinflammatory cytokines in experimental staphylococcal infection in mice



Примечание: # – $p \leq 0,05$ – по отношению к показателям группы контроля II; ** и ## – $p \leq 0,01$ – по отношению к показателям группы контроля I и контроля II соответственно.

Рис. 2. Влияние производного пиримидина и цефтриаксона на уровень противовоспалительных цитокинов в условиях экспериментальной стафилококковой инфекции у мышей

Note: # – $p \leq 0.05$ – in relation to the indicators of control group II; ** and ## – $p \leq 0.01$ – in relation to the indicators of control group I and control II, respectively.

Fig. 2. Effect of pyrimidine derivative and ceftriaxone on the level of anti-inflammatory cytokines in experimental staphylococcal infection in mice

Генерализованная инфекция способствовала снижению противовоспалительных IL-4 и IL-10 по отношению к контролю в 1,9 ($p \leq 0,01$) и 2,2 ($p \leq 0,01$) раза соответственно. При введении препарата сравнения отмечалось повышение цитокинов: IL-4 – в 1,4 ($p \leq 0,05$) и IL-10 – в 1,6 ($p \leq 0,05$) раза по отношению к инфицированной группе мышей. Введение пиримидинового производного привело также к повышению уровня исследуемых интерлейкинов в среднем в 1,3 ($p \leq 0,05$) раза в сравнении с контролем II.

Результаты настоящего исследования сопоставимы с результатами ранее проведенных экспериментов по изучению влияния производных пиримидина на уровень про- и противовоспалительных интерлейкинов, где было установлено, что пиримидиновые соединения играют роль иммунорегулятора при поддержании механизмов цитокинового равновесия [18]. Полученные результаты свидетельствуют о преобладании провоспалительных цитокинов у лабораторных животных с нелеченой генерализованной стафилококковой инфекцией и, напротив, превалирование противовоспалительных в результате применения цефтриаксона и производного пиримидина в качестве средств лечения экспериментальной инфекции [19, 20, 21]. В связи с чем, можно сделать вывод, что коррекция баланса про- и противовоспалительных цитокинов, наблюдаемая под влиянием 3-(2-Фенил-2-оксоэтил)-хиназолин-4(3H)-она и препарата сравнения цефтриаксон, способствует поддержанию гомеостаза и дополнительных предпосылок подавления инфекционного агента.

Заключение. Проведенное исследование влияния пиримидинового производного 3-(2-Фенил-2-оксоэтил)-хиназолин-4(3H)-он на уровень про- и противовоспалительных цитокинов в условиях генерализованной стафилококковой инфекции свидетельствует о наличии у данного соединения регуляторного влияния на цитокиновый профиль и активации механизмов, способствующих подавлению инфекционного агента.

Информация о финансировании

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ в части проведения НИР по теме «Поиск и разработка перспективных соединений с антибактериальной активностью среди производных пиримидина для создания лекарственных препаратов» 48.2-2021.

Financial support

The study was carried out within the framework of the state assignment of the Minzdrav of Russia in terms of conducting research on the topic «Search and development of promising compounds with antibacterial activity among pyrimidine derivatives for the creation of drugs» 48.2-2021.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Aslam B, Wang W, Arshad MI, et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. Infection and Drug Resistance. 2018;11:1645-1658. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>
2. Yelin I, Kishony R. Antibiotic resistance. Cell. 2018;172(5):1136-1136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.018>
3. Straub RH, Cutolo M. Psychoneuroimmunology-developments in stress research. Wiener Medizinische Wochenschrift. 2018;168(3-4):76-84. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10354-017-0574-2>
4. Pondeljak N, Lugović-Mihic L. Stress-induced Interaction of Skin Immune Cells, Hormones, and Neurotransmitters. Clinical Therapeutics. 2020;42(5):757-770. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.03.008>
5. Bohmwald K, Galvez NMS, Canedo-Marroquín G, et al. Contribution of cytokines to tissue damage during human respiratory syncytial virus infection. Frontiers in Immunology. 2019;10:452. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00452>
6. Chakraborty RK, Burns B. Systemic Inflammatory Response Syndrome. In: StatPearls

[Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.

7. Zotova NV, Zhuravleva YV, Zubova TE, et al. Integral estimation of systemic inflammatory response under sepsis. *General Physiology and Biophysics*. 2020;39(1):13-26. DOI: https://doi.org/10.4149/gpb_2019043

8. Dofe VS, Sarkate AP, Shaikh ZM, et al. Ultrasound-assisted synthesis of novel pyrazole and pyrimidine derivatives as antimicrobial agents. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2018;55(3):756-762. DOI: <https://doi.org/10.1002/jhet.3105>

9. Мартинкевич ДС, Чернявская ЕФ, Тарасевич ВА. Синтез пиримидиновых производных на основе халконов и их противомикробная активность. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук*. 2021;57(4):431-437. DOI: <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-431-437>

10. Цибизова АА, Озеров АА, Новиков МС, и др. Синтез и иммунотропная активность новых производных хиназолина у мышей. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54(10):26-29. DOI: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2020-54-10-26-29>

11. Aparna EP, Devaky KS. Advances in the solid-phase synthesis of pyrimidine derivatives. *ACS Combinatorial Science*. 2019;21(2):35-68. DOI: <https://doi.org/10.1021/acscombsci.8b00172>

12. Liu P, Yang Y, Tang Y, et al. Design and synthesis of novel pyrimidine derivatives as potent antitubercular agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019;163:169-182. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.054>

13. Самотруева МА, Озеров АА, Старикова АА, и др. Изучение антимикробной активности новых хиназолин-4(3H)-онов по отношению к *staphylococcus aureus* и *streptococcus pneumoniae*. *Фармация и фармакология*. 2021;9(4):318-329. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-4-318-329>

14. Sirakanyan SN, Kartsev VG, Geronikaki A, et al. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial Activity and Molecular Docking of New N-1,3-thiazol-2-ylacetamides of Condensed Pyrido[3',2':4,5]furo(thieno)[3,2-d]pyrimidines. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2020;20(24):2192-2209. DOI: <https://doi.org/10.2174/1568026620666200628145308>

15. Chiacchio MA, Iannazzo D, Romeo R, et al. Pyridine and pyrimidine derivatives as privileged scaffolds in biologically active agents. *Current Medicinal Chemistry*. 2019;26(40):7166-7195. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867325666180904125400>

16. Tolba M, El-Dean A, Ahmed M, et al. Synthesis, reactions, and applications of pyrimidine derivatives. *Current Chemistry Letters*. 2022;11(1):121-138. DOI: <https://doi.org/10.5267/j.ccl.2021.008.002>

17. Самотруева МА, Цибизова АА, Габитова НМ, и др. Противомикробная активность нового производного хиназолина VMA-13-03. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2020;83(8):24-28. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-8-24-28>

18. Kumar S, Deep A, Narasimhan B. A review on synthesis, anticancer and antiviral potentials of pyrimidine derivatives. *Current Bioactive Compounds*. 2019;15(3):289-303. DOI: <https://doi.org/10.2174/1573407214666180124160405>

19. Коваленко ЛП, Никитин СВ, Кузнецова ОС, и др. Изучение противовоспалительных, иммуномодулирующих и противоопухолевых свойств СНК-41. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018;81(S):115. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2018-81-5s-115-115a>

20. Gonzales AJ, Bowman JW, Fici GJ, et al. Oclacitinib (APOQUEL®) is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2014;37(4):317-324. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvp.12101>

21. Morelli M, Scarponi C, Mercurio L, et al. Selective Immunomodulation of Inflammatory Pathways in Keratinocytes by the Janus Kinase (JAK) Inhibitor Tofacitinib: Implications for the Employment of JAK-Targeting Drugs in Psoriasis. *Journal of Immunology Research*. 2018;2018:7897263. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/7897263>

References

1. Aslam B, Wang W, Arshad MI, et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and Drug Resistance*. 2018;11:1645-1658. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>

2. Yelin I, Kishony R. Antibiotic resistance. *Cell*. 2018;172(5):1136-1136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.018>
3. Straub RH, Cutolo M. Psychoneuroimmunology-developments in stress research. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2018;168(3-4):76-84. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10354-017-0574-2>
4. Pondeljak N, Lugović-Mihić L. Stress-induced Interaction of Skin Immune Cells, Hormones, and Neurotransmitters. *Clinical Therapeutics*. 2020;42(5):757-770. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.03.008>
5. Bohmwald K, Galvez NMS, Canedo-Marroquín G, et al. Contribution of cytokines to tissue damage during human respiratory syncytial virus infection. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:452. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00452>
6. Chakraborty RK, Burns B. Systemic Inflammatory Response Syndrome. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
7. Zotova NV, Zhuravleva YV, Zubova TE, et al. Integral estimation of systemic inflammatory response under sepsis. *General Physiology and Biophysics*. 2020;39(1):13-26. DOI: https://doi.org/10.4149/gpb_2019043
8. Dofe VS, Sarkate AP, Shaikh ZM, et al. Ultrasound-assisted synthesis of novel pyrazole and pyrimidine derivatives as antimicrobial agents. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2018;55(3):756-762. DOI: <https://doi.org/10.1002/jhet.3105>
9. Martsinkevich DS, Chernyavskaya KF, Tarasevich VA. Synthesis of chalcone-based pyrimidine derivatives and their antimicrobial activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Chemical Series*. 2021;57(4):431-437. Russian. DOI: <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-431-437>
10. Tsibizova AA, Ozerov AA, Novikov MS, et al. Synthesis and Immunotropic Activity of New Quinazoline Derivatives. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2020;54(10):26-29. Russian. DOI: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2020-54-10-26-29>
11. Aparna EP, Devaky KS. Advances in the solid-phase synthesis of pyrimidine derivatives. *ACS Combinatorial Science*. 2019;21(2):35-68. DOI: <https://doi.org/10.1021/acscmbosci.8b00172>
12. Liu P, Yang Y, Tang Y, et al. Design and synthesis of novel pyrimidine derivatives as potent antitubercular agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019;163:169-182. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.054>
13. Samotrueva MA, Ozerov AA, Starikova AA, et al. Antimicrobial activity study of new quinazolin-4(3h)-ones against staphylococcus aureus and streptococcus pneumoniae. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(4):318-329. Russian. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-4-318-329>
14. Sirakanyan SN, Kartsev VG, Geronikaki A, et al. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial Activity and Molecular Docking of New N-1,3-thiazol-2-ylacetamides of Condensed Pyrido[3',2':4,5] furo(thieno)[3,2-d]pyrimidines. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2020;20(24):2192-2209. DOI: <https://doi.org/10.2174/1568026620666200628145308>
15. Chiacchio MA, Iannazzo D, Romeo R, et al. Pyridine and pyrimidine derivatives as privileged scaffolds in biologically active agents. *Current Medicinal Chemistry*. 2019;26(40):7166-7195. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867325666180904125400>
16. Tolba M, El-Dean A, Ahmed M, et al. Synthesis, reactions, and applications of pyrimidine derivatives. *Current Chemistry Letters*. 2022;11(1):121-138. DOI: <https://doi.org/10.5267/j.ccl.2021.008.002>
17. Samotrueva MA, Tsibizova AA, Gabitova NM, et al. Antimicrobial Activity of New Quinazoline Derivative VMA-13-03. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2020;83(8):24-28. Russian. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-8-24-28>
18. Kumar S, Deep A, Narasimhan B. A review on synthesis, anticancer and antiviral potentials of pyrimidine derivatives. *Current Bioactive Compounds*. 2019;15(3):289-303. DOI: <https://doi.org/10.2174/1573407214666180124160405>
19. Kovalenko LP, Nikitin SV, Kuznetsova OS, et al. Study of anti-inflammatory, immunomodulatory and antitumor properties of SNK-41. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2018;81(S):115. Russian. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2018-81-5s-115-115a>
20. Gonzales AJ, Bowman JW, Fici GJ, et al. Oclacitinib (APOQUEL®) is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *Journal of Veterinary Pharmacology and*

Therapeutics. 2014;37(4):317–324. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvp.12101>

21. Morelli M, Scarponi C, Mercurio L, et al. Selective Immunomodulation of Inflammatory Pathways in Keratinocytes by the Janus Kinase (JAK) Inhibitor Tofacitinib: Implications for the Employment of JAK-Targeting Drugs in Psoriasis. *Journal of Immunology Research*. 2018;2018:7897263. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/7897263>

Статья поступила в редакцию 18 мая 2022 г.
Поступила после доработки 17 октября 2022 г.
Принята к печати 15 декабря 2022 г.

Received 18 May 2022

Revised 17 October 2022

Accepted 15 December 2022

Информация об авторах

Анна Леонидовна Ясенявская, кандидат медицинских наук, доцент, руководитель Научно-исследовательского центра, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань, Российская Федерация, E-mail: yasen_9@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2998-2864>.

Александра Александровна Цибизова, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань, Российская Федерация, E-mail: sasha3633@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9994-4751>.

Иван Николаевич Тюренков, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», г. Волгоград, Российская Федерация, E-mail: fibfuv@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7574-3923>.

Александр Александрович Озеров, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», г. Волгоград, Российская Федерация, E-mail: prof_ozarov@yahoo.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4721-0959>.

Ольга Александровна Башкина, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань, Российская Федерация, E-mail: bashkina1@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4168-4851>.

Марина Александровна Сомотруева, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань, Российская Федерация, E-mail: ms1506@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5336-4455>.

Information about the authors

Anna L. Yasyenyavskaya, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor, Head of the Research Center, Associate Professor at the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, E-mail: yasen_9@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2998-2864>.

Alexandra A. Tsibizova, Cand. Sci. (Pharmacy), Associate Professor at the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, E-mail: sasha3633@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9994-4751>.

Ivan N. Tyurenkov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Pharmacology and Pharmacy, Institute of Continuing Medical and Pharmaceutical Education, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, E-mail: fibfuv@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7574-3923>.

Alexandr A. Ozerov, Doct. Sci. (Chemistry), Professor, Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, E-mail: prof_ozarov@yahoo.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4721-0959>.

Olga A. Bashkina, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Faculty Pediatrics, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, E-mail: bashkina1@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4168-4851>.

Marina A. Samotrueva, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, E-mail: ms1506@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5336-4455>.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА MEDICINE



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-7

УДК 616-093/-098

Особенности разнообразия кишечной микробиоты у пациентов пожилого возраста с метаболическими нарушениями (обзор литературы)

П.А. Чижков¹ , С.Н. Лагутина² , Ю.А. Котова² ,
М.Ю. Сыромятников¹ , В.Н. Попов¹ , А.А. Зуйкова²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет»,

Университетская пл., д. 1, г. Воронеж, 394018, 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

Автор для переписки: П.А. Чижков (qooleer@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: В настоящее время во всем мире увеличивается доля пациентов пожилого возраста (на территории Российской Федерации отмечается более 20% пациентов возраста старше 60 лет), большая часть которых страдает хроническими неинфекционными заболеваниями, в том числе и метаболическими нарушениями (сахарный диабет 2 типа, ожирение, дислипидемии). Методы лабораторной диагностики (глюкозо-толерантный тест, определение уровня глюкозы, гликированного гемоглобина, общего холестерина, липопротеидов низкой, высокой плотности, коэффициент атерогенности), широко используемые специалистами различных областей, способны своевременно поставить диагноз. Существует множество теорий, объясняющих развитие патологического процесса при метаболических нарушениях. При атеросклеротическом поражении сосудов большую роль может играть эндотелиальная дисфункция, окислительный стресс. Помимо этого, одним из новых механизмов развития патологического воспаления может являться формирование микробиоты кишечника с преобладанием кластера бактерий, вырабатывающих активные метаболиты (коротко-цепочные жирные кислоты (КЦЖК)) в избыточном количестве, которые являются субстратом для глюконеогенеза и липогенеза, что способствует изменению метаболизма глюкозы и снижению чувствительности тканей к инсулину. Также известно влияние КЦЖК на регуляцию синтеза инкретинов (ГПП-1, ДПП-4), ингибирование которых осуществляют современные сахароснижающие препараты. Изучение родо-видового биоразнообразия может быть новым диагностическим признаком, влияющим на своевременную коррекцию лечебных мероприятий. **Цель исследова-**

ния: Оценить биоразнообразие кишечной микробиоты у пациентов пожилого возраста с метаболическими нарушениями по данным литературных источников. **Материалы и методы:** Проведен обзор и анализ источников литературы в базах данных Scopus, Web of Science, PubMed за последние 5 лет. **Результаты:** Данные о влиянии жизнедеятельности кишечной микробиоты подтверждают ее воздействие на развитие метаболических нарушений у пожилых пациентов, в том числе, определяют новые возможные механизмы развития сахарного диабета 2 типа. В связи с нарушением метаболизма жирных кислот в адипоцитах и гепатоцитах, происходит изменение глюконеогенеза. Основной причиной метаболических нарушений является активная выработка КЦЖК. В следствие этого происходит модуляция экспрессии кишечных каннабиноидов, регулирующих проницаемость слизистой оболочки, что приводит к нарушению секреции инкретинов. **Заключение:** Полученные результаты свидетельствуют о необходимости углубленного изучения микробиоты кишечника у гериатрических пациентов с данной патологией, что может способствовать определению новых подходов в диагностике и лечении.

Ключевые слова: кишечная микробиота; метаболические нарушения; гериатрические пациенты; сахарный диабет; ожирение; дислипидемия

Для цитирования: Чижков ПА, Лагутина СН, Котова ЮА, и др. Особенности разнообразия кишечной микробиоты у пациентов пожилого возраста с метаболическими нарушениями (обзор литературы). Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3):366-382. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-7

Features of intestinal microbiota diversity in elderly patients with metabolic disorders (literature review)

Pavel A. Chizhkov¹ , Svetlana N. Lagutina² , Yuliya A. Kotova² ,
Mikhail Yu. Syromyatnikov¹ , Vasily N. Popov¹ , Anna A. Zuykova² 

¹ Voronezh State University,

1 Universitetskaya Sq., Voronezh, 394018, Russia

² Burdenko Voronezh State Medical University,

10 Studentskaya St., Voronezh, 394036, Russia

Corresponding author: Pavel A. Chizhkov (qooleer@yandex.ru)

Abstract

Background: Currently, the proportion of elderly patients is increasing all over the world (more than 20% of patients over the age of 60 in the Russian Federation), most of whom suffer from chronic non-communicable diseases, including metabolic disorders (type 2 diabetes mellitus, obesity, dyslipidemia). Laboratory diagnostic methods (glucose tolerance test, determination of glucose, glycated hemoglobin, total cholesterol, low- and high-density lipoproteins, atherogenic coefficient), widely used by specialists in various fields, are able to make a diagnosis in a timely manner. There are many theories explaining the development of the pathological process in metabolic disorders. In atherosclerotic vascular lesions, endothelial dysfunction and oxidative stress can play an important role. In addition, one of the new mechanisms for the development of pathological inflammation may be the formation of the intestinal microbiota with a predominance of a cluster of bacteria that produce

active metabolites (short-chain fatty acids (SCFA) in excess, which are a substrate for gluconeogenesis and lipogenesis, which contributes to a change in glucose metabolism and a decrease in tissue sensitivity to insulin. Also known is the effect of SCFA on the regulation of the synthesis of incretins (GLP-1, DPP-4), the inhibition of which is carried out by modern hypoglycemic drugs. The study of genus-species biodiversity can be a new diagnostic feature that affects the timely correction of therapeutic measures. **The aim of the study:** To evaluate the biodiversity of the intestinal microbiota in elderly patients with metabolic disorders according to literature sources. **Materials and methods:** A review and analysis of literature sources in the Scopus, Web of Science, Pubmed databases over the past 5 years was carried out. **Results:** Data on the influence of the vital activity of the intestinal microbiota confirm its impact on the development of metabolic disorders in elderly patients, including identifying new possible mechanisms for the development of type 2 diabetes mellitus. In connection with the violation of the metabolism of fatty acids in adipocytes and hepatocytes, there is a change in gluconeogenesis. The main cause of metabolic disorders is the active production of SCFA. As a result, there is a modulation of the expression of intestinal cannabinoids that regulate the permeability of the mucous membrane, which leads to a violation of the secretion of incretins. **Conclusion:** The results obtained indicate the need for an in-depth study of the intestinal microbiota in geriatric patients with this pathology, which may contribute to the identification of new approaches in diagnosis and treatment.

Keywords: intestinal microbiota; metabolic disorders; geriatric patients; diabetes mellitus; obesity; dyslipidemia

For citation: Chizhkov PA, Lagutina SN, Kotova YuA, et al. Features of intestinal microbiota diversity in elderly patients with metabolic disorders (literature review). Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):366-382. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-7

Введение. Увеличение числа гериатрических пациентов объективно приводит к повышению количества лиц, испытывающих трудности с решением не только социальных, но и медицинских проблем. Коморбидная патология среди пациентов пожилого возраста занимает лидирующие позиции в структуре общей заболеваемости. В среднем, у гериатрического пациента в анамнезе обнаруживается до 5 различных хронических заболеваний неинфекционного генеза, что способствует снижению адаптационных возможностей организма и увеличению случаев инвалидности и преждевременной смерти [1, 2]. Метаболические нарушения оказывают серьезное влияние на течение основного заболевания, что ухудшает качество жизни пациентов. Своевременная диагностика нарушения толерантности к глюкозе, сахарного диабета 2 типа, дислипидемии у лиц пожилого возраста затруднена ввиду отсутствия яркой клинической симптоматики на фоне других хронических заболеваний. Поэтому актуально проводить ранний скрининг на наличие данной патологии

(определение глюкозы, гликированного гемоглобина, проведение глюкозо-толерантного теста, показатели липидного обмена).

Одним из новых механизмов развития может быть изменение качественного и количественного состава микробиоты кишечника. Определение специфических метаболитов микроорганизмов, может говорить о новых патогенетических механизмах развития и прогрессирования метаболических нарушений. Коррекция родового состава микробиоты способна привести к предотвращению развития патологического состояния, характерного для возникновения нарушения сахарного диабета 2 типа [3]. Кишечная микробиота у пожилых людей характеризуется снижением бактерий, которые относятся к роду *Bacteroides*, *Bifidobacteria*, при этом увеличивается число бактерий, относящихся к роду *Firmicutes*, а также к «патогенному кластеру» [4, 5, 6]. Уменьшение числа родового биоразнообразия среди *Bacteroides*, *Prevotella*, *Faecalibacterium*, наряду с увеличением бактерий семейства *Enterobacteriaceae* может

быть ассоциирована со снижением качества жизни у людей пожилого возраста. Факторами, способствующими подобным изменениям микробиоты кишечника у гериатрических пациентов, являются прием лекарственных средств, изменения гормонального статуса, режима и характера питания, хронические заболевания неинфекционного генеза, наличие коморбидной патологии [7].

Кроме того, изменение состава микрофлоры полости рта, происходящие в пожилом возрасте, также способны оказывать прямое влияние на состояние микробиоты желудочно – кишечного тракта (ЖКТ). Исследования, в которых была показана связь между изменениями состава кишечной микробиоты и сахарным диабетом 2 типа, дают возможность предположить, что метаболические маркеры заболевания могут иметь отношение к определению взаимосвязей. Последнее метагеномное исследование также привело к разработке математической модели для идентификации метагеномных маркеров метаболизма. Снижение количества некоторых бутиратпродуцирующих бактерий (например, *Roseburia*, *Faecalibacterium prausnitzii*) и повышение количества условнопатогенных бактерий (*Clostridium clostridioforme*) могут быть потенциально характерным признаком при сниженной толерантности к углеводам и развитию сахарного диабета. Эта гипотеза поддерживается выявлением липополисахаридов грамотрицательных бактерий в крови пациентов с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа. Кроме того, бактериальная ДНК, в основном принадлежащая к типу *Proteobacteria*, была обнаружена в крови пациентов еще до дебюта сахарного диабета. Некоторые роды бактерий, производящие активные метаболиты, тесно связаны с развитием нарушения толерантности к глюкозе, что способствует стремительному развитию сахарного диабета 2 типа у лиц пожилого возраста. Помимо этого, некоторые бактерии активно влияют на повышенную выработку глутамата. Это может указывать на возможные

пути коррекции разнообразия кишечной микробиоты как предиктора развития органической патологии у лиц пожилого возраста [8, 9].

Цель исследования. Оценка биоразнообразия микробиоты кишечника у пациентов пожилого возраста с метаболическими нарушениями по данным литературных источников.

Материалы и методы исследования. Проведен обзор и анализ литературных источников в базах данных Scopus, Web of Science, Pubmed за последние 5 лет.

Результаты и их обсуждение. На основании данных метагеномных исследований, охватывающих несколько континентов, можно подтвердить существование трех энтеротипов в микробиоме кишечника, различающихся по видовому и функциональному составу. Каждый из этих трех энтеротипов может быть идентифицирован по преобладанию одного из трех бактериальных родов: *Bacteroides* (энтеротип – 1), *Prevotella* (энтеротип – 2) и *Ruminococcus* (энтеротип – 3). В энтеротипе 1 доминируют бактерии рода *Bacteroides*, где они составляют 80% экосистемы, что означает отсутствие разнообразия среди других представителей. Другие желчные резистентные роды, присутствующие в этом кластере, включают *Parabacteroides*, *Paraprevotella* и *Odoribacter*, получающих энергию преимущественно за счет ферментации углеводов и белков. Эти микроорганизмы обладают мощным сахаролитическим потенциалом – их геном обогащен генами галактозидаз, гексозаминидаз и протеаз, а также генами ферментов гликолиза и пентозофосфатного пути окисления глюкозы. Данный энтеротип ассоциирован с длительным употреблением животных белков, аминокислот и насыщенных жиров. Энтеротип – 2 обогащен видами, относящимся к роду *Prevotella*, который способен переваривать жесткие пищевые волокна, как ксилан и гемицеллюлоза [10].

У пациентов с метаболическими нарушениями, в том числе и при сахарном диабете 2 типа снижено биоразнообразие ки-

шечной флоры, что может указывать на недостаточную степень компенсации и развитие осложнений заболевания. Влияние кишечной микробиоты способно изменить представление о развитии сахарного диабета 2 типа, что предусматривает новые подходы не только в диагностике, но и в лечении основного заболевания у лиц пожилого возраста.

Одним из основных представителей нормофлоры микробиоты является бактерия *Akkermansia* (*Akkermansia muciniphila*), которая живет в слизистом слое кишечника и обеспечивает неповрежденный барьер энтероцитов [11, 12, 13]. Наличие данной бактерии является показателем здорового метаболизма и связано с улучшением гомеостаза глюкозы, липидного обмена. Исследования, которые показывают низкий уровень *Akkermansia* у пожилых пациентов, могут быть связаны с физиологическими особенностями организма, а также развитием метаболических нарушений (сахарный диабет 2 типа, ожирение) в связи с недостаточной выработкой слизи и большей проницаемостью для других микроорганизмов. Ведущим признаком воспаления является массивная выработка таких метаболитов, как ацетат, пропионат, бутират, запускающих процесс системного воспаления. Бутират способен напрямую активировать экспрессию генов, задействованных в глюконеогенезе в клетках кишечника путем цАМФ-зависимого механизма. Пропионат активирует процесс глюконеогенеза в кишечнике путем взаимодействия с FFAR рецепторами 3 типа, которые расположены в клетках нервной системы [14, 15, 16]. Также выявлено, что отсутствие действия пропионата и бутирата на FFAR рецепторы 3 типа, снижают аппетит, стимулируя выработку инкретинов, останавливают увеличение массы тела и развитие ожирения. На фоне отсутствия экспрессии FFAR3 и FFAR2 может отмечаться стойкий эффект повышения уровня инсулина в крови, что способно напрямую регулировать углевод-

ный обмен. Помимо этого, данный механизм способен влиять на метаболизм желчных кислот, что влечет за собой активное поглощение энергии и нарушение энергетического обмена [17, 18, 19]. Сигнальные молекулы, взаимодействуя с различными внутриклеточными и трансмембранными рецепторами способны снизить экспрессию гена проглюкагона и синтез глюкагоноподобного пептида 1 (ГПП-1). Данный процесс происходит путем активации L-клеток кишечника и прямого влияния на гомеостаз глюкозы, чувствительность тканей к инсулину (Рис. 1) [20, 21, 22]. Таким образом, нарушение гомеостаза глюкозы способно изменяться за счет усиления действия глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1), и улучшение чувствительности к нему имеют терапевтический потенциал при лечении сахарного диабета 2 типа.

Кишечные анаэробные бактерии изменяют выработку синтеза серотонина в кишечнике, продуцируют коротко-цепочные жирные кислоты (КЦЖК), включая ацетат, пропионат и бутират, в качестве основных конечных продуктов путем ферментации неперевариваемых полисахаридов (Рис. 2) [23, 24, 25]. Данные метаболиты вносят примерно 200 ккал / день в энергетический баланс пожилого человека и способствуют липогенезу и накоплению в адипоцитах, что приводит к сбору энергии. Кроме того, более высокие концентрации также могут быть связаны с кардио-метаболическими факторами риска. Состав кишечной микробиоты модулирует биодоступность холина из рациона и накопление проатерогенного метаболита триметиламин-N-оксида (ТМАО), который усугубляет атеросклеротический процесс за счет стимулирования прямого транспорта и ингибирования обратного транспорта холестерина. Кроме того, ТМАО усугубляет нарушенную толерантность к глюкозе, препятствует передаче сигналов печеночного инсулина и способствует воспалению жировой ткани.

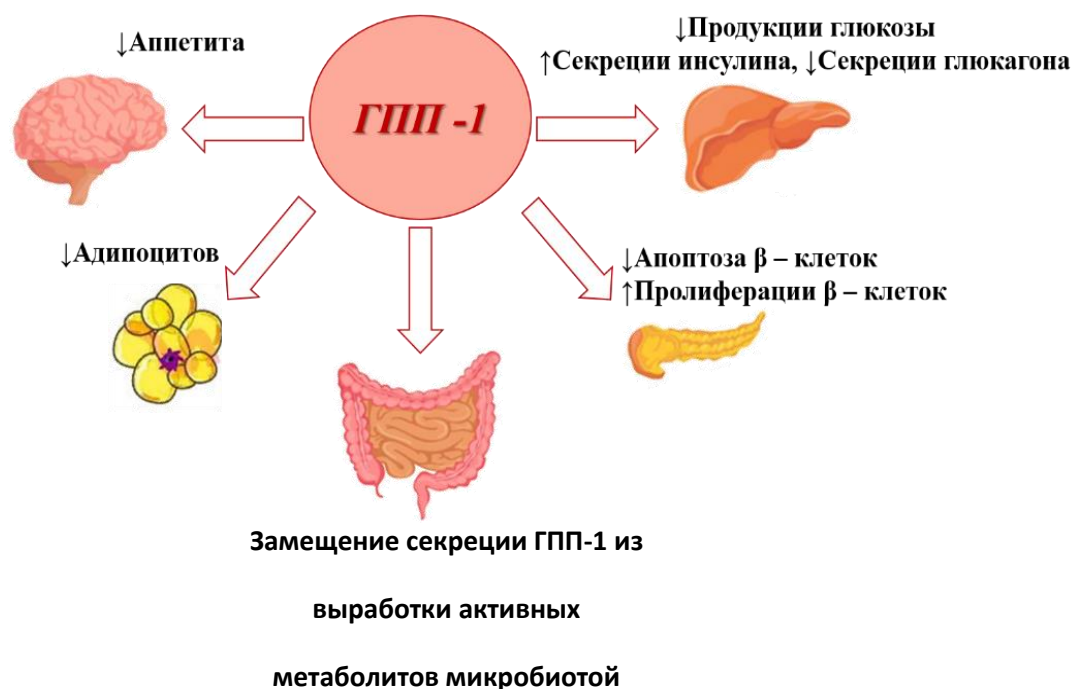


Рис. 1. Действие глюкагоноподобного пептида 1 (ГПП-1)
Fig. 1. Action of glucagon-like peptide 1 (GLP-1)

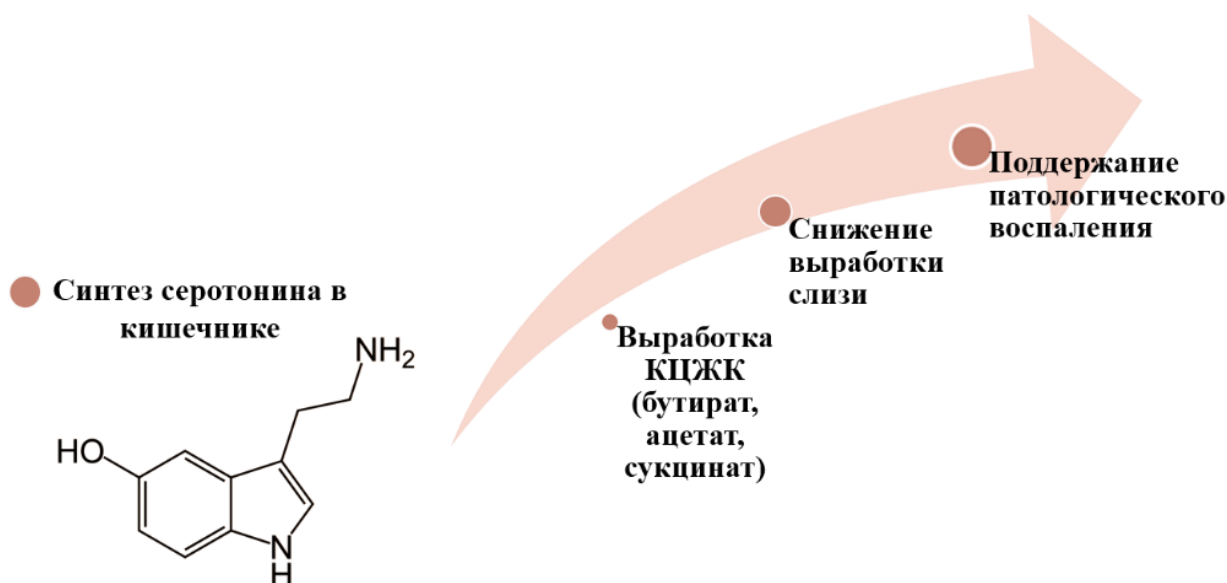


Рис. 2. Потенциальный механизм влияния микробиоты кишечника на воспаление.
Fig. 2. Potential mechanism of gut microbiota influence on inflammation.

Что касается кишечной микробиоты, то некоторые семейства бактерий из типов Firmicutes и Proteobacteria, выделенных из комменсальных бактерий в кишечнике человека, были идентифицированы как потребители холина и карнитина и, следовательно, потенциальные продуценты триме-

тиламин (ТМА). Пути синтеза ТМА в кишечнике были описаны с помощью специфического фермента глицил-радикала (GRE), включая холин-ТМА-лиазу GRE (cutC) и его активатор GRE-активазу (cutD), которая использует холин в качестве субстрата, а также, двухкомпонентная оксиге-

наза / редуктаза типа Риске (cntA / B), которая использует карнитин и его производное γ ВВ в качестве субстрата [26, 27, 28]. Недавнее исследование показало, что ингибирование лиаз ТМА - ферментов, экспрессируемых микробами кишечника, которые превращают холин в ТМА способно снизить атеросклеротическое поражение. ТМАО-опосредованный атеросклероз, скорее всего, происходит несколькими путями. ТМАО усиливает прямой транспорт холестерина в макрофагах за счет активации рецептора CD-36 (кластер дифференцировки 36) и акцептора рецептора А. Также известно, что ТМАО изменяет метаболизм холестерина и желчных кислот в кишечнике, нарушая тем самым основной путь, необходимый для выведения холестерина из организма [29, 30].

Увеличение представителей рода Dorea, может говорить об увеличении кишечной проницаемости за счет усиленного метаболизма сialовых кислот и разложения муцина. Также может отмечаться увеличение значения рода Blautia, который напрямую воздействует на рецепторы, связанные с G – белком (41, 43 типов). Данный род участвует в метаболизме желчных кислот, что способно влиять на углеводный обмен [31]. Высокое значение рода Prevotella, некоторые виды которой могут использовать в качестве источников топлива и клетчатку, и белок достаточно часто встречается у лиц пожилого возраста. В зависимости от диеты и образа жизни, данная бактерия выделяет или полезные, или вредные метаболиты. В сочетании с минимально обработанной пищей с высоким содержанием клетчатки, Prevotella производит полезные КЦЖК, которые могут помочь в поддержании равновесия [32, 33]. Диеты в западном стиле, которые наиболее часто используются пожилыми пациентами, с низким содержанием клетчатки, побуждает Prevotella переключаться на другой источник питания и использовать белок вместо клетчатки. Это приводит к образованию соединений, известных как аминокислоты с разветвленной цепью (BCAA), которые

связаны с метаболическими нарушениями, что увеличивает вероятность развития метаболических заболеваний, в том числе сахарного диабета 2 типа. Это своеобразный биомаркер для раннего выявления инсулинорезистентности и последующего диабетического риска у лиц пожилого возраста [34]. Практическую значимость может иметь и определение Eggerthella lenta. Это обитатель кишечной микробиоты, который может использовать простую сахарную глюкозу, белок и некоторые стероиды для получения энергии, а также производить короткоцепочечный ацетат жирной кислоты, уремические токсины и имидазолпропионат, который может способствовать развитию атеросклеротического процесса, сахарного диабета 2 типа. Увеличение рода Tyzzerella, которое наблюдалось у лиц старше 60 лет, может говорить о возникновении риска заболеваний сердечно-сосудистой системы. В некоторых исследованиях повышенный уровень бактерии наблюдался при наличии атеросклеротических повреждениях, что служит пусковым фактором развития сердечно-сосудистых заболеваний. Также повышенное значение отмечалось у лиц, страдающих избыточной массой тела, сахарным диабетом 2 типа [35, 36, 37].

Уменьшение основных представителей бутиратпродуцирующих микроорганизмов рода Roseburia также наблюдалось у пациентов с метаболическими нарушениями. Бутират является основным источником энергии для клеток, выстилающих кишечник, обладает противовоспалительными свойствами и имеет важное значение для здоровья кишечника. Представители данного рода регулируют иммунную систему и помогают уменьшить воспаление. Низкие значения у пожилых пациентов были ассоциированы с метаболическими нарушениями либо с приемом лекарственных препаратов [38]. Alloprevotella является одним из нормальных кишечных микробов человеческого организма и широко встречается в ротовой полости и пищеварительном тракте, сохраняя при этом стабильность. Относительная численность

Alloprevotella явно снижается в условиях болезни.

Род *Parasutterella* как один из основных компонентов кишечной флоры, часто упоминаемых таксономических единиц кишечных бетапротеобактерий, который может влиять на физиологию хозяина, изменяя ключевые метаболиты. Сукцинат, один из КЦЖК, продуцируемых *Parasutterella*, может способствовать колонизации анаэробными бактериями, поддерживать гомеостаз кишечной микробиоты, стимулировать глюконеогенез и нормализовать уровень глюкозы. *Parasutterella* как продуцент производных пурина, таких как инозин, гипоксантин и ксантин, которые играют роль в регуляции иммунитета хозяина и поддержании стабильности слизистой оболочки кишечника, что очень важно для гериатрического пациента. Представители рода *Subdoligranulum* являются строго анаэробным, не образующим спор, производящим бутират, грамотрицательными микроорганизмами. Серия исследований на людях показала, что увеличение колоний было связано с улучшением метаболического здоровья. Этот род бактерий положительно коррелировал с бактериальным разнообразием микробиоты, а также с уровнями холестерина и ЛПНП и с показателями чувствительности клеток к инсулину [39]. *Phascolarctobacterium* – это грамотрицательная, не образующая спор и строго анаэробная бактерия, впервые выделенная от здорового человека-донора и охарактеризованная как бактерия, утилизирующая сукцинат и в значительной степени продуцирующая ацетат/пропионат. Отмечается повышение у лиц с нарушением толерантности к глюкозе. Группа *Eubacterium ruminantium* представляет собой разновидность грамположительных строго анаэробных бактерий, типичных для нормальной микрофлоры кишечника человека, составляющих значительную часть всех микроорганизмов, населяющих желудочно-кишечный тракт. Некоторые виды могут превращать холестерин в 5 β -копростанол и участвовать в деконъюгации желчных кислот. Многие эубактерии метаболизируют углеводы и пептоны с

накоплением маслянистой, уксусной, муравьиной и других органических кислот, используемых энтероцитами в метаболических процессах. Большинство видов данного рода являются сахаролитическими, то есть способны ферментировать углеводы с накоплением смеси КЦЖК. Отдельные штаммы сахаролитических эубактерий также могут синтезировать витамины, в частности кобаламин, аминокислоты (аланин, валин, изолейцин), расщеплять целлюлозу, участвовать в метаболизме стероидных гормонов. Увеличение показателей данного рода может указывать на развитие метаболических нарушений. Группа *Christensenellaceae* R-7 отвечает за развитие абдоминального ожирения у людей, причем большее влияние наблюдается у пожилых пациентов. Было установлено, что обилие этого рода бактерий отмечается у пациентов с избыточной массой тела [40]. Род *Parabacteroides* также признан основной частью кишечной флоры и выполняет важные физиологические функции у хозяина. Вид *Parabacteroides distasonis* является наиболее изученным штаммом *Parabacteroides* в кишечнике человека, при этом большинство исследований показывают, что данный представитель относительно низок у пациентов с ожирением, нарушением толерантности к глюкозе. *Parabacteroides distasonis* обладает способностью трансформировать желчные кислоты, продуцировать янтарную кислоту и способствовать увеличению желчных кислот, тем самым регулируя метаболизм хозяина. Другие виды *Parabacteroides*, выделенные из кишечника, такие как *Parabacteroides goldsteinii*, имеют аналогичные эффекты [41]. Наряду с этим может отмечаться высокое значение *Megasphaera*, которая является анаэробной бактерией и входит в состав нормальной микрофлоры кишечника. Данная бактерия способна к утилизации лактата и производству полезного бутирата. *Megasphaera* может снижать токсичность лактата при избыточном его производстве. Лактат вырабатывается микробами, колонизирующими кишечник человека, как конечный продукт углеводного брожения. В нормальных

условиях лактат обнаруживается редко, поскольку он быстро превращается другими бактериями в полезные КЦЖК. Накопление лактата может быть серьезным, вызывая нейротоксичность. Накопление лактата в толстом кишечнике снижает pH просвета, разрыхляет ткань кишечника и может вызывать диарею. Секвенировав рибосомные РНК-гены кишечных микробов, исследователи определили обилие определенных групп бактерий, принадлежащих к роду *Megasphaera* у пациентов с преддиабетом. Было показано, что эти бактерии модулируют активность других бактерий и повышают уровень пищевых сахаров в толстой кишке.

Терапевтически значимым может быть и снижение рода *Ruminococcus*. Это бактерия энтеротипа, которая проникает в кишечник, обладает способностью ферментировать сложные углеводы, такие как целлюлоза, пектин и крахмал, а также производит ацетат и пропионат. Род *Ruminococcus* неоднороден и включает как полезные, так и вредные виды. Например, известно, что *Ruminococcus bromii* оказывает благотворное влияние на здоровье, тогда как другие виды *Ruminococcus* обладают провоспалительным действием. Данный вид считается краеугольным камнем микробиома кишечника за его способность разрушать устойчивый крахмал. Он может производить короткоцепочечный ацетат жирных кислот, который другие бактерии, такие как *Agathobacter rectalis* используют для производства КЦЖК, таких как бутират. Исследования показывают, что роль *R. bromii* в качестве основного разрушителя крахмала помогает стимулировать рост видов бактерий, продуцирующих бутират. Наряду с этим, имеются убедительные доказательства, подтверждающие связь между *Erysipelotrichaceae* и метаболизмом липидов хозяина, что требует дополнительного изучения метаболических профилей этих организмов и их влияния на хозяина. Сообщалось о частичной потере биосинтеза жирных кислот в геномах некоторых представителей *Erysipelotrichaceae*. Кроме того,

обнаружение того, что специфические таксоны внутри *Erysipelotrichaceae* могут коррелировать с хроническим воспалением, в то время как другие являются высокоиммунотогенными штаммами, добавляет вес к важности правильной характеристики этого бактериального семейства и может, в конечном итоге, предоставить микробные мишени для борьбы с метаболическими нарушениями. Тем не менее, стоит отметить, что современные данные, связывающие это бактериальное семейство с заболеванием, являются коррелятивными, и необходимы исследования, посвященные прямому влиянию изменений в численности *Erysipelotrichaceae* на хозяина.

Увеличение кластера сульфатредуцирующих бактерий (*Bilophila*, *Desulfovibrio*) может говорить о высоком содержании ЛПНП, общего холестерина, глюкозы. Данные бактерии обладают способностью осуществлять восстановление сульфата с образованием сероводорода (H_2S). *Bilophila*, *Desulfovibrio* обладают способностью связываться с муцином слизистого барьера толстой кишки человека, используя его в качестве субстрата для производства сероводорода. Сероводород является цитотоксичным соединением, а некоторые штаммы синтезируют магнетит, который, вероятно, может вызывать олигомеризацию и агрегацию белка α -синуклеина. Повышенный уровень сероводорода способствует нарушению кишечного барьера, системному воспалению, дисметаболизму желчных кислот и изменению метаболического профиля. Кроме того, чрезмерный рост данных бактерий может вызвать дисфункцию барьера слизистой оболочки толстой кишки, влияя на метаболизм бутирата - основного энергетического вещества для эпителия толстой кишки. Чрезмерный рост H_2S -продуцирующих бактерий представляет очевидную угрозу этой барьерной функции, поскольку сульфиды нарушают окисление бутирата [42].

Помимо этого, наиболее часто встречается увеличение представителей патогенной флоры, что может быть связано с ослаб-

ленным иммунитетом хозяина старшей возрастной группы. Возможно нахождение *Campylobacter* в организме в качестве носителя без проявления клинической симптоматики. При неблагоприятных условиях вызывает клиническую картину острой кишечной инфекции, осложнениями которой может быть воспаление парных суставов – лодыжек, коленей, запястья, мелких суставов рук и синдром Гийена-Барре. Наиболее распространенный возбудитель гастроэнтеритов среди представителей рода – *Campylobacter jejuni*. Еще один вид *Campylobacter ureolyticus* – новый важный желудочно-кишечный патоген. Заболеваемость может быть связана с пациентами с иммунными нарушениями, причем случаи заболевания выявляются у пациентов с ослабленным иммунитетом и сахарным диабетом 2 типа. Увеличение рода *Megamonas*, который может использовать несколько моносахаридов, таких как арабиноза, глюкоза и ксилоза. Конечными продуктами метаболизма являются пропионовая и уксусная кислоты, а также небольшие количества молочной и янтарной кислот. В некоторых исследованиях была ассоциация с изменениями в жировом и углеводном обменах пациентов. При этом синтез желчных кислот повышался при усугублении тяжести основного заболевания и наблюдался у лиц, страдающих ожирением. Желчные кислоты имеют решающее значение для эмульгирования липидов и поддержания гомеостаза глюкозы в печени, и они оказывают сильное противомикробное действие благодаря своим детергентным свойствам, которые, вероятно, изменяют среду кишечной микробиоты, подавляя рост восприимчивых бактерий. Несмотря на то, что толерантность к желчным кислотам проявляется штаммоспецифическим свойством, грамотрицательные бактерии, как правило, более устойчивы к противомикробным эффектам желчных кислот, чем грамположительные бактерии. Данная бактерия регулирует содержание жира в печени и состав видов липидов, а также уменьшает воспаление жировой ткани у мышей с высоким содержанием жира [43]. Обнаружение

Klebsiella в желудочно-кишечном тракте пожилого человека, в общем случае, не требует лечения. Она является нормальным представителем микробиоты кишечника, когда определяется в пределах нормы. Способна вызвать клинические проявления болезни только при большом количестве. При нарушении функционирования органов ЖКТ или в результате внешних воздействий, а также антибиотикотерапии побочным действием которой является подавление основных представителей нормальной микрофлоры, тормозящих чрезмерный рост патогена, возможно значительное увеличение количества *Klebsiella* в организме и развитие инфекции.

В повышенном количестве может приводить к развитию колита, а также может быть маркером хронического панкреатита, часто встречающегося у пациентов с измененным углеводным обменом, других метаболических нарушений. Часто ее избыток связано с заболеваниями в популяции пациентов с артериальной гипертензией. Выявление *Enterobacter* в повышенном значении может говорить о развитии метаболических нарушений. В небольшом количестве бактерия встречается в ротовой полости и кишечнике здоровых людей. Повышение представленности и попадание *Enterobacter* в другие органы может вызывать воспалительный процесс, во многом, за счет производства мощных эндотоксинов. Это потенциальная причина развития воспаления органов ЖКТ и мочевыводящих путей, особенно у лиц пожилого возраста. Некоторые виды бактерий участвуют в развитии метаболического синдрома. Недавние исследования показали, что вид *Enterobacter cloacae* B-29 в кишечнике может способствовать развитию ожирения у пациента. *Enterobacter cloacae* – наоборот, индуцирует развитие ожирения и резистентность к инсулину, но при этом может являться пусковым фактором при обострении хронических заболеваний. *Enterobacter* участвует в изменении липометаболизма, включая лептин-резистентный фенотип, повышенную экспрессию ацетил-КоА-кар-

боксиллазы 1 типа, синтетазы жирных кислот и ген-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом в печени. Различные виды *Enterobacter*, по своей природе, устойчивы к большинству антибактериальных препаратов: ампициллину, амоксициллину, амоксициллин-клавуланату, цефалоспорином первого поколения и цефокситину, благодаря продукции конститутивной бета-лактамазы, что усугубляет лечебные мероприятия у пожилых пациентов в отношении бактериальных инфекций. Это позволяет им выживать и разрастаться в кишечнике людей, получавших данные группы антибактериальных препаратов [44]. *Enterobacter* также могут быть связаны с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний. Наряду с *Enterobacter*, бактерии рода *Citrobacter* – грамотрицательные типичные обитатели микрофлоры кишечника. Обладают устойчивостью к ампициллину.

Citrobacter, как и *Enterobacter*, также связаны с ТМАО производством, что может являться основным фактором риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний и прогрессирования атеросклеротического процесса. В пределах рода *Citrobacter* существует 12 признанных видов, три из которых являются патогенными бактериями человека. Оказалось, что пожилые люди были наиболее подвержены риску инфицирования данной бактерии [45].

Заключение. Полученные сведения о влиянии жизнедеятельности микробиоты и метаболитов подтверждают их воздействие на процесс нарушения углеводного и липидного обменов, а также свидетельствуют о необходимости углубленного изучения биоразнообразия кишечной флоры у пациентов гериатрического профиля с коморбидной патологией. Данные особенности способны выявить новые механизмы возникновения сахарного диабета, дислипидемий, что может привести к усовершенствованию способов диагностического поиска заболеваний, коррекции проводимого лечения, предотвращению развития осложненных форм, улучшению качества жизни пациентов гериатрического профиля.

Информация о финансировании

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (в рамках национального проекта «Наука» (проект FZGW-2020-0001), уникальный номер реестра государственных заданий 075001X39782002).

Financial support

The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (within the framework of the national project "Science" (Project FZGW-2020-0001), unique number of the Register of State Assignments 075001X39782002).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Ozato N, Saito S, Yamaguchi T, et al. *Blautia* genus associated with visceral fat accumulation in adults 20-76 years of age. *npj Biofilms and Microbiomes*. 2019;5(1):28. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0101-x>
2. Hernández-Luengo M, Álvarez-Bueno C, Martínez-Hortelano JA, et al. The relationship between breastfeeding and motor development in children: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews*. 2022;80(8):1827-1835. DOI: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuac013>
3. Zheng Y, Ley S, Hu F. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*. 2018;14(2):88-98. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>
4. Zhang Y, Lin C, Chen R, et al. Association analysis of SOCS3, JAK2 and STAT3 gene polymorphisms and genetic susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Chinese population. *Diabetology and Metabolic Syndrome*. 2022;14(1):4. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00774-w>
5. Hillman ET, Lu H, Yao T, et al. Microbial ecology along the gastrointestinal tract. *Microbes and Environments*. 2017;32(4):300-313. DOI: <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME17017>
6. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nature Reviews*

- Microbiology. 2021;19:55-71. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0433-9>
7. Berg G, Rybakova D, Fischer D, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. 2020;8(1):103. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
8. Amabebe E, Robert FO, Agbalalah T, et al. Microbial dysbiosis-induced obesity: role of gut microbiota in homeostasis of energy metabolism. *British Journal of Nutrition*. 2020;123(10):1127-1137. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114520000380>
9. Cryan JF, O'Riordan KJ, Cowan CSM, et al. The microbiota-gut-brain axis. *Physiological Reviews*. 2019;99(4):1877-2013. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
10. Ni J, Wu GD, Albenberg L, et al. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2017;14(10):573-584. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.88>
11. Kitamoto S, Nagao-Kitamoto H, Jiao Y, et al. The intermucosal connection between the mouth and gut in commensal pathobiont-driven colitis. *Cell*. 2020;182(2):447-462. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.048>
12. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, et al. A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell*. 2016;167(5):1339-1353. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.043>
13. Gallo A, Passaro G, Gasbarrini A, et al. Modulation of microbiota as treatment for intestinal inflammatory disorders: an update. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(32):7186-7202. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i32.7186>
14. Zhang Z, Mocanu V, Cai C, et al. Impact of fecal microbiota transplantation on obesity and metabolic syndrome – a systematic review. *Nutrients*. 2019;11(10):2291. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu11102291>
15. Wu H, Esteve E, Tremaroli V, et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naïve type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nature Medicine*. 2017;23(7):850-858. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.4345>
16. Mohajeri MH, Brummer RJM, Rastall RA, et al. The role of the microbiome for human health: From basic science to clinical applications. *European Journal of Nutrition*. 2018;57:1-14. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1703-4>
17. Stremmel W, Schmidt KV, Schuhmann V, et al. Blood trimethylamine-N-oxide originates from microbiota mediated breakdown of phosphatidylcholine and absorption from small intestine. *PLoS ONE*. 2017;12(1):e0170742. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170742>
18. Dumas ME, Rothwell AR, Hoyles L, et al. Microbial-host co-metabolites are prodromal markers predicting phenotypic heterogeneity in behavior, obesity, and impaired glucose tolerance. *Cell Reports*. 2017;20(1):136-148. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.06.039>
19. Wahlström A, Sayin SI, Marschall HU, et al. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism. *Cell Metabolism*. 2016;24(1):41-50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.005>
20. Allin KH, Tremaroli W, Caesar R, et al. Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. *Diabetologia*. 2018;61(4):810-820. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4550-1>
21. Ottosson P, Brankvoll L, Erickson U, et al. Relationship between BMI-associated plasma metabolite profile and gut microbiota. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2018;103(4):1491-1501. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2017-02114>
22. Thomas C, Gioiello A, Noriega L, et al. TGR5-Mediated Bile Acid Sensing Controls Glucose Homeostasis. *Cell Metabolism*. 2009;10(3):167-177. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.08.001>
23. Покровская ЕВ, Шамхалова МШ, Шестакова МВ. Новые взгляды на состояние кишечной микробиоты при ожирении и сахарном диабете 2 типа. *Сахарный диабет*. 2019;22(3):253-262. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM10194>
24. Koeth R, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine*. 2013;19(5):576-585. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.3145>
25. Caparros E, Wist R, Charles M, et al. Dysbiotic microbiota interactions in Crohn's disease. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1949096. DOI: <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1949096>
26. Anand S, Kaur H, Mande SS. Comparative In Silico Analysis of Butyrate Production Pathways in Gut Commensals and Pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:1945. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01945>

27. Deng K, Shuai M, Zhang Z, et al. Temporal Relationship among Adiposity, Gut Microbiota, and Insulin Resistance in a Longitudinal Human Cohort. *BMC Medicine*. 2022;20:171. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02376-3>
28. Kaplan RC, Wang Z, Usyk M, et al. Gut Microbiome Composition in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos Is Shaped by Geographic Relocation, Environmental Factors, and Obesity. *Genome Biology*. 2019;20:219. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1831-z>
29. Pedrego DAM, Jensen MD, Van Dyke CT, et al. Gut Microbial Carbohydrate Metabolism Hinders Weight Loss in Overweight Adults Undergoing Lifestyle Intervention with a Volumetric Diet. *Mayo Clinic Proceedings*. 2018;93(8):1104-1110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.02.019>
30. Liu F, Li P, Chen M, et al. Fructooligosaccharide (FOS) and Galactooligosaccharide (GOS) Increase Bifidobacterium but Reduce Butyrate Producing Bacteria with Adverse Glycemic Metabolism in Healthy Young Population. *Scientific Reports*. 2017;7:11789. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10722-2>
31. Wang TY, Zhang XQ, Chen AL, et al. A Comparative Study of Microbial Community and Functions of Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Obesity and Healthy People. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020;104:7143-7153. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10689-7>
32. Шендеров БА, Юдин СМ, Загайнова АВ, и др. Роль комменсальной кишечной микробиоты в этиопатогенезе хронических воспалительных заболеваний: *Akkermansia muciniphila*. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;11:4-13.
33. Ситкин СИ, Вахитов ТЯ, Ткаченко ЕИ, и др. Микробиота кишечника при язвенном колите и целиакии. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2017;1:8-30.
34. Ситкин СИ, Вахитов ТЯ, Демьянова ЕВ. Микробиом, дисбиоз толстой кишки и воспалительные заболевания кишечника: когда функция важнее таксономии. *Альманах клинической медицины*. 2018;46(5):396-425. DOI: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2018-46-5-396-425>
35. Ким АД, Лепехова СА, Чашкова ЕЮ, и др. Результаты оценки микробиоты в условиях экспериментального язвенного поражения толстой кишки. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(1):59-66. DOI: <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-59-66>
36. Ковалева АЛ, Ульянин АИ, Киселева ОЮ, и др. Прукалоприд и мультиштаммовый пробиотик в разрешении автономной кишечной нейропатии у пациентов, находящихся в критическом состоянии (Клинический разбор). *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2018;28(3):88-100. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2018-28-3-88-100>
37. Лагутина СН, Зуйкова АА, Добрынина ИС, и др. Особенности микробиома кишечника у пациентов с ишемической болезнью сердца и метаболическими нарушениями. *Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья*. 2022;87:20-24.
38. Мелихова СП, Зуйкова АА, Шевцова ВИ. Расчет индексов коморбидности при сахарном диабете 2 типа как осложнение метаболического синдрома. *Молодежный инновационный вестник*. 2018;7(S1):68-69.
39. Хавкин АИ, Волюнец ГВ, Никитин АВ. Взаимосвязь кишечного микробиома и метаболизма желчных кислот. *Вопросы практической педиатрии*. 2020;15(1):53-60. DOI: <https://doi.org/10.20953/1817-7646-2020-1-53-60>
40. Плотникова ЕЮ, Краснов ОА. Микробный пейзаж кишечника и метаболический синдром – что общего? *Вестник клуба панкреатологов*. 2016;12(112):64-73.
41. Фадеенко ГД, Никифорова ЯВ. Микробиом человека: общая информация и клиническое значение эубиоза пищеварительного канала. *Современная гастроэнтерология*. 2019;5(109):65-74. DOI: <https://doi.org/10.30978/MG-2019-5-65>
42. Hurt RT, Wilson T. Geriatric obesity: evaluating the evidence for the use of flavonoids to promote weight loss. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*. 2012;31(3):269-289. DOI: <https://doi.org/10.1080/21551197.2012.698222>
43. Etcheberria U, Arias N, Boqué N, et al. Reshaping faecal gut microbiota composition by the intake of trans-resveratrol and quercetin in high-fat sucrose diet-fed rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2017;26(6):651-660. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.01.002>
44. Zhao M, Cai H, Jiang Z, et al. Glycerol-Monolaurate-Mediated Attenuation of Metabolic Syndrome is Associated with the Modulation of Gut Microbiota in High-Fat-Diet-Fed Mice. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2019;63(18):e1801417. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801417>

45. Kelly JR, Clarke G, Cryan JF, et al. Brain-gut-microbiota axis: challenges for translation in psychiatry. *Annals of Epidemiology*. 2016;26(5):366-372. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2016.02.008>

References

1. Ozato N, Saito S, Yamaguchi T, et al. Blautia genus associated with visceral fat accumulation in adults 20-76 years of age. *npj Biofilms and Microbiomes*. 2019;5(1):28. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0101-x>
2. Hernández-Luengo M, Álvarez-Bueno C, Martínez-Hortelano JA, et al. The relationship between breastfeeding and motor development in children: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews*. 2022;80(8):1827-1835. DOI: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuac013>
3. Zheng Y, Ley S, Hu F. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*. 2018;14(2):88-98. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>
4. Zhang Y, Lin C, Chen R, et al. Association analysis of SOCS3, JAK2 and STAT3 gene polymorphisms and genetic susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Chinese population. *Diabetology and Metabolic Syndrome*. 2022;14(1):4. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00774-w>
5. Hillman ET, Lu H, Yao T, et al. Microbial ecology along the gastrointestinal tract. *Microbes and Environments*. 2017;32(4):300-313. DOI: <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME17017>
6. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nature Reviews Microbiology*. 2021;19:55-71. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0433-9>
7. Berg G, Rybakova D, Fischer D, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. 2020;8(1):103. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
8. Amabebe E, Robert FO, Agbalalah T, et al. Microbial dysbiosis-induced obesity: role of gut microbiota in homeostasis of energy metabolism. *British Journal of Nutrition*. 2020;123(10):1127-1137. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114520000380>
9. Cryan JF, O'Riordan KJ, Cowan CSM, et al. The microbiota-gut-brain axis. *Physiological Reviews*. 2019;99(4):1877-2013. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
10. Ni J, Wu GD, Albenberg L, et al. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2017;14(10):573-584. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.88>
11. Kitamoto S, Nagao-Kitamoto H, Jiao Y, et al. The intermucosal connection between the mouth and gut in commensal pathobiont-driven colitis. *Cell*. 2020;182(2):447-462. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.048>
12. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, et al. A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell*. 2016;167(5):1339-1353. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.043>
13. Gallo A, Passaro G, Gasbarrini A, et al. Modulation of microbiota as treatment for intestinal inflammatory disorders: an update. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(32):7186-7202. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i32.7186>
14. Zhang Z, Mocanu V, Cai C, et al. Impact of fecal microbiota transplantation on obesity and metabolic syndrome – a systematic review. *Nutrients*. 2019;11(10):2291. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu11102291>
15. Wu H, Esteve E, Tremaroli V, et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naïve type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nature Medicine*. 2017;23(7):850-858. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.4345>
16. Mohajeri MH, Brummer RJM, Rastall RA, et al. The role of the microbiome for human health: From basic science to clinical applications. *European Journal of Nutrition*. 2018;57:1-14. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1703-4>
17. Stremmel W, Schmidt KV, Schuhmann V, et al. Blood trimethylamine-N-oxide originates from microbiota mediated breakdown of phosphatidylcholine and absorption from small intestine. *PLoS ONE*. 2017;12(1):e0170742. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170742>
18. Dumas ME, Rothwell AR, Hoyle L, et al. Microbial-host co-metabolites are prodromal markers predicting phenotypic heterogeneity in behavior, obesity, and impaired glucose tolerance. *Cell Reports*. 2017;20(1):136-148. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.06.039>
19. Wahlström A, Sayin SI, Marschall HU, et al. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism. *Cell Metabolism*. 2016;24(1):41-50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.005>
20. Allin KH, Tremaroli W, Caesar R, et al. Aberrant intestinal microbiota in individuals with

prediabetes. *Diabetologia*. 2018;61(4):810-820. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4550-1>

21. Ottosson P, Brankvoll L, Erickson U, et al. Relationship between BMI-associated plasma metabolite profile and gut microbiota. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2018;103(4):1491-1501. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2017-02114>

22. Thomas C, Gioiello A, Noriega L, et al. TGR5-Mediated Bile Acid Sensing Controls Glucose Homeostasis. *Cell Metabolism*. 2009;10(3):167-177. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.08.001>

23. Pokrovskaya EV, Shamkhalova MS, Shestakova MV. The new views on the state of the gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes mellitus*. 2019;22(3):253-262. Russian. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM10194>

24. Koeth R, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine*. 2013;19(5):576-585. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.3145>

25. Caparros E, Wist R, Charles M, et al. Dysbiotic microbiota interactions in Crohn's disease. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1949096. DOI: <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1949096>

26. Anand S, Kaur H, Mande SS. Comparative In Silico Analysis of Butyrate Production Pathways in Gut Commensals and Pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:1945. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01945>

27. Deng K, Shuai M, Zhang Z, et al. Temporal Relationship among Adiposity, Gut Microbiota, and Insulin Resistance in a Longitudinal Human Cohort. *BMC Medicine*. 2022;20:171. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02376-3>

28. Kaplan RC, Wang Z, Usyk M, et al. Gut Microbiome Composition in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos Is Shaped by Geographic Relocation, Environmental Factors, and Obesity. *Genome Biology*. 2019;20:219. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1831-z>

29. Pedrogo DAM, Jensen MD, Van Dyke CT, et al. Gut Microbial Carbohydrate Metabolism Hinders Weight Loss in Overweight Adults Undergoing Lifestyle Intervention with a Volumetric Diet. *Mayo Clinic Proceedings*. 2018;93(8):1104-1110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.02.019>

30. Liu F, Li P, Chen M, et al. Fructooligosaccharide (FOS) and Galactooligosaccharide (GOS) Increase Bifidobacterium but Reduce Butyrate Producing Bacteria with Adverse Glycemic

Metabolism in Healthy Young Population. *Scientific Reports*. 2017;7:11789. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10722-2>

31. Wang TY, Zhang XQ, Chen AL, et al. A Comparative Study of Microbial Community and Functions of Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Obesity and Healthy People. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020;104:7143-7153. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10689-7>

32. Shenderov BA, Yudin SM, Zagaynova AV, et al. The role of commensal gut bacteria in the aetiopathogenesis of inflammatory bowel disease: *Akkermansia muciniphila*. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2018;11:4-13. Russian.

33. Sitkin SI, Vakhitov TY, Tkachenko EI, et al. Gut microbiota in ulcerative colitis and celiac disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2017;1:8-30. Russian.

34. Sitkin SI, Vakhitov TYa, Demyanova EV. Microbiome, gut dysbiosis and inflammatory bowel disease: That moment when the function is more important than taxonomy. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(5):396-425. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2018-46-5-396-425>

35. Kim AD, Lepekhova SA, Chashkova EY, et al. Results of the microbiota assessment in experimental ulcerative colitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021;20(1):59-66. Russian. DOI: <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-59-66>

36. Kovaleva AL, Ulyanin AI, Kiselyova OYu, et al. Treatment of autonomous intestinal neuropathy in critical care by prucalopride and multistrain probiotic. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2018;28(3):88-100. Russian. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2018-28-3-88-100>

37. Lagutina SN, Zuykova AA, Dobrynina IS, et al. Features of the intestinal microbiome in patients with coronary heart disease and metabolic disorders. *Scientific and Medical Bulletin of the Central Chernozem Region*. 2022;87:20-24. Russian.

38. Melikhova SP, Zuykova AA, Shevtsova VI. Calculation of comorbidity indices in type 2 diabetes mellitus as a complication of the metabolic syndrome. *Molodezhnyy innovatsionnyy vestnik*. 2018;7(S1):68-69. Russian.

39. Khavkin AI, Volynets GV, Nikitin AV. The relationship of the gut microbiome and metabolism of bile acids. *Clinical Practice in Pediatrics*. 2020;15(1):53-60. Russian. DOI: <https://doi.org/10.20953/1817-7646-2020-1-53-60>

40. Plotnikova EY, Krasnov OA. Gut microbial landscape and metabolic syndrome – what do they have in common? *Vestnik kluba pankreatologov*. 2016;12(112):64-73. Russian.

41. Fadienkov GD, Nikiforova YaV. Human microbiome: general information and clinical significance of digestive canal eubiosis. *Sovremennaya gastroenterologiya*. 2019;5(109):65-74. Russian. DOI: <https://doi.org/10.30978/MG-2019-5-65>

42. Hurt RT, Wilson T. Geriatric obesity: evaluating the evidence for the use of flavonoids to promote weight loss. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*. 2012;31(3):269-289. DOI: <https://doi.org/10.1080/21551197.2012.698222>

43. Etcheberry U, Arias N, Boqué N, et al. Reshaping faecal gut microbiota composition by the intake of trans-resveratrol and quercetin in high-fat sucrose diet-fed rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2017;26(6):651-660. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.01.002>

44. Zhao M, Cai H, Jiang Z, et al. Glycerol-Monolaurate-Mediated Attenuation of Metabolic Syndrome is Associated with the Modulation of Gut Microbiota in High-Fat-Diet-Fed Mice. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2019;63(18):e1801417. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801417>

45. Kelly JR, Clarke G, Cryan JF, et al. Brain-gut-microbiota axis: challenges for translation in psychiatry. *Annals of Epidemiology*. 2016;26(5):366-372. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2016.02.008>

Статья поступила в редакцию 24 августа 2022 г.

Поступила после доработки 10 ноября 2022 г.

Принята к печати 25 декабря 2022 г.

Received 24 August 2022

Revised 10 November 2022

Accepted 25 December 2022

Информация об авторах

Павел Андреевич Чижков, аспирант по научной специальности 1.5.7 – Генетика ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, Российская Федерация, E-mail: qooleer@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5626-0579>.

Светлана Николаевна Лагутина, ординатор по научной специальности 31.08.54 – Общая врачебная практика ФГБОУ ВО «Воронежский

государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», г. Воронеж, Российская Федерация, E-mail: svlagutina97@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3730-5265>.

Юлия Александровна Котова, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой клинично-лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», г. Воронеж, Российская Федерация, E-mail: kotova_u@inbox.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0236-2411>.

Михаил Юрьевич Сыромятников, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры генетики, цитологии и биоинженерии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, Российская Федерация, E-mail: mihan.vrn@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9028-0613>.

Василий Николаевич Попов, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой генетики, цитологии и биоинженерии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, Российская Федерация, E-mail: pvu@bio.vsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1294-8686>.

Анна Александровна Зуйкова, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой поликлинической терапии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», г. Воронеж, Российская Федерация, E-mail: zuikova@vrngmu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5378-4959>.

Information about the authors

Pavel A. Chizhkov, Post-graduate Student in Scientific Specialty 1.5.7 – Genetics, Voronezh State University, Voronezh, Russia, E-mail: qooleer@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5626-0579>.

Svetlana N. Lagutina, Resident in Scientific Specialty 31.08.54 – General Medical Practice, Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia, E-mail: svlagutina97@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3730-5265>.

Yuliya A. Kotova, Doct. Sci. (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Clinical and Laboratory Diagnostics, Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia, E-mail: kotova_u@inbox.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0236-2411>.

Mikhail Yu. Syromyatnikov, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Associate Professor at

the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Voronezh, Russia, E-mail: mihan.vrn@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9028-0613>.

Vasily N. Popov, Doct. Sci. (Biology), Professor, Head of the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University,

Voronezh, Russia, E-mail: pvn@bio.vsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1294-8686>.

Anna A. Zuykova, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Polyclinic Therapy, Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia, E-mail: zuikova@vrngmu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5378-4959>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-8

УДК 612.135:611.77:616.397.008.6-053

Биологический возраст как фактор риска офтальмологических осложнений при сахарном диабете 2-го типа

Н.М. Агарков^{1,2} , И.В. Лев² , А.Е. Копылов²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Юго-Западный государственный университет», ул. 50 лет Октября, д. 94, г. Курск, 305040, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», Рассказовское шоссе, д. 1, г. Тамбов, 392000, Российская Федерация
Автор для переписки: Н.М. Агарков (vitalaxen@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Увеличение заболеваемости сахарным диабетом 2-го типа во многих странах одновременно сопровождается повышением частоты диабетической ретинопатии, представляющей наиболее опасное осложнение сахарного диабета 2-го типа. Одним из способствующих факторов развития диабетической ретинопатии может выступать биологический возраст, но последний остается неизученным у таких пациентов. **Цель исследования:** Изучение биологического возраста как фактора риска офтальмологических осложнений при сахарном диабете 2-го типа. **Материалы и методы:** Среди 580 пациентов 45-59 лет с диабетической ретинопатией при сахарном диабете 2-го типа определяли биологический возраст по методике Войтенко В. П. и др. [1984]. Сформировано три группы: пациенты с соответствием биологического и хронологического возраста ($n=124$), с превышением биологического возраста хронологического ($n=357$) и с превышением хронологического возраста биологического ($n=99$). В последующем анализе рассматривались первые две группы. В работе использованы критерий χ^2 и дискриминантный метод. **Результаты:** Среди пациентов 45-59 лет с сахарным диабетом 2-го типа с превышением биологического возраста величины хронологического распространенность диабетической ретинопатии составляла $19,82 \pm 1,32$ случаев на 100 обследованных, тогда как среди пациентов 45-59 лет с сахарным диабетом 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста – $10,24 \pm 1,51$ случаев на 100 обследованных. Хронологический возраст диагностирования диабетической ретинопатии в группе пациентов с превышением биологического возраста над хронологическим оказался более молодым – $47,69 \pm 1,24$ лет против $50,23 \pm 0,92$ лет в группе с соответствием биологического и хронологического возраста ($p < 0,01$). Напротив, биологический возраст диагностирования диабетической ретинопатии в группе с превышением биологического возраста хронологического достоверно больше – $56,13 \pm 0,83$ лет, чем в группе сравнения – $49,61 \pm 1,11$ лет ($p < 0,001$). Посредством дискриминантного метода и с учетом параметров биологического возраста разработаны дискриминантные модели, обеспечивающие дифференциацию названных пациентов. **Заключение:** Превышение биологического возраста хронологического является значимым фактором риска

офтальмологических осложнений сахарного диабета 2-го типа – диабетической ретинопатии в 45-59 лет.

Ключевые слова: биологический возраст; хронологический возраст; сахарный диабет; зрелый возраст; офтальмологическое осложнение; диабетическая ретинопатия; факторы риска

Для цитирования: Агарков НМ, Лев ИВ, Копылов АЕ. Биологический возраст как фактор риска офтальмологических осложнений при сахарном диабете 2-го типа. Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3):383-392. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-8

Biological age as a risk factor for ophthalmological complications in type 2 diabetes mellitus

Nikolay M. Agarkov¹ , Inna V. Lev² , Andrey E. Kopylov² 

¹ Southwest State University,

94 50 Let Oktyabrya St., Kursk, 305040, Russia

² Academician S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution,

1 Rasskazovskoe highway, Tambov, 392000, Russia

Corresponding author: Nikolay M. Agarkov (vitalaxen@mail.ru)

Abstract

Background: An increase in the incidence of type 2 diabetes mellitus in many countries is simultaneously accompanied by an increase in the frequency of diabetic retinopathy, which is the most dangerous complication of type 2 diabetes mellitus. Biological age may be one of the contributing factors in the development of diabetic retinopathy, but the latter remains unexplored in such patients. **The aim of the study:** To study the biological age as a risk factor for ophthalmic complications in type 2 diabetes mellitus. **Materials and methods:** Among 580 45-59-year-old patients with diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus, the biological age was determined by the method of Voitenko V.P. et al. [1984]. Three groups were formed: patients with matching biological and chronological age (n=124), with exceeding the chronological biological age (n=357) and with exceeding the biological chronological age (n=99). In the subsequent analysis, the first two groups were considered. The X2 criterion and the discriminant method were used in the work. **Results:** Among 45-59-year-old patients with type 2 diabetes mellitus with an excess of the biological age of the chronological value, the prevalence of diabetic retinopathy was 19.82 ± 1.32 cases per 100 examined, whereas among 45-59-year-old patients with type 2 diabetes mellitus with a correspondence of biological and chronological age – 10.24 ± 1.51 cases per 100 examined. The chronological age of diagnosis of diabetic retinopathy in the group of patients with an excess of biological age over chronological age was younger – 47.69 ± 1.24 years versus 50.23 ± 0.92 years in the group with a correspondence of biological and chronological age ($p < 0.01$). On the contrary, the biological age of diagnosis of diabetic retinopathy in the group with an excess of the chronological biological age is significantly greater – 56.13 ± 0.83 years than in the comparison group – 49.61 ± 1.11 years ($p < 0.001$). By means of the discriminant method and taking into account the parameters of biological age, discriminant models have been developed to ensure the differentiation of these patients. **Conclusion:** Exceeding the chronological biological age is a significant risk factor for ophthalmological complications of type 2 diabetes mellitus – diabetic retinopathy in 45-59 years.

Keywords: biological age; chronological age; diabetes mellitus; mature age; ophthalmological complication; diabetic retinopathy risk factors

For citation: Agarkov NM, Lev IV, Kopylov AE. Biological age as a risk factor for ophthalmological complications in type 2 diabetes mellitus. Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):383-392. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-8

Ведение. Увеличение заболеваемости сахарным диабетом (СД) 2-го типа среди взрослого трудоспособного населения происходит в настоящее время во многих странах. Согласно опубликованным данным Международной федерации диабета, количество пациентов с СД в мире достигло 463 миллионов, что опередило ранее прогнозируемые темпы прироста на 10-12 лет и к 2045 г. ожидается прирост на 51% – до 700 миллионов пациентов, среди которых доминируют лица с СД 2-го типа [1]. Распространенность СД 2-го типа в нашей стране также возрастает и в 2021 г. в среднем составляла 3148,5 на 100 000 населения со значительной вариабельностью в различных регионах и возрастных группах [2].

СД 2-го типа считается одним из ведущих факторов риска серьезных осложнений, связанных со здоровьем, и негативно влияющих на продолжительность и качество жизни в такой популяции [3]. Особенно опасными являются офтальмологические осложнения СД 2-го типа и, прежде всего, диабетическая ретинопатия (ДР), выступающая основной причиной нарушения зрения и слепоты, которая встречается среди людей с СД 2-го типа от 33,0% до 34,6% [3, 4]. Другими значимыми и хорошо изученными факторами риска ДР при СД 2-го типа называются продолжительность диабета, уровень контроля гликемии, артериальная гипертензия, липидный профиль, индекс массы тела, возраст, пол и социально-экономический статус пациента [5, 6, 7, 8].

Среди вышеперечисленных факторов риска ДР при СД 2-го типа исследователями особое внимание отводится хронологическому возрасту, поскольку с его повышением увеличивается частота ДР [9, 10], но при этом не анализируется биологиче-

ский возраст пациентов с данным офтальмологическим осложнением СД 2-го типа. Биологический возраст как фактор риска ДР при СД 2-го типа в отечественных и зарубежных публикациях до настоящего времени не рассматривался, что определяет новизну и актуальность настоящей работы.

Цель исследования. Изучение биологического возраста как фактора риска офтальмологических осложнений при СД 2-го типа.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено в Тамбовском филиале «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» среди 580 пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа, проходивших стационарное обследование и лечение. Диагностика ДР и СД 2-го типа осуществлялась по результатам комплексного обследования и с учетом клинических рекомендаций Общероссийской ассоциации врачей-офтальмологов «Сахарный диабет: ретинопатия диабетическая, макулярный отёк диабетический» [11]. У включенных в исследование 580 пациентов фиксировался хронологический возраст, а затем рассчитывался биологический возраст по методике Войтенко В.П. и др. [12] с учётом гендерной принадлежности.

На основе определения разности между биологическим возрастом и хронологическим пациенты 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа разделены на три группы: с соответствием биологического возраста хронологическому при разнице от -2,9 до +2,9 лет, с превышением биологического возраста хронологического +3,0 и более лет, с превышением хронологического возраста биологического при разнице между биологическим и хронологическим возрастом от -3,0 и более лет [13]. В результате выпол-

ненной процедуры соответствие биологического и хронологического возраста установлено у 124 человек, превышение биологического возраста хронологического – у 357 человек, превышение хронологического возраста биологического – у 99 человек. В последующем анализе при рассмотрении биологического возраста в качестве фактора риска ДР при СД 2-го типа изучены пациенты с соответствием и превыше-

нием биологического возраста хронологического, а пациенты с превышением хронологического возраста биологического не исследовались.

Сведения об основных медико-демографических параметрах заимствованы из официальной медицинской документации пациентов, по которым сравниваемые клинические группы существенно не различались (Табл. 1). Все заболевания у пациентов находились в стадии компенсации.

Таблица 1

Медико-демографические параметры пациентов 45-59 лет с диабетической ретинопатией при сахарном диабете 2-го типа с соответствием биологического возраста и превышением биологического возраста хронологического (P±SD)

Table 1

Medical and demographic parameters of c patients with diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus with the corresponding biological age and exceeding the chronological biological age (P±SD)

Исследуемый параметр	Пациенты с соответствием биологического и хронологического возраста, n=124	Пациенты с превышением биологического возраста хронологического, n=357	X ²
Метаболический синдром, %	57,3±3,6	59,1±3,2	p>0,05
Индекс массы тела, кг/м ²	28,3±2,1	28,9±1,8	p>0,05
Артериальная гипертензия, %	43,5±3,6	46,8±3,9	p>0,05
Инфаркт миокарда в анамнезе, %	16,1±1,3	17,1±1,2	p>0,05
Гликированный гемоглобин, %	8,5±0,3	8,8±0,4	p>0,05
Хроническая болезнь почек, %	11,3±0,9	13,2±1,2	p>0,05

При выполнении исследования соблюдались принципы надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice), а пациенты включались в исследование в случае получения от них письменного согласия.

При статистической обработке использовалась программа «Statistica 10.0», непараметрический критерий X² и дискриминантный анализ. Посредством последнего разрабатывались дискриминантные модели для дифференциации (классификации) пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста (класс G_{1:0}) и с превышением биологического возраста хронологического (класс G_{2:1}). Для оценки качества созданных дискриминантных моделей определялось расстояние Махаланобиса, диагностическая чувствительность и специфичность математических моделей.

Результаты и их обсуждение. Частота ДР при СД 2-го типа среди пациентов 45-59 лет, у которых наблюдалось совпадение биологического возраста хронологическому возрасту, составила в среднем 10,24±1,51 случаев на 100 обследованных. В группе пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с несовпадением биологического возраста величины хронологического возраста частота ДР оказалась практически в 2 раза выше с достоверным различием относительно предыдущей группы. При этом при СД 2-го типа среди пациентов 45-59 лет с несоответствием биологического возраста над хронологическим ДР развилась в более раннем возрасте – в 47,69±1,24 лет хронологического возраста. Среди же пациентов 45-59 лет с несоответствием биологического возраста хронологическому ДР при СД 2-го типа развилась статистически значимо позже – в 50,23±0,92 лет хронологического возраста.

Биологический возраст проявления ДР при СД 2-го типа у пациентов 45-59 лет с несоответствием биологического возраста хронологического статистически значимо выше по сравнению с пациентами аналогичного возраста с ДР при СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста. Это указывает на то, что рассогласование биологического и хронологического возраста способствует проявлению ДР при СД 2-го типа в более позднем биологическом, но в более раннем хронологическом возрасте. Об этом свидетельствуют также статистически значимые различия в разнице возраста проявления обсуждаемого офтальмологического осложнения СД 2-го типа между группами с соот-

ветствием и рассогласованием хронологического и биологического возраста по величине хронологического возраста с разницей в $2,54 \pm 1,15$ лет, а по величине биологического возраста – в $6,52 \pm 1,24$ лет.

Все эти результаты показывают, что биологический возраст выступает фактором риска, повышающим частоту развития ДР при СД 2-го типа. Кроме того, биологический возраст, а именно опережение биологического возраста хронологического способствует проявлению (развитию) ДР при СД 2-го типа в более раннем хронологическом возрасте – на 8,44 лет раньше и в более позднем биологическом возрасте – на 6,52 лет позже. Поэтому скрининг ДР при СД 2-го типа в зрелом возрасте рекомендуется начинать с 47 лет (Табл. 2).

Таблица 2

Влияние биологического возраста на частоту и время выявления диабетической ретинопатии при сахарном диабете второго типа в 45-59 лет (M±SD)

Table 2

Influence of biological age on the frequency and time of detection of diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus at 45-59 years (M±SD)

Исследуемый показатель	Пациенты зрелого возраста с ДР при СД 2-го типа с совпадением хронологического и биологического возраста (а)	Пациенты зрелого возраста с ДР при СД 2-го типа с несовпадением биологического возраста хронологического (б)	Величина χ^2 и достоверность различий
Частота диабетической ретинопатии (на 100 обследованных) (1)	$10,24 \pm 1,51$	$19,82 \pm 1,32$	$\chi^2_{1a-1b}=8,52$ $p_{1a-1b}<0,001$
Хронологический возраст манифестации диабетической ретинопатии при сахарном диабете 2-го типа, лет (2)	$50,23 \pm 0,92$	$47,69 \pm 1,24$	$\chi^2_{2a-2b}=11,84$ $p_{2a-2b}<0,01$
Биологический возраст манифестации диабетической ретинопатии при сахарном диабете 2-го типа, лет (3)	$49,61 \pm 1,11$ $\chi^2_{2a-3a}=0,4$ $p_{2a-3a}>0,05$	$56,13 \pm 0,83$ $\chi^2_{2b-3b}=10,7$ $p_{2b-3b}<0,001$	$\chi^2_{3a-3b}=7,18$ $p_{3a-3b}<0,001$
Биологический – хронологический возраст, лет (4)	$-0,62 \pm 0,09$	$+8,44 \pm 1,86$	$\chi^2_{4a-4b}=37,64$ $p_{4a-4b}<0,001$
Разница выявления диабетической ретинопатии при сахарном диабете 2-го типа по хронологическому возрасту, лет (5)	$0,62 \pm 0,09$	$2,54 \pm 1,15$	$\chi^2_{5a-5b}=9,08$ $p_{5a-5b}<0,001$
Разница выявления диабетической ретинопатии при сахарном диабете 2-го типа по биологическому возрасту, лет (6)	$0,62 \pm 0,09$	$6,52 \pm 1,24$	$\chi^2_{6a-6b}=7,89$ $p_{6a-6b}<0,001$

Для поддержки принятия решений по скринингу ДР при СД 2-го типа на основе биологического возраста и с учётом представленных в таблице 2 результатов нами посредством дискриминантного метода разработаны дискриминантные модели для пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста и для пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с несоответствием биологического возраста хронологическому. Дискриминантная модель для пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с несоответствием биологического и хронологического возраста имеет вид:

$$y_1 = 12,096x_3 + 1,152x_2 - 3,267,$$

где y_1 – пациенты 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с несоответствием биологического и хронологического возраста,

x_2 – величина биологического возраста,

x_3 – величина разницы биологического и хронологического возраста.

Для пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста дискриминантная модель определяется выражением:

$$y_2 = 17,254x_3 + 2,146x_2 - 7,801,$$

где y_2 – пациенты 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста,

x_2 – величина биологического возраста,

x_3 – величина разницы биологического и хронологического возраста.

Проверка качества классификации (дифференциации) пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с несоответствием биологического и хронологического возраста и пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста на основе синтезированных математических моделей по расстоянию Махаланобиса показала, что процент, ошибочно отнесённых пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с несоот-

ветствием биологического и хронологического возраста к группе пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста, составляет 10,82%. Удельный вес пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста, ошибочно классифицированных в группу пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с несоответствием биологического и хронологического возраста, составляет 11,69%. Это указывает, что созданные дискриминантные модели на необходимом для медицинских исследований уровне обеспечивают скрининг рассматриваемого офтальмологического осложнения СД 2-го типа у пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с несоответствием биологического и хронологического возраста и могут применяться в гериатрической практике (Табл. 3).

Определение адекватности дискриминантных моделей по величинам диагностической чувствительности и диагностической специфичности с учётом использования биологического возраста показало, что диагностическая чувствительность при классификации пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с соответствием и несоответствием биологического и хронологического возраста составляет 0,91, а диагностическая специфичность – 0,90. Это говорит о высоком качестве классификации (дифференциации) указанных групп пациентов по величине биологического возраста.

Превышение биологического возраста величины хронологического у пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа, отражающее преждевременное старение и, установленное нами впервые, способствует увеличению частоты ДР, которая в указанной группе практически в 2 раза выше по сравнению с пациентами 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста. Это позволяет однозначно считать ускорение биологического возраста фактором риска развития данного офтальмологического осложнения при СД-2-го типа. Биологический возраст,

по мнению специалистов, отражает индивидуальные особенности процессов старения на клеточном уровне и объективизирует физиологический резерв человека, что осо-

бенно важно при несовпадении его с хронологическим, который не позволяет адекватно оценить степень возрастных изменений в организме [14, 15].

Таблица 3

Проверка адекватности дискриминантных моделей по критерию Махаланобиса при выполнении скрининга диабетической ретинопатии при сахарном диабете второго типа

Table 3

Verification of the adequacy of discriminant models according to the Mahalanobis criterion when screening for diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus

Код признака	Observed	G_1:0	G_2:1
1	G_1:0	2,366	4635,241
2*	G_1:0	3,984	4523,786
3	G_1:0	2,115	4241,708
4	G_1:0	2,008	3872,257
5	G_1:0	1,742	3604,224
6	G_1:0	1,254	3893,721
7	G_1:0	0,983	3427,538
8	G_1:0	0,625	3256,642
9*	G_2:1	3451,248	2,692
10	G_2:1	3582,326	1,945
11	G_2:1	3891,403	1,872
12	G_2:1	3427,582	0,924
13	G_2:1	4000,294	1,352
14	G_2:1	3852,708	2,489
15	G_2:1	4152,497	3,875
16	G_2:1	4347,562	3,914

Примечание: *Ошибочная классификация.

Note: *Misclassified.

У пациентов 20-80 лет с СД 2-го типа без ДР биологический возраст в среднем на 12,02 года больше, чем у людей без СД ($p < 0,001$) [16], что указывает на связь СД 2-го типа с увеличением биологического возраста. В нашем исследовании превышение биологического возраста над хронологическим у пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа было значительным и составляло $+8,41 \pm 1,86$ лет, что указывает на преждевременное старение.

Однако меньшее различие между биологическим и хронологическим возрастом – увеличение всего на 2,69 года по сравнению с людьми без СД 2-го типа выявлено у пациентов с преддиабетом, что позволило авторам [16] предположить о наиболее значительном повышении биологического возраста относительно хронологического, происходящем после диагности-

рования СД 2-го типа. Кроме того, обнаружена умеренная прямая корреляция ($r = 0,65$, $p < 0,001$) между биологическим и хронологическим возрастом у людей без СД 2-го типа. Эти результаты показывают значительное увеличение биологического возраста при СД независимо от возраста постановки диагноза. Однако эти данные не в полной мере можно экстраполировать на пациентов 45-59 лет с ДР при СД 2-го типа с ускорением биологического возраста, изученных нами, так как предыдущими авторами рассматривались пациенты 20-80 лет с СД 2-го типа и без ДР.

В другом исследовании [17], анализируемом пациентах с СД 2-го типа без ДР со средним хронологическим возрастом 57 лет биологический возраст составил 64 года, то есть наблюдалось превышение на +7 лет. Кроме того, авторами показана сильная ас-

социация биологического возраста с параметрами микроциркуляции у пациентов с СД 2-го типа и отсутствие ее с хронологическим. Это указывает на большую информативность биологического возраста, чем хронологического.

В нашем исследовании доказаны не только превышение биологического возраста хронологического и влияние биологического возраста на увеличение частоты ДР при СД 2-го типа в 45-59 лет, но и разработаны дискриминантные модели с учётом биологического возраста, обладающие высокой диагностической чувствительностью и диагностической специфичностью, что позволяет их использовать для поддержки принятия решений по скринингу ДР при СД 2-го типа.

Заключение. Превышение биологического возраста хронологического у пациентов 45-59 лет с СД 2-го типа способствует увеличению частоты ДР, которая практически в 2 раза чаще встречается в этой группе по сравнению с пациентами 45-59 лет с СД 2-го типа с соответствием биологического и хронологического возраста. При ускорении биологического возраста ДР возникает на $2,54 \pm 1,15$ лет раньше, чем при соответствии биологического и хронологического возраста. Поэтому биологический возраст необходимо рассматривать как фактор риска таких опасных офтальмологических осложнений СД 2-го типа как ДР.

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. Дедов ИИ, Шестакова МВ, Викулова ОК, и др. Эпидемиологические характеристики

сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01.2021. Сахарный диабет. 2021;24(3):204-221. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM12759>

2. Дедов ИИ, Мокрышева НГ, Шестакова МВ, и др. Контроль гликемии и выбор антигипергликемической терапии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и COVID-19: консенсусное решение совета экспертов Российской академии эндокринологов. Сахарный диабет. 2022;25(1):27-49. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM12873>

3. Ting DSW, Cheung CY, Nguyen Q, et al. Deep learning in estimating prevalence and systemic risk factors for diabetic retinopathy: a multi-ethnic study. npj Digital Medicine. 2019;2:24. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41746-019-0097-x>

4. Murthy GVS. Situational analysis of diabetic retinopathy screening in India: How has it changed in the last three years? Indian Journal of Ophthalmology. 2021;69(11):2944-2950. DOI: https://doi.org/10.4103/ijo.ijo_1242_21

5. Xie Y, Gunasekeran DV, Balaskas K, et al. Health Economic and Safety Considerations for Artificial Intelligence Applications in Diabetic Retinopathy Screening. Translational Vision Science and Technology. 2020;9(2):22. DOI: <https://doi.org/10.1167/tvst.9.2.22>

6. Barkmeier AJ. Toward Optimal Screening for Diabetic Retinopathy: Balancing Precision and Pragmatism. Mayo Clinic Proceedings. 2021;96(2):282-284. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.12.008>

7. Клёсова ЕЮ, Азарова ЮЭ, Суняйкина ОА, и др. Валидация краткого опросника для оценки вклада средовых факторов риска в развитие возраст-зависимых заболеваний на примере сахарного диабета 2 типа и ишемической болезни сердца. Научные результаты биомедицинских исследований. 2022;8(1):130-138. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-10>

8. Kang Q, Yang C. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. Redox Biology. 2020;37:101799. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101799>

9. Mansour SE, Browning DJ, Wong K, et al. The Evolving Treatment of Diabetic Retinopathy. Clinical Ophthalmology. 2020;14:653-678. DOI: <https://doi.org/10.2147/OPTH.S236637>

10. Augustine J, Troendle EP, Barabas P, et al. The Role of Lipoxidation in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;11:621938. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.621938>

11. Астахов ЮС, Нероев ВВ, Шестакова МВ, и др. Клинические рекомендации «Сахарный диабет: ретинопатия диабетическая, макулярный отек диабетический». М.: Общероссийская общественная организация «Ассоциация врачей-офтальмологов»; 2020.

12. Маркина ЛД. Определение биологического возраста человека методом В.П. Войтенко. Владивосток: Владивостокский государственный медицинский университет; 2001.

13. Тренева ЕВ, Булгакова СВ, Курмаев ДП, и др. Анализ циркадианных ритмов секреции кортизола у мужчин с признаками ускоренного старения и их клиничко-организационное значение. *Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики*. 2022;1:208-219. DOI: <https://doi.org/10.24412/2312-2935-2022-1-213-224>

14. Бенберин ВВ, Танбаева ГЗ, Исакова СА, и др. Изучение факторов, влияющих на биологический возраст долгожителей Алматы. *Успехи геронтологии*. 2017;30(1):27-30.

15. Дубашевский РА. Биологический возраст и темпы старения людей старческой группы и долгожителей с полиморбидностью. *Научное обозрение. Педагогические науки*. 2019;5(4):49-52.

16. Bahour N, Cortez B, Pan H, et al. Diabetes mellitus correlates with increased biological age as indicated by clinical biomarkers. *GeroScience*. 2022;44(1):415-427. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11357-021-00469-0>

17. Глазкова ПА, Красулина КА, Глазков АА, и др. Корреляция параметров кожной микроциркуляции крови с биологическим возрастом у пациентов с сахарным диабетом. *Успехи геронтологии*. 2021;34(6):863-839. DOI: <https://doi.org/10.34922/AE.2021.34.6.007>

References

1. Dedov II., Shestakova MV, Vikulova OK, et al. Epidemiological characteristics of diabetes mellitus in the Russian Federation: clinical and statistical analysis according to the Federal diabetes register data of 01.01.2021. *Diabetes mellitus*. 2021;24(3):204-221. Russian. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM12759>

2. Dedov II, Mokrysheva NG, Shestakova MV, et al. Glycemia control and choice of antihyperglycemic therapy in patients with type 2 diabetes mellitus and COVID-19: a consensus decision of the board of experts of the Russian association of endocrinologists. *Diabetes mellitus*. 2022;25(1):27-49. Russian. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM12873>

3. Ting DSW, Cheung CY, Nguyen Q, et al. Deep learning in estimating prevalence and systemic risk factors for diabetic retinopathy: a multi-ethnic study. *npj Digital Medicine*. 2019;2:24. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41746-019-0097-x>

4. Murthy GVS. Situational analysis of diabetic retinopathy screening in India: How has it changed in the last three years? *Indian Journal of Ophthalmology*. 2021;69(11):2944-2950. DOI: https://doi.org/10.4103/ijo.ijo_1242_21

5. Xie Y, Gunasekeran DV, Balaskas K, et al. Health Economic and Safety Considerations for Artificial Intelligence Applications in Diabetic Retinopathy Screening. *Translational Vision Science and Technology*. 2020;9(2):22. DOI: <https://doi.org/10.1167/tvst.9.2.22>

6. Barkmeier AJ. Toward Optimal Screening for Diabetic Retinopathy: Balancing Precision and Pragmatism. *Mayo Clinic Proceedings*. 2021;96(2):282-284. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.12.008>

7. Klyosova EYu, Azarova IE, Sunyaykina OA, et al. Validity of a brief screener for environmental risk factors of age-related diseases using type 2 diabetes and coronary artery disease as examples. *Research Results in Biomedicine*. 2022;8(1):130-137. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-10>

8. Kang Q, Yang C. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. *Redox Biology*. 2020;37:101799. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101799>

9. Mansour SE, Browning DJ, Wong K, et al. The Evolving Treatment of Diabetic Retinopathy. *Clinical Ophthalmology*. 2020;14:653-678. DOI: <https://doi.org/10.2147/OPTH.S236637>

10. Augustine J, Troendle EP, Barabas P, et al. The Role of Lipoxidation in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;11:621938. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.621938>

11. Astakhov YuS, Neroyev VV, Shestakova MV, et al. Clinical recommendations "Diabetes mellitus: diabetic retinopathy, diabetic macular edema". Moscow: Obshcherossiyskaya obshchestvennaya organizatsiya «Assotsiatsiya vrachey-oftalmologov»; 2020. Russian.

12. Markina LD. Determination of the biological age of a person by the method of V.P. Voitenko. Vladivostok: Vladivostok State Medical University; 2001. Russian.

13. Treneva EV, Bulgakova SV, Kurmaev DP, et al. Analysis of circadian rhythms of cortisol secretion in men with signs of accelerated aging and their clinical and organizational significance. Current problems of health care and medical statistics. 2022;1:208-219. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24412/2312-2935-2022-1-213-224>

14. Benberin VV, Tanbayeva GZ, Iskakova SA, et al. Studying the factors influencing biological age of long-livers of Almaty. Advances in Gerontology. 2017;30(1):27-30. Russian.

15. Dubashevsky RA. Biological age and aging rates of senile people and centenarians with polymorbidity. Scientific Review. Pedagogical Sciences. 2019;5(4):49-52. Russian.

16. Bahour N, Cortez B, Pan H, et al. Diabetes mellitus correlates with increased biological age as indicated by clinical biomarkers. GeroScience. 2022;44(1):415-427. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11357-021-00469-0>

17. Glazkova PA, Krasulina KA, Glazkov A, etc. Correlation of parameters of skin microcirculation of blood with biological age in patients with diabetes mellitus. Advances in Gerontology. 2021;34(6):863-839. Russian. DOI: <https://doi.org/10.34922/AE.2021.34.6.007>

Статья поступила в редакцию 17 ноября 2022 г.
Поступила после доработки 16 января 2023 г.
Принята к печати 3 февраля 2023 г.

Received 17 November 2022

Revised 16 January 2023

Accepted 3 February 2023

Информация об авторах

Николай Михайлович Агарков, доктор медицинских наук, профессор кафедры биомедицинской инженерии ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: vitalaxen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4821-3692>.

Инна Валерьевна Лев, кандидат медицинских наук, заведующий первым офтальмологическим отделением, Тамбовский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», г. Тамбов, Российская Федерация, E-mail: mihina.inna@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-4059>.

Андрей Евгеньевич Копылов, кандидат медицинских наук, заведующий отделением лазерного рефракционного центра, Тамбовский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», г. Тамбов, Российская Федерация, E-mail: mntk@mntk-tambov.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3536-1645>.

Information about the authors

Nikolay M. Agarkov, Doct. Sci. (Medicine), Professor at the Department of Biomedical Engineering, Southwest State University, Kursk, Russia, E-mail: vitalaxen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4821-3692>.

Inna V. Lev, Cand. Sci. (Medicine), Head of the First Ophthalmological Department, Tambov Branch of the S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution, Tambov, Russia, E-mail: mihina.inna@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-4059>.

Andrey E. Kopylov, Cand. Sci. (Medicine), Head of the Department of Laser Refractive Center, Tambov Branch of the S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution, Tambov, Russia, E-mail: mntk@mntk-tambov.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3536-1645>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-9

УДК 616-053.9

Влияние саркопении на гемодинамику у пациентов с сердечно-сосудистой патологией при патологическом старении

К.В. Айрапетов¹ , Е.Д. Голованова¹ , Л.В. Титарева²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет», ул. Крупской, д. 28, г. Смоленск, 214019, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация
Автор для переписки: К.В. Айрапетов (karenajrapetov1@mail.ru)

Резюме

Актуальность: С возрастом увеличивается количество пациентов с коморбидной патологией и гериатрическими синдромами, в частности – саркопенией. Для диагностики саркопении можно использовать метод биоимпедансного анализа с одновременной оценкой параметров гемодинамики, что важно для подбора антигипертензивной терапии в амбулаторных условиях. **Цель исследования:** Изучить особенности гемодинамики у пациентов с саркопенией и сердечно-сосудистой патологией для оптимизации тактики применения антигипертензивных препаратов. **Материалы и методы:** Обследовано 150 пациентов мужского и женского пола, разделенных на 2 возрастные группы: 40-59 лет и 60-74 года. Для диагностики АГ и ИБС использовались рекомендации Европейского (2018) и Российского кардиологического общества (2019, 2020.). Саркопению и ее стадии определяли по критериям EWSGOP 1 с рекомендациями EWSGOP 2. Показатели центральной (сердечный выброс (СВ), ударный объем сердца (УОС)), периферической гемодинамики (САД, ДАД, среднее и пульсовое АД) исследовали с помощью пульсовой волны на биоимпедансном анализаторе «MultiscanBC-OXi» (Россия). **Результаты:** Сравнительная характеристика пациентов по коморбидной патологии в двух возрастных группах показала, что они различались по распространенности ИБС и АГ, связанной с возрастом ($p < 0,05$). Оценка показателей гемодинамики у пациентов зрелого и пожилого возраста в зависимости от наличия или отсутствия саркопении продемонстрировала, что у лиц с саркопенией отмечались более высокие цифры АД (САД, ДАД, ПАД, Ср. АД, $p < 0,05$). Влияние саркопении также выражалось и в увеличении СВ и УОС как в зрелом, так и в пожилом возрасте, в сравнении с пациентами без саркопении ($p < 0,05$), что является дополнительным показанием к назначению бета-блокаторов для уменьшения гиперсимпатикотонии. **Заключение:** Наличие саркопении у пациентов старше 40 лет влияет на параметры гемодинамики, что следует учитывать при назначении антигипертензивной терапии. Значения СВ и УОС у пациентов с саркопенией могут быть дополнительными показаниями для включения бета-блокаторов в комбинированную терапию АГ.

Ключевые слова: биоимпедансометрия; гемодинамика; саркопения; зрелый; пожилой возраст

Для цитирования: Айрапетов КВ, Голованова ЕД, Титарева ЛВ. Влияние саркопении на гемодинамику у пациентов с сердечно-сосудистой патологией при патологическом старении. Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3):393-401. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-9

Effects of sarcopenia on hemodynamics in patients with cardiovascular diseases and pathological aging

Karen V. Airapetov¹ , Elena D. Golovanova¹ , Lyudmila V. Titareva² 

¹ Smolensk State Medical University,
28 Krupskaya St., Smolensk, 214019, Russia

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

Corresponding author: Karen V. Airapetov (karenajrapetov1@mail.ru)

Abstract

Background: The number of patients with comorbid pathology and geriatric syndromes, particularly sarcopenia, increases with age. For the diagnosis of sarcopenia, the method of bioimpedance analysis with an assessment of hemodynamic parameters can be used, which is important for the selection of hypotensive therapy in outpatient settings. **The aim of the study:** To study the features of hemodynamics in mature and elderly patients with sarcopenia for optimizing the tactics of the use of antihypertensive drugs. **Materials and methods:** We examined 150 male and female patients divided into 2 age groups: 40-59 years and 60-74 years. Recommendations of the European (2018) and Russian Society of Cardiology (2019, 2020.) were used for the diagnosis of hypertension and coronary heart disease. Sarcopenia and its stages were determined according to the criteria of EWSGOP 1 with the recommendations of EWSGOP 2. The parameters of central (cardiac output (CO), cardiac shock volume (CSV)), peripheral hemodynamics (SAD, DAD, mean and pulse BP) were studied using a pulse wave on the MultiscanBC-OXi (Russia) bioimpedance analyzer. **Results:** Comparative characteristics of patients with comorbid pathology in two age groups showed that they differed in the prevalence of coronary heart disease and age-related hypertension ($p < 0.05$). Assessment of hemodynamic parameters in mature and elderly patients, depending on the presence or absence demonstrated that individuals with sarcopenia had higher blood pressure figures (SAD, DAD, PAD, Cp. AD, $p < 0.05$). The effect of sarcopenia was also expressed in an increase in SO and CSV both in adulthood and in old age, compared with patients without sarcopenia ($p < 0.05$), which is an additional indication for the appointment of beta-blockers to reduce hypersympathicotonia. **Conclusion:** The presence of sarcopenia in patients over 40 years of age affects the parameters of hemodynamics, which should be taken into account when prescribing antihypertensive therapy. The values of SO and CSV in patients with sarcopenia may be additional indications for the inclusion of beta-blockers in combination therapy of hypertension.

Keywords: bioimpedance; hemodynamics; sarcopenia; mature; elderly age

For citation: Airapetov KV, Golovanova ED, Titareva LV. Effects of sarcopenia on hemodynamics in patients with cardiovascular diseases and pathological aging. Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):393-401. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-9

Введение. Увеличение средней продолжительности жизни, связанное с прогрессом медицины, приводит к росту числа людей старших возрастных групп как в развитых, так и в развивающихся странах [1]. Пациенты старше 60 лет – это основной контингент стационаров и амбулаторных приемов. Помимо наличия коморбидной патологии, у пациентов старших возрастных групп часто встречаются и возраст-ассоциированные состояния, в частности, саркопения. Считается, что саркопения, заболевание, связанное с нарушением мышечной функции – один из пяти основных факторов риска заболеваемости и смертности у лиц старше 65 лет [2-7]. У пациентов этой возрастной группы наличие саркопии свидетельствует о патологическом старении в форме снижения функциональности.

В зрелом возрасте саркопии довольно часто встречается у пациентов с ожирением и является причиной преждевременного старения, которое также представляет собой форму патологического старения. При патологическом старении саркопии сочетается с полиморбидным фоном, основу которого составляют сердечно-сосудистые заболевания: АГ, ИБС, нарушения ритма, ХСН и др. Чтобы подтвердить диагноз саркопии необходимо оценить активную клеточную массу (или мышечную массу), жировую массу и их пропорции. Оценка данных показателей возможна с помощью биоимпедансного анализа (БИА) – метода, который позволяет оценить широкий спектр морфологических и физиологических параметров организма путем измерения электрического сопротивления, основанного на способности биологической ткани проводить слабые электрические токи [8-11].

В последнее время БИА часто используется в клинической медицине: его преимущество заключается в том, что он является малозатратным, неинвазивным, безопасным. С его помощью можно проводить диагностику различных заболеваний, в том числе и саркопии [12-16]. При помощи

БИА возможна оценка параметров центральной и периферической гемодинамики, исходя из цифрового анализа пульсовой волны, что может иметь значение для подбора гипотензивных препаратов. Представляется актуальным изучение влияния саркопии на показатели гемодинамики у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями для оптимизации антигипертензивной терапии.

Цель исследования. Изучить особенности гемодинамики у пациентов с саркопией и сердечно-сосудистыми заболеваниями для оптимизации тактики применения антигипертензивных препаратов.

Материалы и методы исследования. Исследование состояло из двух основных этапов. На первом этапе мы провели сравнительную характеристику пациентов по распространенности коморбидной патологии в зависимости от принадлежности к зрелому или пожилому возрасту. В исследование были включены 150 пациентов зрелого и пожилого, наблюдаемые на терапевтическом участке ОГБУЗ «Поликлиника №3» г. Смоленска, с ИБС (СН 1-4 ФК), АГ 1-3 ст., сахарным диабетом (СД) 2 типа в стадии компенсации, ожирением 1-3 ст. Первую (1-ю) группу составили пациенты зрелого возраста (40-59 лет) ($n=46$, средний возраст $52,5 \pm 4,5$ лет); вторую (2-ю) группу составили пациенты пожилого возраста (60 лет – 74 года) ($n=104$, средний возраст $69,7 \pm 3,7$ года).

На втором этапе мы изучали влияние саркопии на состояние гемодинамики при сердечно-сосудистой патологии. Для этого пациенты 1-й и 2-й групп внутри каждой группы были разделены на две подгруппы в зависимости от наличия/отсутствия саркопии:

1-я группа: подгруппа 1.1 ($n=28$, средний возраст $52,4 \pm 4,2$ года) без саркопии, подгруппа 1.2 ($n=18$, средний возраст $52,6 \pm 5,1$ года) с саркопией;

2-я группа: подгруппа 2.1 ($n=63$, средний возраст $69,7 \pm 4,4$ года) без саркопии, подгруппа 2.2 ($n=41$, средний возраст $69,9 \pm 3,3$ года) с саркопией;

Исследование носило выборочный характер при проведении диспансеризации. От всех пациентов получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Всем пациентам были проведены общеклинические методы исследования: оценка общего состояния, ЧСС, АД (офисные значения), ИМТ, ЭКГ в 12 отведениях, оценивали показатели общего анализа крови и мочи, биохимические показатели: глюкоза и общий холестерин. АГ диагностировали, используя данные рекомендаций Европейского (2018 г.) и Российского кардиологического обществ (РКО, 2019 г.). Диагностика ИБС проводилась по клиническим рекомендациям (РКО, 2020 г.). Диагноз сахарного диабета (СД) 2 типа верифицировали на основании показателей глюкозы крови натощак и суточного профиля глюкозы крови.

Наличие или отсутствие саркопении выявляли согласно критериям EWSGOP 1 с рекомендациями EWSGOP 2. Определение мышечной массы (ММ) проводилось с использованием биоимпедансного анализа, на аппарате «Multiscan BC-OXi» (Россия). Мышечную окружность плеча (МОП) измеряли с помощью сантиметровой ленты. За норму у мужчин принимали значение 21,1 см. и более, а у женщин – 19,9 см. и более; за норму окружности голени (ОГ) как у мужчин, так и у женщин принимали значение более 31 см. Мышечную силу (МС) оценивали методом кистевой динамометрии с использованием кистевого динамометра (TVES-DMER-120). Пороговыми значениями для диагностики снижения МС были: менее 27 кг для мужчин и менее 16 кг для женщин (EWSGOP 2) на доминантной руке. Мышечная функция (МФ) оценивалась при помощи теста «скорость ходьбы на 4 м», если скорость походки была менее 0,8 м/с, то данное значение учитывали как критерий саркопении. Стадии саркопении верифицировали по данным критериям в EWSGOP 1 (2010) с рекомендациями EWSGOP 2 (2018). Пресаркопения диагностировалась в случае, если было выявлено снижение только ММ, а МС и МФ были в

норме, саркопения диагностировалась, когда были снижены ММ и МС или МФ, а тяжелая саркопения характеризовалась снижением и ММ, и МС, и МФ.

Определяли параметры центральной гемодинамики: сердечный выброс (СВ) и ударный объем сердца (УОС) с помощью анализа цифровой пульсовой волны с использованием биоимпедансометрии. За диапазон индивидуальной нормы принимали значения СВ от 4,2 до 5,2 л/мин, а у УОС – от 60 до 90 мл. Также дополнительно анализировались следующие показатели: систолическое АД (САД), диастолическое АД (ДАД), пульсовое АД (ПАД), среднее АД (Ср.АД), полученные с помощью офисного измерения АД и данных биоимпедансометрии.

Для статистического анализа результатов исследования использовалась программа Microsoft Excel 2013. Для качественных данных описательная статистика приведена в виде относительных частот и абсолютных значений (%), n). Критерий Манна-Уитни использовался для сравнения количественных показателей между двумя группами. При $p < 0,05$ различия считались статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение. Сравнительная характеристика пациентов по распространенности коморбидной патологии в двух возрастных группах – 1 гр. (40-59 лет) и 2 гр. (60-74 года) в зависимости от гендерных различий представлена в таблице 1.

Сравнительная характеристика пациентов по распространенности коморбидной патологии в двух возрастных группах показала, что они различались по частоте встречаемости ИБС (29,2% в 1 гр., и 92% во 2 гр., соответственно, $p < 0,05$). АГ также встречалась чаще во 2 группе (50% в 1 гр. и 73,9% во 2 гр., соответственно, $p < 0,05$), в то время как СД 2 типа в ст. компенсации и ожирение I-III степени встречалось с одинаковой частотой. Таким образом, из представленных данных видно, что пациенты 2 разных возрастных групп были сопоставимы по распространенности СД и ожирения. Частота встречаемости ИБС и АГ увеличивалась с возрастом.

Таблица 1
Распространенность коморбидной патологии в зависимости от пола (n; %)
Table 1

Prevalence of comorbid pathology by gender (n; %)

Возраст	Пол	АГ	ИБС	СД 2 типа	Ожирение
40-59 лет	Мужской	8 (50%)	4 (25%)	2 (12,5%)	6 (37,5%)
	Женский	20 (41,7%)	14 (29,2%)	6 (12,5%)	18 (37,5%)
60-74 года	Мужской	17 (73,9%)	22 (95,7%)	4 (17,4%)	7 (37,4%)
	Женский	36 (57,1%)	58 (92%)	4 (17,4%)	30 (47,6%)

Дальнейшее исследование показателей гемодинамики в зависимости от наличия саркопении (С+)/отсутствия саркопении (С-) продемонстрировало, что у пациентов с С+ в исследуемых группах были выявлены более высокие цифры АД –

систолического АД (САД), диастолического АД (ДАД), пульсового АД (ПАД), среднего АД (Ср. АД), в сравнении с пациентами без саркопении ($p<0,05$) как у пациентов зрелого, так и пожилого возраста. Данные представлены в таблице 2.

Значения показателей гемодинамики у пациентов зрелого (1 группа) и пожилого (2 группа) возраста с саркопенией (С +) и без нее (С-) ($M\pm m$)

Таблица 2

Values of hemodynamic parameters in mature (group 1) and elderly (group 2) patients with sarcopenia (S +) and without it (S -) ($M\pm m$)

Table 2

Показатели (диапазон нормы)	1 группа (n= 46)		р	2 группа (n= 104)		р
	Подгруппа 1.1. С - (n=28)	Подгруппа 1.2. С + (n=18)		Подгруппа 2.1 С- (n=63)	Подгруппа 2.2 С+ (n=41)	
САД (100-140мм.рт.ст.)	130,6 ± 3,1	141,3 ± 4,4	<0,05	140,29 ± 2,76	147,3 ± 2,8	<0,05
ДАД (75-90 мм.рт.ст.)	82,9 ± 1,9	86,4 ± 3,5	>0,05	82,5 ± 1,4	87,3 ± 1,4	<0,05
ПАД (40-60 мм.рт.ст.)	47,7 ± 1,8	54,9 ± 3,6	<0,05	57,8 ± 2,2	60,20 ± 2,2	>0,05
Ср.АД (65-100мм.рт.ст.)	98,7 ± 2,2	104,6 ± 3,4	>0,05	101,8 ± 1,7	107,2 ± 1,7	<0,05
СВ (4,2-5,3 л/мин)	5,4 ± 0,2	5,9 ± 0,1	<0,05	5,2 ± 0,1	5,5 ± 0,1	<0,05
УОС (60-90 мл)	69,5 ± 4,1	79,6 ± 3,0	<0,05	71,3 ± 3,1	79,6 ± 2,6	<0,05

Примечание: САД – систолическое АД, ДАД – диастолическое АД, ПАД – пульсовое АД, Ср.АД – среднее АД, СВ – сердечный выброс, УОС – ударный объем сердца.

Note: САД – systolic blood pressure, ДАД – diastolic blood pressure, ПАД – pulse blood pressure, Ср.АД – mean blood pressure, СВ – cardiac output, УОС – cardiac shock volume.

Анализ полученных данных показал, что у пациентов с саркопенией как в зрелом (подгруппа 1.2), так и в пожилом возрасте (подгруппа 2.2) отмечались более высокие цифры АД (САД, ДАД, ПАД, Ср АД, $p<0,05$), СВ и УОС ($p<0,05$). Таким образом, влияние саркопении выражалось в активации симпатно-адреналовой системы (САС), что приводило к увеличению СВ и

УОС как в зрелом, так и в пожилом возрасте. Известно, что активация САС является одним из ведущих патогенетических механизмов повышения АД, приводящее к поражению органов мишеней, повышению ЧСС и развитию эндотелиальной дисфункции, и, в конечном счете, развитию ХСН. Следует отметить, что, в основном, все исследования связанные с изучением влияния

ингибиторов РААС и САС на предотвращение атрофии мышц были посвящены проблеме ХСН. В исследовании COPENICUS была продемонстрирована способность карведилола предотвращать потерю веса у больных с сердечной недостаточностью, причем его способность увеличивать массу тела была наиболее выражена у лиц со сниженным ИМТ на исходном уровне. Все стратегии, направленные на сохранение мышечной массы и увеличение мышечной силы будут способствовать замедлению прогрессирования ХСН. Поэтому, как немедикаментозные методы (регулярные физические тренировки), так и медикаментозные (блокада РААС и САС, прием витамина D) остаются краеугольным камнем в терапевтических стратегиях в лечении этой нозологии.

Уменьшение гиперсимпатикотонии за счет снижения ЧСС и УОС достигается с помощью бета-блокаторов. Применение фиксированных комбинаций (ФК), в частности бета-блокатора и иАПФ, очень важно с целью вторичной профилактики, а также лечения ИБС, особенно у пациентов старше 40 лет с наличием АГ, т.к. в этой возрастной когорте увеличивается частота встречаемости ИБС. Основная проблема вторичной профилактики при ИБС – низкая частота использования ФК, содержащий бета-блокатор с иАПФ у пациентов с АГ в сочетании с ИБС, с учетом того, что это полиморбидная патология встречается до 80% случаев как в стационарных, так и в амбулаторных условиях. При наличии у пациента АГ и ИБС, а также ранее перенесенного инфаркта миокарда, патогенетически целесообразно назначения ФК (бета-блокатор + иАПФ), которые будут воздействовать на нейроэндокринные механизмы, приводящие к уменьшению ЧСС, расширению кровеносных сосудов и ряду других факторов, которые в конечном итоге приводят к достижению целевого уровня АД и к контролю стенокардии [16]. Однако, наиболее часто таким пациентам назначают ФК, содержащую диуретик в сочетании с иАПФ, а бета-блокаторы включают в схему в основ-

ном при особых показаниях, к которым относятся: ХСН, предшествующий инфаркт миокарда и фибрилляция предсердий.

Учитывая способность бета-блокаторов уменьшать гиперактивацию симпатoadреналовой системы, являющуюся ключевым патогенетическим механизмом развития АГ, они входят в 5 основных классов применяемых в антигипертензивной терапии [17]. Также для терапии ИБС и ХСН бета-блокаторы используются как основные препараты первой линии. В Российских и в европейских рекомендациях перенесенный инфаркт миокарда среди пациентов с АГ является основанием для назначения бета-блокаторов [18, 19]. Однако, важное значение в улучшении антигипертензивной терапии имеет и такой параметр как гемодинамический статус конкретного пациента, который может быть гипо-, эу- и гиперкинетическим. Исходя из этого, рекомендуется использовать бета-блокаторы у пациентов как с эукинетическими, так и гиперкинетическими гемодинамическими типами. Для определения параметров гемодинамики можно использовать БИА, который является простым, безвредным и удобным в амбулаторных условиях. Сущность применяемого подхода заключалась в коррекции гипотензивной терапии у пациентов с АГ и ИБС, с помощью определения показателей СВ и УОС, исходя из цифрового анализа пульсовой волны с использованием ФК содержащий бета-блокатор.

Высокие значения УОС и СВ – это дополнительные показания для использования бета-блокаторов. Метод БИА можно применять для расчета показателей гемодинамики, которые имеют определенную значимость для повышения эффективности антигипертензивного лечения при помощи анализа пульсовой цифровой волны. Бета-блокаторы действуют на СВ, УОС и ЧСС уменьшают гиперсимпатикотонию и, соответственно, степень поражения органов-мишеней.

Заключение. Результаты настоящего исследования показали, что наличие саркопении у пациентов старше 40 лет влияет на

параметры гемодинамики (приводит к увеличению показателей АД - САД, ДАД, ПАД, Ср. АД и показателей СВ и УОС), что следует учитывать при назначении антигипертензивной терапии. Значения СВ и УОС у пациентов с саркопенией могут быть дополнительными показаниями для включения бета-блокаторов в комбинированную терапию АГ.

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 author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. World Population Prospects 2022 [Электронный ресурс] [дата обращения 23.01.2022]. URL: <https://population.un.org/wpp>
2. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. Age and Ageing. 2019;48(1):16-31. DOI: <https://doi.org/10.1093/ageing/afy169>
3. Dao T, Green AE, Kim YA, et al. Sarcopenia and muscle aging: a brief overview. Endocrinology and Metabolism. 2020;35(4):716-732. DOI: <https://doi.org/10.3803/EnM.2020.405>
4. Григорьева ИИ, Раскина ТА, Летаева МВ, и др. Саркопения: особенности патогенеза и диагностики. Фундаментальная и клиническая медицина. 2019;4(4):105-116. DOI: <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-4-105-116>
5. Голованова ЕД, Айрапетов КВ. Распространенность саркопии у пациентов зрелого и пожилого возраста на терапевтическом участке. Sciences of Europe. 2020;56:3-6.
6. Королева МВ, Кудашкина ЕВ, Шарова АА, и др. Саркопения как предиктор снижения социализации и качества жизни у пациентов старшего возраста. Научные результаты биомедицинских исследований. 2019;5(4):150-159. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-12>
7. Яшкичев ВИ. К вопросу потери мышечной массы при старении. Наука и мир. 2020;2(78):78-80.
8. Зыбалова ТС. Биоимпедансный анализ в клинической практике. В: Трисветова ЕЛ, редактор. Внутренние болезни сегодня. Сборник научных трудов, посвященный 100-летию УО «Белорусский государственный медицинский университет». Минск; 2021:79-90.
9. Uemura K, Doi T, Tsutsumimoto K, et al. Predictivity of bioimpedance phase angle for incident disability in older adults. Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle. 2020;11(1):46-54. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12492>
10. Tanaka S, Ando K, Kobayashi K, et al. Low Bioelectrical Impedance Phase Angle Is a Significant Risk Factor for Frailty. BioMed research. 2019;2019:6283153. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/6283153>
11. Yamada M, Kimura Y, Ishiyama D, et al. Phase Angle is a Useful indicator for Muscle Function in Older Adults. Journal of Nutrition, Health and Aging. 2019;23:251-255. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-018-1151-0>
12. Голованова ЕД, Айрапетов КВ. Роль биоимпедансометрии в ранней профилактике саркопии у пожилых пациентов амбулаторного звена. Клиническая геронтология. 2021;9-10:3-9. DOI: <http://doi.org/10.26347/1607-2499202109-10003-009>
13. Самойлов АС, Жолинский АВ, Рылова НВ, и др. Современные методы анализа композиционного состава тела. Практическая медицина. 2022;20(1):21-26.
14. Смирнова ИА, Кузьминов ОМ, Крупенкина ЛА, и др. Современный взгляд на лечение и профилактику саркопии. Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2019;42(1):49-56.
15. Булгакова СВ, Курмаев ДП, Удалов ЮД, и др. Состав тела, функциональные, клинические и лабораторные параметры женщин пожилого и старческого возраста с синдромом саркопии. Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. 2022;1:59-79. DOI: <https://doi.org/10.24412/2312-2935-2022-1-59-79>
16. Карпов ЮА, Чернышев АВ. Эффективность фиксированной комбинации бисопролола и периндоприла у пациентов с артериальной гипертензией и перенесенным инфарктом

миокарда (дополнительный анализ исследования СТИЛЬ). Атмосфера. Новости кардиологии. 2022;2:26-32. DOI:

<https://doi.org/10.24412/2076-4189-2022-12706>

17. Ткачева ОН, Котовская ЮВ, Рунихина НК, и др. Артериальная гипертензия и антигипертензивная терапия у пациентов старших возрастных групп. Согласованное мнение экспертов Российской ассоциации геронтологов и гериатров, Антигипертензивной Лиги, Национального общества профилактической кардиологии. Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2021;17(4):642-661. DOI: <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2021-07-01>.

18. Бойцов СА, Карпов ЮА, Бурцев ЮП, и др. Эффективность фиксированной комбинации бисопролола и периндоприла в зависимости от используемых доз у пациентов с артериальной гипертензией и Стабильной ишемической болезнью сердца в реальной клинической практике (исследование СТИЛЬ). Атмосфера. Новости кардиологии. 2021;1:30-38. DOI: <https://doi.org/10.24412/2076-4189-2021-12344>

19. Барышникова ГА, Чорбинская СА, Зимина ТА, и др. Роль фиксированной комбинации периндоприла и бисопролола в лечении сердечно-сосудистых заболеваний. Атмосфера. Новости кардиологии. 2022;1:24-30. DOI: <https://doi.org/10.24412/2076-4189-2022-12701>

References

1. World Population Prospects 2022 [Internet] [cited 2022 Jan 20]. Available from: <https://population.un.org/wpp>

2. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. Age and Ageing. 2019;48(1):16-31. DOI: <https://doi.org/10.1093/ageing/afy169>

3. Dao T, Green AE, Kim YA, et al. Sarcopenia and muscle aging: a brief overview. Endocrinology and Metabolism. 2020;35(4):716-732. DOI: <https://doi.org/10.3803/EnM.2020.405>

4. Grigorieva II, Raskina TA, Letaeva MV, et al. Sarcopenia: pathogenesis and diagnosis. Fundamental and Clinical Medicine. 2019;4(4):105-116. Russian. DOI: <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-4-105-116>.

5. Golovanova ED, Airapetov KV. Prevalence of sarcopenia in mature and elderly patients at the therapeutic site. Sciences of Europe. 2020;56:3-6. Russian.

6. Koroleva MV, Kudashkina EV, Sharova AA, et al. Sarcopenia as a predictor of decreased socialization and quality of life in older patients. Research Results in Biomedicine. 2019;5(4):150-159. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-12>

7. Yashkichev VI. To the question about loss of muscle mass during aging. Science and world. 2020;2(78):78-80. Russian.

8. Zybalova TS. Bioimpedance analysis in clinical practice. In: Trisvetova EL, editor. Internal Medicine Today. Collection of scientific papers dedicated to the 100th anniversary of the Belarusian State Medical University. Minsk; 2021:79-90. Russian.

9. Uemura K, Doi T, Tsutsumimoto K, et al. Predictivity of bioimpedance phase angle for incident disability in older adults. Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle. 2020;11(1):46-54. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12492>

10. Tanaka S, Ando K, Kobayashi K, et al. Low Bioelectrical Impedance Phase Angle Is a Significant Risk Factor for Frailty. BioMed research. 2019;2019:6283153. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/6283153>

11. Yamada M, Kimura Y, Ishiyama D, et al. Phase Angle is a Useful indicator for Muscle Function in Older Adults. Journal of Nutrition, Health and Aging. 2019;23:251-255. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-018-1151-0>

12. Golovanova ED, Ayrapetov KV. Bioimpedancemetry in early prevention of sarcopenia in the elderly in outpatient care. Clinical gerontology. 2021;9-10:3-9. Russian. DOI: <http://doi.org/10.26347/1607-2499202109-10003-009>

13. Samoilov AS, Zholinsky AV, Rylova NV, et al. Modern methods of body composition analysis. Practical medicine. 2022;20(1):21-26. Russian.

14. Smirnova IA, Kuzminov OM, Krupenkina LA, et al. A modern view on the treatment and prevention of sarcopenia. Scientific Bulletin of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy. 2019;42(1):49-56. Russian.

15. Bulgakova SV, Kurmaev DP, Udalov YD, et al. Body composition, functional, clinical and laboratory parameters of elderly and senile women with sarcopenia syndrome. Current problems of health care and medical statistics. 2022;1:59-79. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24412/2312-2935-2022-1-59-79>

16. Karpov YuA, Chernyshev AV. The Efficacy of Fixed Combination of Bisoprolol and Perindopril in Patients with Hypertension and History

of Myocardial Infarction (Additional Analysis of the STYLE Study). *Atmosphere. Cardiology news*. 2022;2:26-32. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24412/2076-4189-2022-12706>

17. Tkacheva ON, Kotovskaya YuV, Runkhina NK, et al. Arterial hypertension and anti-hypertensive therapy in older patients. The agreed opinion of experts from the Russian Association of Gerontologists and Geriatricians, the Antihypertensive League, the National Society for Preventive Cardiology. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2021;17(4):642-661. Russian. DOI: <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2021-07-01>

18. Boitsov SA, Karpov YuA, Burtsev YuP, et al. The Efficacy of Fixed Combination of Bisoprolol and Perindopril Depending on the Doses Used in Patients with Arterial Hypertension and Stable Coronary Heart Disease in Real Clinical Practice (STYLE Study). *Atmosphere. Cardiology news*. 2021;1:30-38. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24412/2076-4189-2021-12344>

19. Baryshnikova GA, Chorbinskaya SA, Zimina TA, et al. The role of the fixed-dose combination of perindopril and bisoprolol in the treatment of cardiovascular diseases. *Atmosphere. Cardiology news*. 2022;1:24-30. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24412/2076-4189-2022-12701>

Статья поступила в редакцию 23 декабря 2022 г.
Поступила после доработки 5 февраля 2023 г.
Принята к печати 22 февраля 2023 г.

Received 23 December 2022

Revised 5 February 2023

Accepted 22 February 2023

Информация об авторах

Карен Викторович Айрапетов, ассистент кафедры общей врачебной практики, поликлинической терапии с курсом гериатрии ФГБОУ ВО

«Смоленский государственный медицинский университет», г. Смоленск, Российская Федерация, E-mail: karenajrapetov1@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2367-0299>.

Елена Дмитриевна Голованова, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей врачебной практики, поликлинической терапии с курсом гериатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет», г. Смоленск, Российская Федерация, E-mail: golovanovaed@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1853-3844>.

Людмила Викторовна Титарева, кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: kurskmed@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5727-8482>.

Information about the authors

Karen V. Airapetov, Assistant at the Department of General Medical Practice, Polyclinic Therapy with a course of Geriatrics, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia, E-mail: karenajrapetov1@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2367-0299>.

Elena D. Golovanova, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of General Medical Practice, Polyclinic Therapy with a course of Geriatrics, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia, E-mail: golovanovaed@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1853-3844>.

Lyudmila V. Titareva, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: kurskmed@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5727-8482>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-10

УДК 613.83

Динамика детекции наркотических соединений за 2013-2021 годы на примере Республики Башкортостан

И.С. Ефремов¹ , Е.Х. Галеева² , И.В. Николаев² , Г.Р. Ахметгареева³ ,
А.Е. Абдрахманова³ , З.Ш. Ашуров^{4,5} , Р.Ф. Насырова⁶ ,
А.Р. Асадуллин¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет»,
ул. Ленина, д.3, г. Уфа, 450008, г. Уфа, Российская Федерация

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
«Республиканский клинический наркологический диспансер»,
ул. Пушкина, д.119, г. Уфа, 450057, Российская Федерация

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
«Республиканский клинический психотерапевтический центр»,
ул. Рихарда Зорге, д. 73/3, г. Уфа, 450075, Российская Федерация

⁴ Республиканский специализированный научно-практический центр наркологии,
ул. Ором, д. 1, п. Салар, 102147, Республика Узбекистан

⁵ Ташкентская медицинская академия,
ул. Фараби, д. 2, г. Ташкент, 100109, Республика Узбекистан

⁶ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский
исследовательский центр психиатрии и неврологии имени В.М. Бехтерева»,
ул. Бехтерева, д.3, г. Санкт-Петербург, 192019, Российская Федерация

Автор для переписки: И.С. Ефремов (efremovilya102@gmail.com)

Резюме

Актуальность: Потребление психоактивных веществ (ПАВ) остается актуальной проблемой для современного общества. Удобное географическое расположение на пути из Китая к центральной России и Европе делает Башкирию интересным регионом для изучения эпидемиологии детекции потребления наркотических соединений. Несмотря на наличие различных методов исследований, на настоящий момент не так много работ по изучению наркотизации населения по прямым признакам – количеству обнаруженных веществ в пробах, взятых от лиц, проходивших наркологическую экспертизу. **Цель исследования:** Оценить динамику детектированных групп психоактивных веществ среди населения Республики Башкортостан за 2013-2021 года по данным лабораторных исследований. **Материалы и методы:** Биологические пробы 27022 человек в возрасте от 18 до 65 лет были изучены иммунохроматографическим методом. В исследуемой выборке – 2971 человек женского пола, 24051 – мужского. Исследование проводилось на территории Республики Башкортостан в 2013 – 2021 годах. Подтверждающие химико-токсикологические исследования для определения наличия наркотических средств и психотропных веществ в биоматериале проходили на базе клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ РКНД МЗ РБ. Обработка данных проводилась методами параметрической

статистики. **Результаты:** В работе показана динамика, количественные и качественные тенденции обнаружения веществ. Распределение выявленных потребителей по годам было следующее: 2013 г. – 3003; 2014 г. – 3849; 2015 – 2721; 2016 – 3580; 2017 – 3806; 2018 – 3104; 2019 – 2375; 2020 – 1943; 2021 – 2641. Среди выявленных потребителей больше мужчин чем женщин. Обнаружены возрастные особенности потребления: молодые потребители предпочитают каннабиноиды, более возрастные предпочитают опиаты и седативные вещества. Наиболее распространенные ПАВ – психостимуляторы (синтетические катиноны) и каннабиноиды. Потребление одного наркотического вещества встречается чаще, чем полипотребление. **Заключение:** Можно сделать вывод, что уровень потребления наркотических веществ на территории Республики Башкортостан не уменьшается, меняется лишь его структура. Представленные данные носят обзорный характер и требуют дальнейшего глубокого изучения.

Ключевые слова: наркотики; наркопотребление; опиаты; каннабиноиды; катиноны; иммунохроматографический метод

Для цитирования: Ефремов ИС, Галеева ЕХ, Николаев ИВ, и др. Динамика детекции наркотических соединений за 2013-2021 годы на примере Республики Башкортостан. Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3):402-417. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-10

Dynamics of detection of narcotic compounds for 2013-2021: a case study of the Republic of Bashkortostan

Ilia S. Efremov¹ , Elena H. Galeeva² , Ivan V. Nikolaev² ,
Galiya R. Akhmetgareeva³ , Anastasia E. Abdrakhmanova³ ,
Zarifzhon Sh. Ashurov^{4,5} , Regina F. Nasyrova⁶ , Azat R. Asadullin¹ 

¹ Bashkir State Medical University,
3 Lenin St., Ufa, 450008, Russia

² Republican Clinical Narcological Dispensary,
119 Pushkin St., Ufa, 450057, Russia

³ Republican Clinical Psychotherapeutic Center,
73/3 Rikhard Zorge St., Ufa, 450075, Russia

⁴ Republican Specialized Scientific-Practical Medical Center of Narcology,
1 Orom St., Salar, 102147, Uzbekistan

⁵ Tashkent Medical Academy,
2 Farabi St., Tashkent 100109, Uzbekistan

⁶ Bekhterev Psychoneurological Research Institute,
3 Bekhterev St., Saint-Petersburg, 192019, Russia

Corresponding author: Ilia S. Efremov (efremovilya102@gmail.com)

Abstract

Background: The consumption of psychoactive substances remains an urgent problem for modern society. The convenient geographical location on the way from China to central Russia and Europe makes Bashkiria an interesting region for studying the epidemiology of drug use detection. Despite the availability of various research methods, at the moment there are not so many works on the study

of drug addiction of the population based on direct signs – the number of substances detected in samples taken from persons undergoing narcological examination. **The aim of the study:** To evaluate the dynamics of detected groups of psychoactive substances among the population of the Republic of Bashkortostan for 2013-2021 according to laboratory studies. **Materials and methods:** Biological samples of 27 022 people aged 18 to 65 years were studied by the immunochromatographic method. The study sample included 2 971 females and 24 051 males. The study was conducted on the territory of the Republic of Bashkortostan in 2013-2021. Confirmatory chemical and toxicological studies to determine the presence of narcotic drugs and psychotropic substances in the biomaterial were conducted on the basis of the clinical diagnostic laboratory of the Republican Clinical Narcological Dispensary of the Ministry of Health of the Republic of Bashkortostan. Data processing was carried out by methods of parametric statistics. **Results:** The paper shows the dynamics, quantitative and qualitative trends in the detection of substances. The distribution of identified drug users by year was as follows: 2013 – 3 003; 2014 – 3 849; 2015 – 2 721; 2016 – 3 580; 2017 – 3 806; 2018 – 3 104; 2019 – 2 375; 2020 – 1 943; 2021 – 2 641. There are more men than women among the identified drug users. Age-related consumption patterns were found: younger drug users prefer cannabinoids, older users prefer opiates and sedatives. The most common psychoactive substances are psychostimulants (synthetic cathinones) and cannabinoids. The consumption of one narcotic substance is more common than polyconsumption. **Conclusion:** It can be concluded that the level of consumption of narcotic substances on the territory of the Republic of Bashkortostan is not decreasing, only its structure is changing. The presented data are of an overview nature and require further in-depth study.

Keywords: drugs; drug use; opiates; cannabinoids; cathinones; immunochromatographic method

For citation: Efremov IS, Galeeva EH, Nikolaev IV, et al. Dynamics of detection of narcotic compounds for 2013-2021: a case study of the Republic of Bashkortostan. Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):402-417. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-10

Введение. Незаконное потребление психоактивных веществ (ПАВ) остается крайне актуальной проблемой для современного общества [1, 2]. По данным государственного антинаркотического комитета в 2020 году отмечалось расширение масштабов производства синтетических наркотиков внутри страны и их распространение с использованием сети Интернет [3]. Генеральная прокуратура Российской Федерации отмечает снижение преступлений, связанных с наркооборотом в России за январь-ноябрь 2021 года [4]. Одним из исключений является Челябинская область, где рост сбыта запрещенных к обороту веществ увеличился на 27,3% по сравнению с аналогичным периодом прошлого года. На западе с Челябинской областью граничит Республика Башкортостан, где за первые 6 месяцев 2021 снизилось общее число преступлений, связанных с наркотиками, но возросла доля преступлений совершенных группой лиц или преступным сообществом [4]. Республика

Башкортостан является одним из центров изучения синтетических наркотических средств в России [5, 6, 7]. Через столицу Башкортостана (г. Уфа) проходит 2 федеральные трассы: М5 (М-5 «Урал» Москва - Рязань - Пенза - Самара - Уфа - Челябинск) и М7 (М-7 «Волга» Москва - Владимир - Нижний Новгород - Чебоксары - Казань - Уфа). Удобное географическое расположение на пути из Китая к центральной России и Европе делает Башкирию интересным регионом для изучения эпидемиологии детекции потребления наркотических соединений [8, 9].

Одной из проблем современной аддиктологии остается выявление незаконного потребления психоактивных веществ [10, 11]. Для этого может быть использовано множество методов, среди которых самыми популярными являются анкетирование, исследование биологических жидкостей [12, 13, 14], и один из новых трендов мировой практики – выявление психоактивных веществ в сточных водах [15, 16,

17]. Другим важным методом индивидуальной детекции – применение к биологическим образцам газовой хроматографии с масс-селективной детекцией [18, 19, 20]. Несмотря на наличие различных методов исследований, на настоящий момент не так много работ по изучению наркотизацию населения по прямым признакам – количеству обнаруженных веществ в пробах, взятых от лиц, проходивших наркологическую экспертизу. В работе будет показана общая картина детекции наркопотребления населения в Республике Башкортостан и её динамика в 2013-2021 годах.

Цель исследования. Оценить динамику детектированных групп психоактивных веществ среди населения Республики Башкортостан за 2013-2021 года по данным лабораторных исследований.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования служил биологический материал (преимущественно моча, при невозможности сбора мочи – кровь) лиц, освидетельствованных на территории Республики Башкортостан в период с 2013 по 2021 год. В итоговое исследование было включено 27022 человек в возрасте от 18 до 65 лет, средний возраст испытуемых составил $33,35 \pm 9,149$. В исследуемой выборке 2971 человек женского пола, 24051 – мужского. Критериями включения в исследованную выборку служили: обнаружение в образце мочи одного или более психоактивных веществ: бензодиазепинов, барбитуратов, опиатов, каннабиноидов, психостимуляторов (за исключением кофеина); возраст старше 18 лет. Критериями невключения являлись: возраст меньше 18 лет; отсутствие в образце вышеуказанных веществ.

Подтверждающие химико-токсикологические исследования для определения наличия наркотических средств (НС) и психотропных веществ (ПВ) в биоматериале проходили на базе клинико-диагностической лаборатории (КДЛ) ГБУЗ РКНД МЗ РБ. При необходимости, в случае отсутствия в направлении на исследования сведений о проведенных предварительных химико-токсикологических исследованиях,

осуществляемых иммунохроматографическим методом, они также проводились на базе КДЛ ГБУЗ РКНД МЗ РБ.

Извлечение из биоматериала НС и ПВ осуществлялось при помощи жидкость-жидкостной экстракции с использованием следующих реактивов (производство – Российская Федерация): которые приведены ниже: этилацетат, гексан, дихлорэтан, изопропанол, аммиак, 50% раствор NaOH, HCl, диметилсульфоксид (ДМСО), тетраметиламмония гидроксид (ТМАГ). Степень чистоты реактивов: химически чистые (ХЧ). В качестве дериватизирующих агентов использовали: для растительных каннабиноидов – йодистый метил (CH_3I), для синтетических – бис-триметилсилил-трифторацетамид, содержащий 1% триметилхлорсилана (99%BSTFA, 1%TMS).

При необходимости проводился этап гидролиза образца (70°C в течение 20 мин, в том числе для определения растительных и синтетических каннабиноидов).

Подтверждающие химико-токсикологические исследования методом газовой хроматографии с масс-селективной детекцией проводились на аппаратном парке лаборатории (газовый хроматограф Маэстро Agilent 7820 (капиллярная колонка HP-5MS (5% фенил-метилполисилоксан), с масс-селективным детектором Agilent 5975 (Agilent, США); газовый хроматограф Agilent 7890 (капиллярная колонка HP-5MS) с тандемным квадрупольным масс-спектрометром Agilent 7000 (Agilent, США).

Обработку хроматограмм проводили в программах MSD ChemStation E.02.01.1177 (Agilent), MassHunter B.08.02 (Agilent) и AMDIS (The Automatic Mass Spectral Deconvolution and Identification System, NIST). Регистрация масс-спектров для велась в интервале масс 43–550 а.е. При работе с ГХ-МС/МСиспользовалидинамический мониторинг мульти-реакций (MRM).

Обнаруженные вещества были распределены по группам, в зависимости от эффекта употребления, где были выделены

отдельные подгруппы наиболее значимых веществ:

1. Группа опиатов включала в себя три подгруппы: героин, дезоморфин и прочие опиаты.

2. В группе каннабиноидов были выделены две подгруппы: синтетические каннабиноиды и естественные (натуральные каннабиноиды). При обнаружении тех и других в одном образце, наблюдение относилось к группе синтетических веществ.

3. В группе стимуляторов были выделены потребители синтетических катинонов (в том числе мефедрона) и потребители прочих психостимуляторов (за исключением кофеина).

4. Группа седативных препаратов, куда попали потребители барбитуратов и бензодиазепинов, без выделения отдельных подгрупп.

5. В пятую группу были включены лица, у которых были детектированы вещества более чем одной группы. Потребление седативных средств (барбитураты, бензодиазепины) совместно с другими ПАВ не учитывалась как полипотребление.

Систематизация исходных данных проводилась в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics v.26 (разработчик – IBM Corporation). В качестве метода оценки нормальности распределения количественных величин использовался критерий Шапиро-Уилка. При оценке частот был использован критерий Хи-квадрат Пирсона. При сравнении количественных переменных в нескольких группах был использован однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA).

Результаты. Распределение по полу показывает, что среди лиц, у которых были детектированы ПАВ, значительно больше мужчин, нежели женщин (Хи-квадрат = 669,183; $p=0,000$). У 90,8% (24543/27022) было детектировано употребление только одной группы веществ, у 9,2%

(2479/27022) респондентов выявили употребление более чем одной группы веществ. Больше всего было потребителей стимуляторов, 40,5% (10932/27022), среди них было 13,6% (1488/10932) лиц женского пола и 86,4% (9444/10932) мужского пола. Каннабиноиды были обнаружены у 23,8% (6442/27022) испытуемых, среди них 3,2% (210/6442) женского пола, 96,8% (6232/6442) мужского. Опиаты обнаружены у 14,6% потребителей (3943/27022), среди них 12,6% (500/3943) женского пола, 87,4% (3443/3943) мужского пола. Лиц, употреблявших седативные вещества (барбитураты и бензодиазепины) было 11,9% (3223/27022), среди них 18% (580/3223) женского пола, 82% (2643/3223) мужского пола. В группу лиц, у кого было выявлено потребление более чем одного вещества было включено 2482 человек (9,2%), среди них 7,7% (193/2482) женского пола и 92,3% (2286/2482) мужского пола.

При сравнении возраста потребителей различных веществ был применен однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), и были обнаружены статистически значимые отличия ($F(4, 24597) = 718,09$, $p=0,0000$). Наиболее молодые потребители предпочитали каннабиноиды ($29,96 \pm 8,22$). Самые старшие отдавали предпочтение группам опиатов ($37,79 \pm 8,87$) и седативных веществ ($38 \pm 12,26$). Средний возраст потребителей психостимуляторов и полипотребителей был $32,14 \pm 7,73$ и $33,33 \pm 7,64$ соответственно.

Распределение выявленных потребителей по годам было следующее: 2013 г. – 3003; 2014 г. – 3849; 2015 – 2721; 2016 – 3580; 2017 – 3806; 2018 – 3104; 2019 – 2375; 2020 – 1943; 2021 – 2641. По приведенным цифрам можно увидеть, что в период начала пандемии новой коронавирусной инфекции (2020) произошло снижение потребления, тогда как в 2021 году потребление ПАВ снова возросло. Наглядно потребление представлено на рисунке 1.

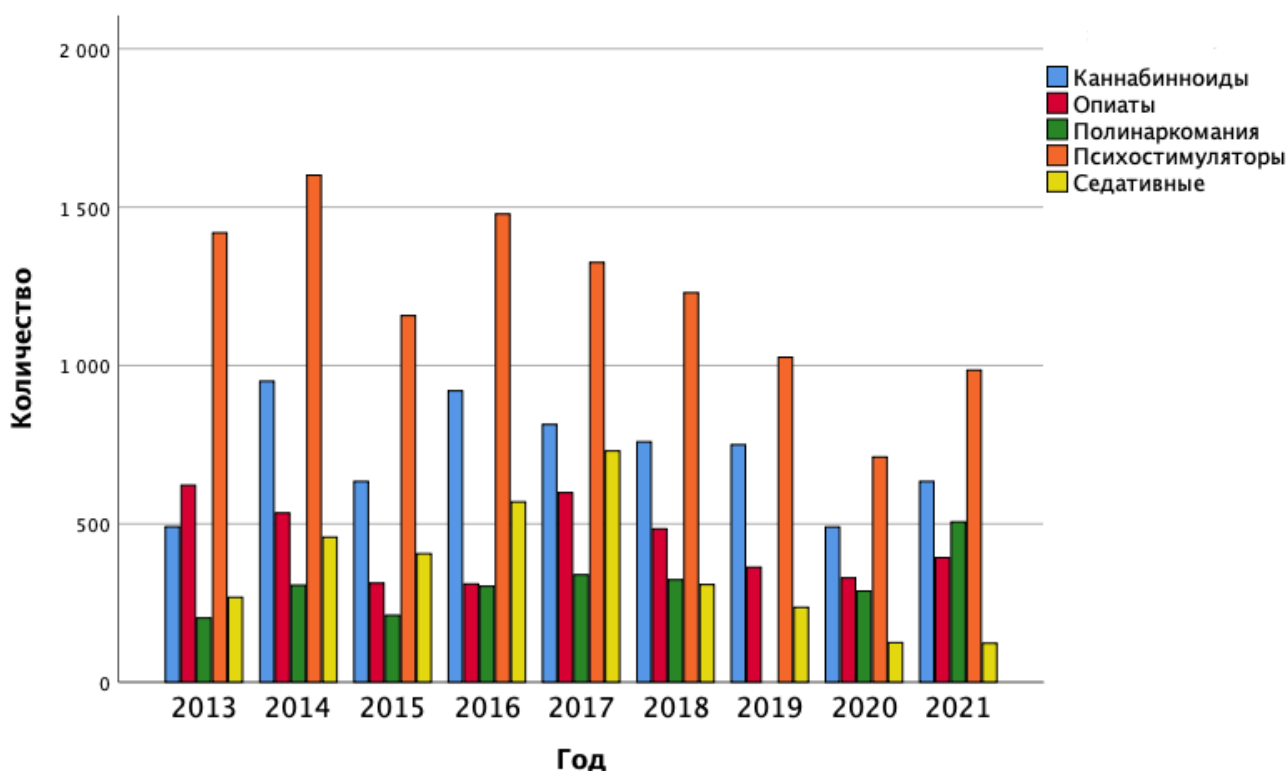


Рис. 1. Динамика детектированных различных групп ПАВ с 2013 по 2021 гг.
Fig. 1. Dynamics of detected various groups of psychoactive substances from 2013 to 2021

Опиаты. Количество потребителей опиатов не уменьшается в последние годы, не смотря на некоторое снижение в 2015 и 2016 года (в 2013 – 622 человека; 2014 – 534; 2015 – 310; 2016 – 310). В 2017 и 2018 года снова отмечался рост (598 и 484 соответственно). В 2019 году число потребителей составило 363, 2020 – 326 и 2021 – 393. При этом изменился спектр потребляемых веществ. С 2015 года отмечается резкое снижение детекции дезоморфина с 129 в 2013 и 125 в 2014 до 11 в 2016 и 32 в 2016. В дальнейшем не встречалось более 30 случаев обнаружения дезоморфина в год, в 2021 году их было 3. Обратная ситуация касается героина, потребление которого выросло с 7 человек в 2013 до 114 в 2017. Далее следовало падение в 2019 году, с последующим ростом до 121 случая в 2021. Прочие опиаты (морфин, промедол, метадон и др.) остаются на уровне выше 300

случаев в год с повышением в 2017, 2018 и 2021 годах. 11% (440/3943) потребителей опиатов также использовали седативные вещества (бензодиазепины или барбитураты). Наглядно график детекции опиатов представлен на рисунке 2.

Интерес вызывает резкий рост обнаружения синтетического опиоида метадона, наблюдаемый в последние годы. До 2020 года случаи детекции встречались в количестве, не превышающем 10 с 2016 по 2018 гг. В 2020 году было обнаружено 44 случая, в 2021 году 103 случая, что говорит о значительном росте потребления метадона. Эти данные подтверждаются анализом портала Hydra, согласно которому на 17.02.2022 года на территории города Уфы одновременно находится свыше 11000 разовых доз метадона, что говорит о высокой распространенности вещества.

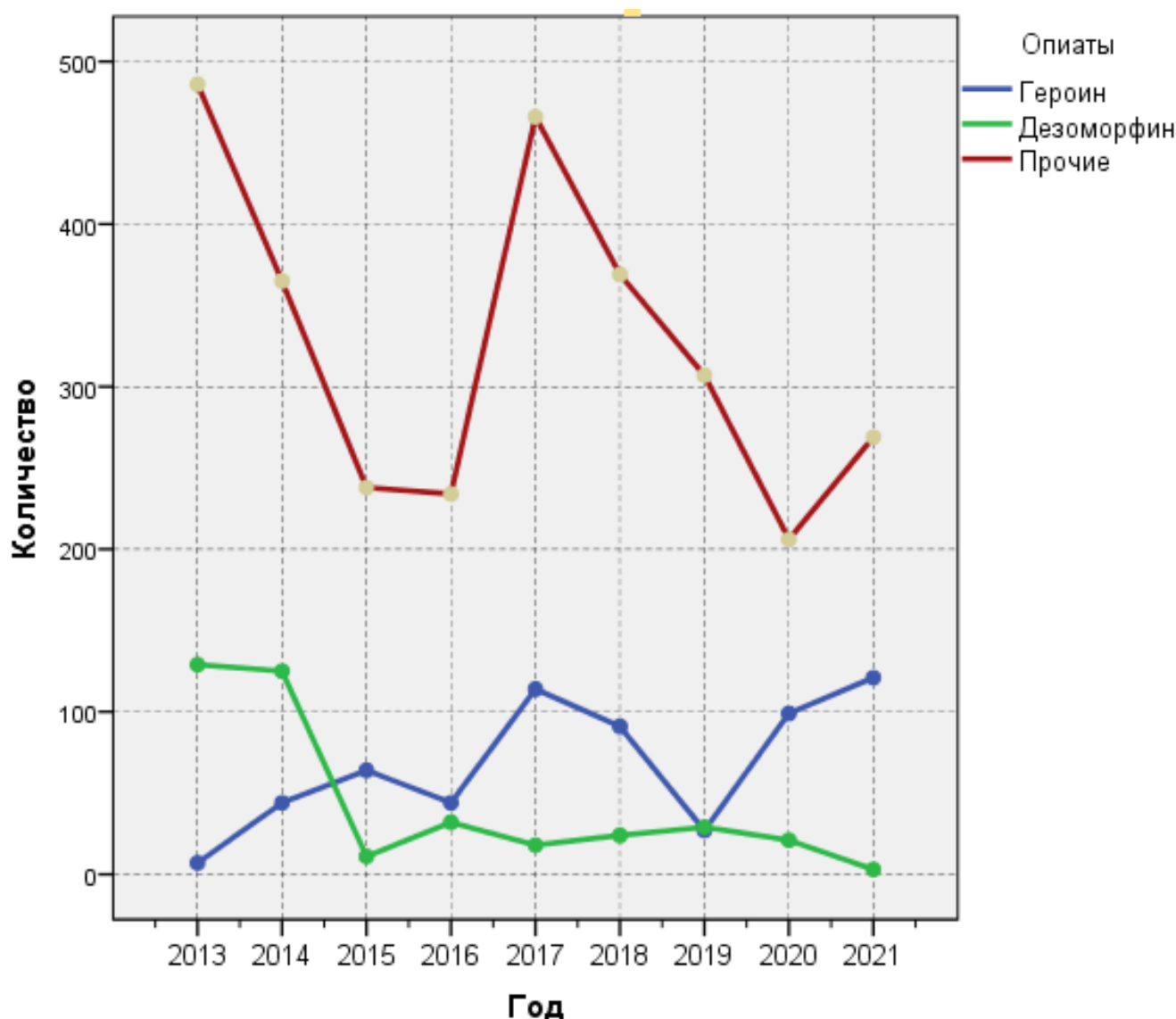


Рис. 2. Детекция различных подгрупп опиатов с 2013 по 2021 годы
Fig. 2. Detection of various subgroups of opiates from 2013 to 2021

Каннабиноиды. Пик потребления каннабиноидов был в 2014 году (950) с дальнейшим постепенным снижением к 2020 (490) и повторным повышением до 634 в 2021 году. Максимальная детекция синтетических каннабиноидов (СКБ) приходится на 2016 год (498), с резким снижением до 26 в 2019 году и небольшим повышением до 65 и 61 в 2020 и 2021 году соответственно. Во все

годы кроме 2016 преобладает потребление естественных каннабиноидов (ЕКБ), постепенно увеличиваясь к 2019 году до 724 и снижаясь в 2020 году до 425 (вероятно, это связано с пандемией). В 2021 году было выявлено 573 случая потребления естественных каннабиноидов в качестве моновещества. Наглядно детекция каннабиноидов представлена на рисунке 3.

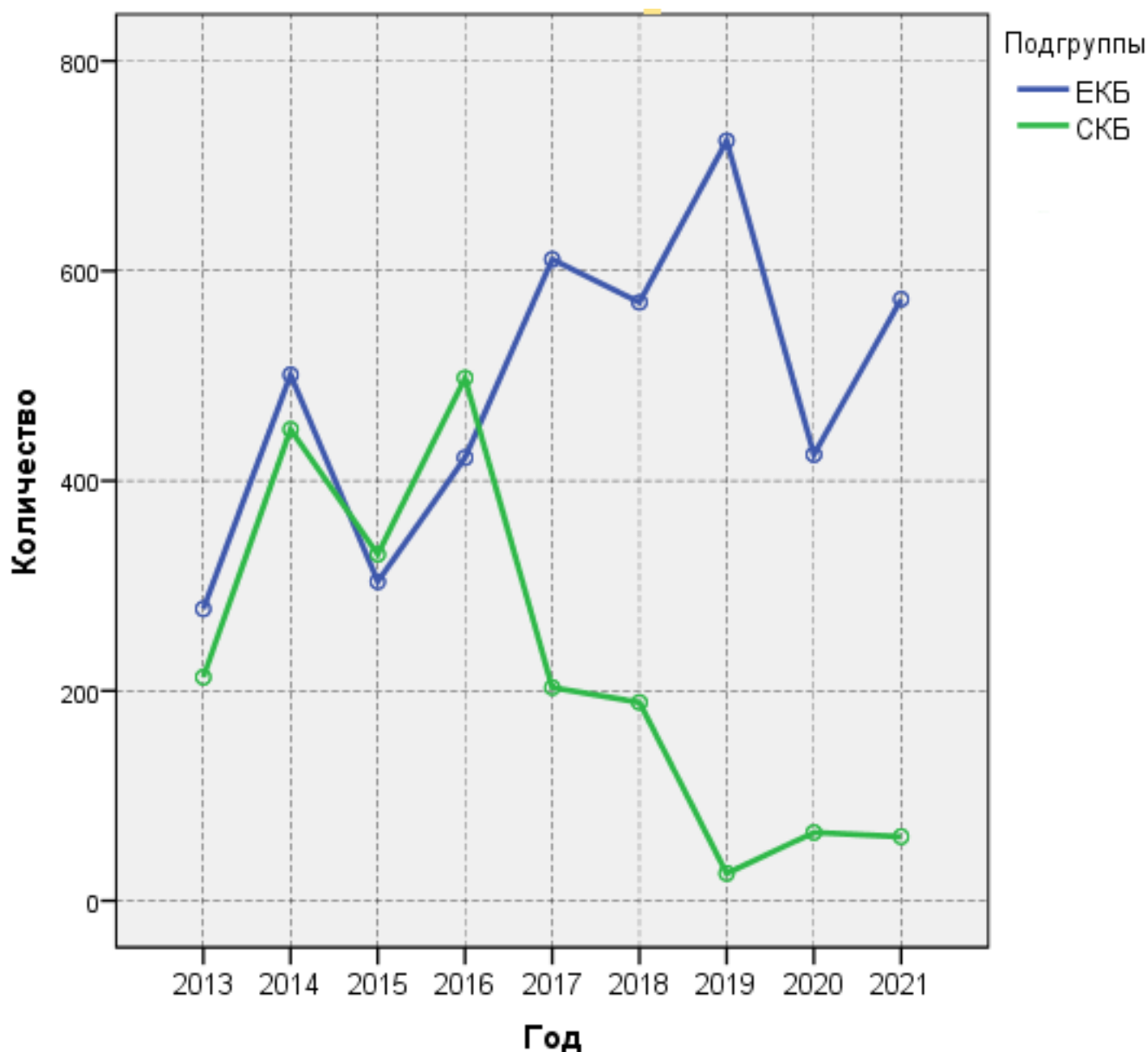


Рис. 3. Детекция различных подгрупп каннабиноидов с 2013 по 2021
Fig. 3. Detection of various subgroups of cannabinoids from 2013 to 2021

Психостимуляторы. Стимуляторы самая многочисленная группа потребляемых веществ. В группу стимуляторов входит широкий спектр веществ, которые мы разделили на синтетические катиноны (мефедрон, альфа-ПВП и др.) и все прочие (амфетамин, первитин и др.). Львиную долю рынка занимают катиноны (97%). Общее количество стимуляторов

снижалось с 2016 года (1478) до 2020 года (711) с дальнейшим повышением в 2021 году до 985. Для катинонов характерна указанная тенденция. Потребление прочих стимуляторов сохраняется в диапазоне от 21 до 50 ежегодно, за исключением роста в 2020 году до 86. Наглядно детекция психостимуляторов представлена на рисунке 4.

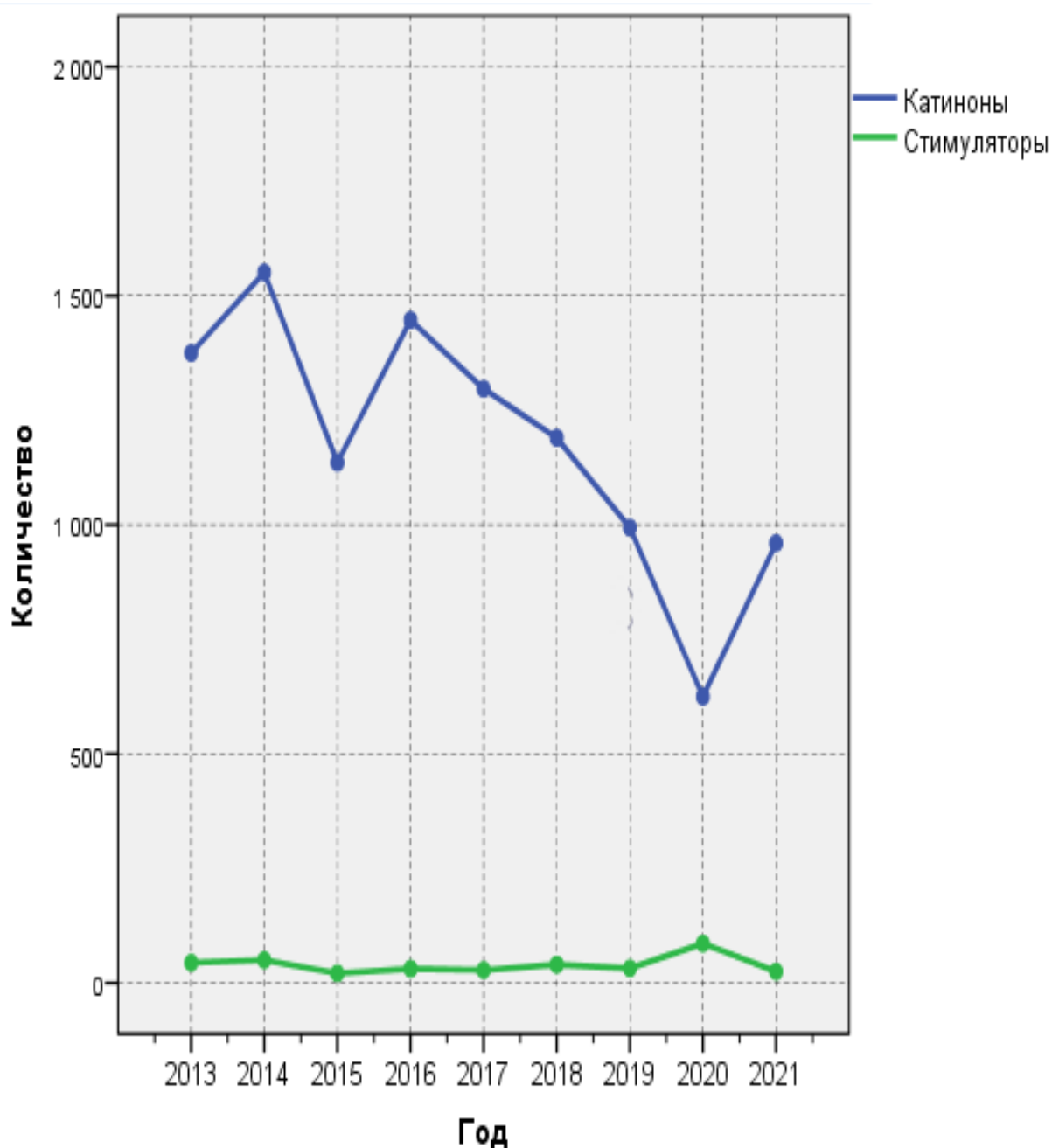


Рис 4. Детекция различных подгрупп психостимуляторов с 2013 по 2021 годы
Fig. 4. Detection of various subgroups of psychostimulants from 2013 to 2021

Седативные препараты. В этой группе рассматривалось потребление бензодиазепинов и барбитуратов, для которых характерны схожие тенденции, поэтому мы рассмотрим их вместе. Постепенный рост от 268 в 2013 до 730 в 2017 году с последующим снижением до 125 в 2020 и 123

в 2021 году. Особенностью потребителей седативных веществ можно назвать большее количество женщин по сравнению с другими группами (относительно мужчин), процентные соотношения приводились выше. Наглядно детекция седативных веществ представлена на рисунке 5.

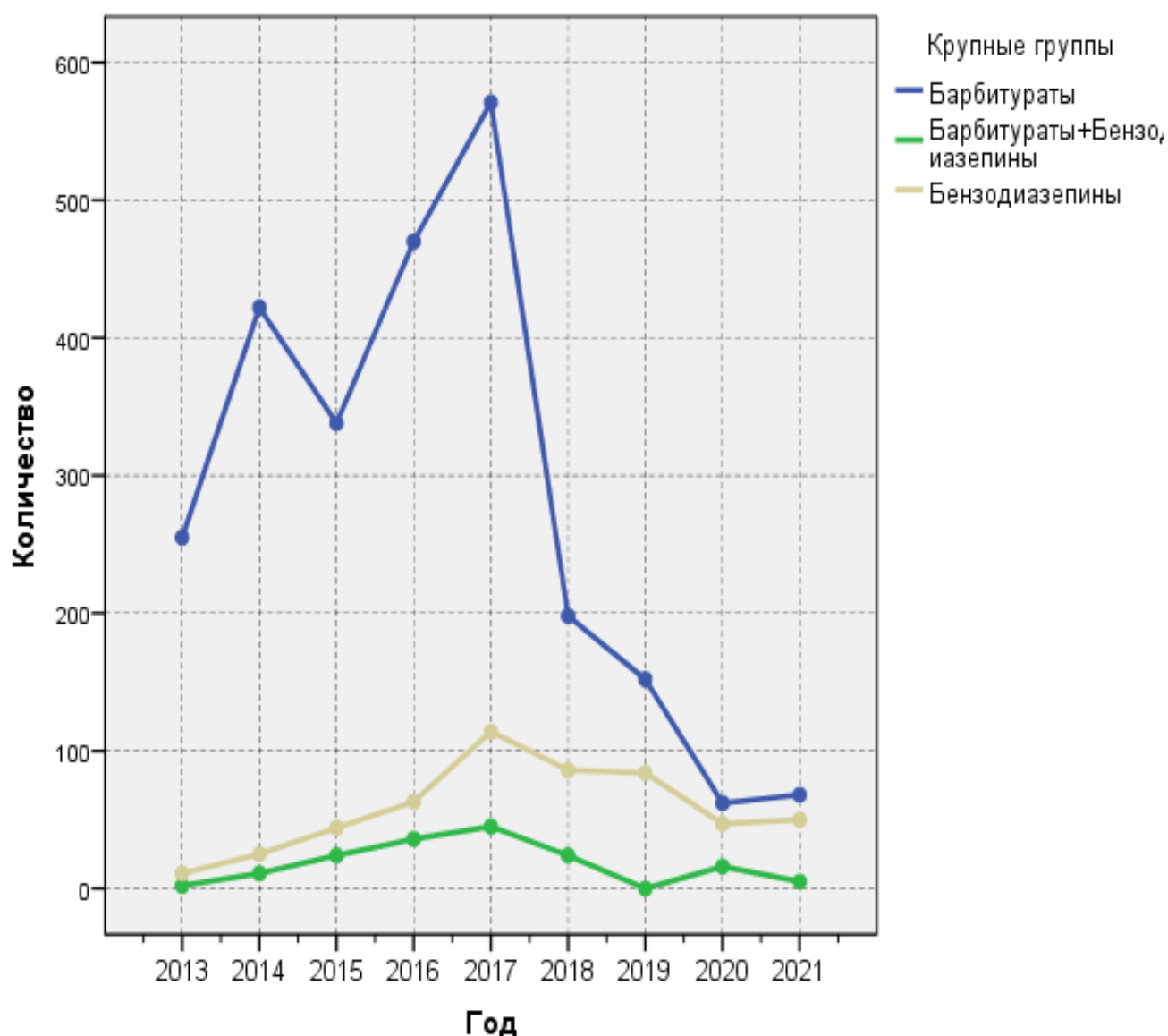


Рис. 5. Детекция различных подгрупп седативных веществ с 2013 по 2021 годы
Fig. 5. Detection of various subgroups of sedatives from 2013 to 2021

Потребление более чем одной группы веществ.

При анализе группы, в которой было детектировано более одного вещества было обнаружено, что опиаты чаще всего сочетают со стимуляторами или естественными каннабиноидами, что может быть связано с попыткой преодолеть абстинентный синдром. Стимуляторы чаще

сочетают с естественными и синтетическими каннабиноидами, потребление которых отражает тренд монотекции – рост натуральных ПАВ в последние годы и пик синтетических ПАВ в 2016 году. Следует отметить, что отмечается общий рост полипотребления в последние годы. Наглядно детекция полипотребления представлена на рисунке 6.

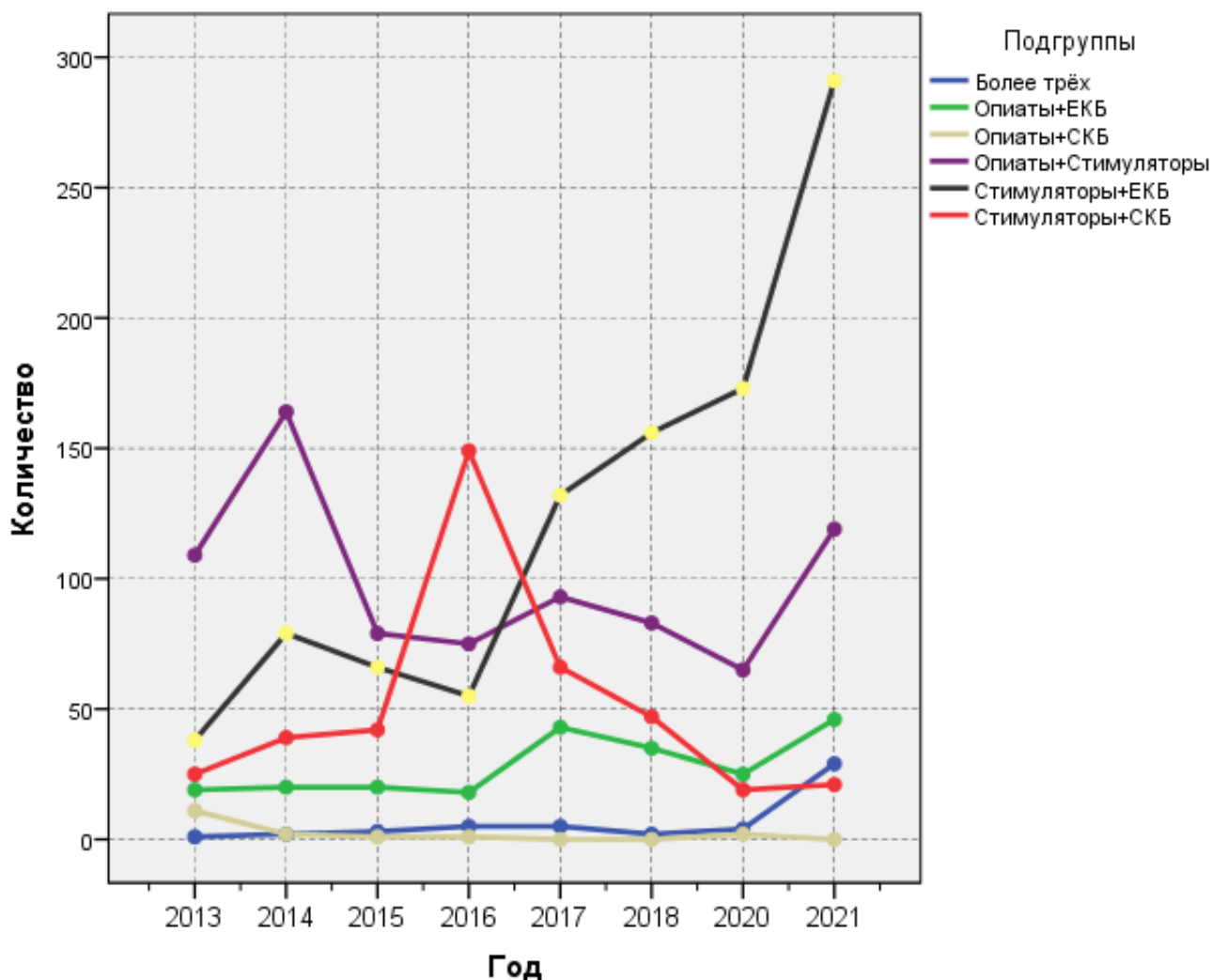


Рис. 6. Детекция различных вариантов полипотребления с 2013 по 2021 годы
Fig. 6. Detection of various variants of simultaneous use of several psychoactive substances from 2013 to 2021

Обсуждение. Анализируя полученные результаты, мы можем наметить ряд тенденций, которые следует учесть при планировании дальнейших исследований. У мужчин чаще чем у женщин выявлялись все группы ПАВ, что позволяет предположить, что мужчины чаще чем женщины потребляют ПАВ; это соответствует данным, которые приводят зарубежные авторы [21]. В период начала пандемии новой коронавирусной инфекции (2020) произошло снижение потребления ПАВ, наблюдавшееся также и в европейских городах [22], что может быть объяснено введенными ограничениями на передвижение и воздушные перевозки [23]. Однако, по данным 2021-го

года нельзя делать вывод о каком-либо значимом снижении детекции ПАВ, следовательно и потребления ПАВ среди населения. Кроме того, некоторые исследования отрицают влияние ограничений, связанных с пандемией, на приобретение и потребление наркотических средств [24]. Среди лиц, у которых было детектировано употребление ПАВ преобладают лица до 40 лет, что важно при возможной оценке экономических потерь, связанных с потреблением ПАВ [25]. Также мы обнаружили возрастные особенности потребления: молодые реже употребляли опиаты, но чаще каннабиноиды, что согласуется с общероссийской тенденцией употребления наркотических веществ последних десяти лет [26].

При анализе детекции отдельных веществ также выявляются некоторые закономерности. Среди потребляемых опиатов реже стал встречаться дезоморфин (нередко производимый в «домашних» условиях [27]), при более частой детекции героина, метадона и других опиатов. Среди каннабиноидов распространенность натуральных веществ в последние годы преобладают над распространенностью синтетических. Среди стимуляторов, наоборот, преобладают синтетические катиноны. Динамика потребления седативных веществ в целом совпадает с динамикой потребления других ПАВ (в особенности опиатов), что дает возможность предположить об использовании данной группы веществ в целях самопомощи при применении других ПАВ, даже если другое ПАВ не было детектировано. Увеличение потребления бензодиазепинов в период пандемии новой коронавирусной инфекции можно рассматривать как стратегию преодоления; их употребление теоретически может компенсировать доступ к другим наркотическим средствам [28]. В целом, потребление одного вещества более характерно чем полипотребление.

Заключение. Можно сделать вывод, что уровень потребления наркотических веществ на территории Республики Башкортостан не уменьшается, меняется лишь его структура. Среди выявленных потребителей больше мужчин чем женщин. Обнаружены возрастные особенности потребления: молодые потребители предпочитали каннабиноиды, более возрастные предпочитали опиаты и седативные вещества. Наиболее распространенные ПАВ – психо-стимуляторы (синтетические катиноны) и каннабиноиды. Представленные данные носят обзорный характер и требуют дальнейшего глубокого изучения.

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. Брюн ЕА, Летникова ЛИ, Евдокимов АЮ, и др. О мониторинге смертности населения, связанной с употреблением психоактивных веществ. Общественное здоровье. 2021;1(1):44-55. DOI: <https://doi.org/10.21045/2782-1676-2021-1-1-44-55>
2. Кошкина ЕА, Брюн ЕА, Киржанова ВВ, и др. Мониторинг психических и поведенческих расстройств, связанных с употреблением психоактивных веществ в Москве в 2017-2018 годах. Наркология. 2020;19(4):22-34. DOI: <https://doi.org/10.25557/1682-8313.2020.04.22-34>
3. Выписка из доклада о наркоситуации в Российской Федерации в 2020 году [Электронный ресурс] [дата обращения 19.06.2022]. URL: https://www.gov.spb.ru/static/writable/ckeditor/uploads/2021/11/24/24/%D0%92%D1%8B%D0%BF%D0%B8%D1%81%D0%BA%D0%B0_%D0%94%D0%BE%D0%BA%D0%BB%D0%B0%D0%B4_%D0%9D%D0%A1_%D0%A0%D0%A4_2020__07_2021.doc
4. Показатели преступности России. Карта. [Электронный ресурс] [дата обращения 19.06.2022]. URL: http://crimestat.ru/offenses_map.
5. Асадуллин АР. Анализ распространенности синтетических каннабиноидов в республике Башкортостан. Медицинский вестник Башкортостана. 2016;11(6(66)):61-64.
6. Асадуллин АР, Асадуллина ГМ, Тимербулатова МФ, и др. Анализ суицидального поведения у потребителей "дизайнерских" наркотических средств. Педагогический журнал Башкортостана. 2017;1(68):112-118. DOI: <https://doi.org/10.21510/1817-3292-2017-1-112-118>
7. Асадуллин АР. Динамика потребления психоактивных веществ в республике Башкортостан с углубленным клинико-генетическим изучением формирования зависимости от веществ группы синтетических катинонов [диссертация]. Санкт-Петербург; 2018.

8. Савчишкина ОГ. Детерминанты, оказывающие влияние на наркотизацию населения в Республике Башкортостан. Пробелы в российском законодательстве. 2015;1:176-178.
9. Тепляшин ПВ, Мамай ЕА. Криминологическая и социологическая характеристика незаконного оборота наркотиков опийной группы в Приволжском федеральном округе. Вестник Пермского института ФСИН России. 2020;3:53-61.
10. Vari MR, Mannocchi G, Tittarelli R, et al. New psychoactive substances: evolution in the exchange of information and innovative legal responses in the European Union. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17(22):8704. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17228704>
11. Peacock A, Bruno R, Gisev N, et al. New psychoactive substances: challenges for drug surveillance, control, and public health responses. *The Lancet*. 2019;394(10209):1668-1684. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32231-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32231-7)
12. Zanfognini B, Pigani L, Zanardi C. Recent advances in the direct electrochemical detection of drugs of abuse. *Journal of Solid State Electrochemistry*. 2020;24:2603-2616. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10008-020-04686-z>
13. Rahimi A, Nojavan S, Tabani H, et al. Inside gel electromembrane extraction: A novel green methodology for the extraction of morphine and codeine from human biological fluids. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2020;184:113175. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113175>
14. Huestis MA, Smith ML. Cannabinoid markers in biological fluids and tissues: revealing intake. *Trends in Molecular Medicine*. 2018;24(2):156-172. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.12.006>
15. Mao K, Zhang H, Pan Y. Biosensors for wastewater-based epidemiology for monitoring public health. *Water Research*. 2021;191:116787. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116787>
16. Foppe KS, Hammond-Weinberger DR, Subedi B. Estimation of the consumption of illicit drugs during special events in two communities in Western Kentucky, USA using sewage epidemiology. *Science of the Total Environment*. 2018;633:249-256. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.175>
17. Daglioglu N, Guzel EY, Kilercioglu S. Assessment of illicit drugs in wastewater and estimation of drugs of abuse in Adana Province, Turkey. *Forensic Science International*. 2019;294:132-139. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.11.012>
18. Woźniak MK, Wiergowski M, Aszyk J, et al. Application of gas chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of amphetamine-type stimulants in blood and urine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018;148:58-64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.09.020>
19. Gerace E, Caneparo D, Borio F, et al. Determination of several synthetic cathinones and an amphetamine-like compound in urine by gas chromatography with mass spectrometry. Method validation and application to real cases. *Journal of Separation Science*. 2019;42(8):1577-1584. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201801249>
20. Tang SH, Chuang CH, Chen SF, et al. Optimized procedures for simultaneous quantitation of low concentration levels of morphine and codeine in urine using gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Medical Science*. 2020;40(2):68-75. DOI: https://doi.org/10.4103/jmedsci.jmedsci_124_19
21. World Drug Report 2020 (United Nations publication, Sales No. E.20.XI.6). [Электронный ресурс] [дата обращения 10.09.2022]. URL: https://wdr.unodc.org/wdr2020/field/WDR20_Booklet_5.pdf
22. Been F, Emke E, Matias J, et al. Changes in drug use in European cities during early COVID-19 lockdowns – A snapshot from wastewater analysis. *Environment International*. 2021;153:106540. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106540>
23. Chiappini S, Guirguis A, John A, et al. COVID-19: The hidden impact on mental health and drug addiction. *Frontiers in Psychiatry*. 2020;11:767. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00767>
24. Scherbaum N, Bonnet U, Hafermann H, et al. Availability of illegal drugs during the COVID-19 pandemic in Western Germany. *Frontiers in Psychiatry*. 2021;12:648273. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.648273>
25. Gonis GI. Illicit drugs use among youth: a hindrance to socio-economic development in Rwanda. *Social Research Reports*. 2018;10(2):74-84.
26. Позднякова МЕ, Брюно ВВ. Сравнительный социологический анализ изменений ситуации с потреблением наркотиков

в России за 30 лет: 1990-2020 гг. Вопросы наркологии. 2021;5(200):15-51. DOI: https://doi.org/10.47877/0234-0623_2021_05_15

27. Плешаков АА, Черкудинов ДА. Дезоморфиновая лихорадка. Наркоконтроль. 2010;3:35-36.

28. Winstock AR, Davies EL, Gilchrist G, et al. Global Drug Survey special edition on COVID-19 global interim report [Электронный ресурс] [дата обращения 01.11.2022]. URL: https://www.globaldrugsurvey.com/wp-content/themes/globaldrugsurvey/assets/GDS_COVID-19-GLOBAL_Interim_Report-2020.pdf

References

1. Brun EA, Letnikova LI, Evdokimov AY, et al. On monitoring of population mortality related to the use of psychoactive substances. Public Health. 2021;1(1):44-55. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21045/2782-1676-2021-1-1-44-55>

2. Koshkina EA, Bryun EA, Kirzhanova VV, et al. Monitoring of mental and behavioral disorders associated with the use of psychoactive substances in Moscow in 2017-2018. Narcology. 2020;19(4):22-34. Russian. DOI: <https://doi.org/10.25557/1682-8313.2020.04.22-34>

3. Extract from the report on the drug situation in the Russian Federation in 2020 [Internet] [cited 2022 June 19]. Russian. Available from: https://www.gov.spb.ru/static/writable/ckeditor/uploads/2021/11/24/24/%D0%92%D1%8B%D0%BF%D0%B8%D1%81%D0%BA%D0%B0_%D0%94%D0%BE%D0%BA%D0%BB%D0%B0%D0%B4_%D0%9D%D0%A1_%D0%A0%D0%A4_2020__07_2021.doc

4. Indicators of crime in Russia. Map. [Internet] [cited 2022 June 25]. Russian. Available from: http://crimestat.ru/offenses_map

5. Asadullin AR. The overview of the prevalence of synthetic cannabinoids in the Republic of Bashkortostan. Bashkortostan Medical Journal. 2016;11(6(66)):61-64. Russian.

6. Asadullin AR, Asadullina GM, Timerbulatova MF, et al. Analysis of suicidal behavior among consumers of "designer" drugs. Pedagogical Journal of Bashkortostan. 2017;1(68):112-118. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21510/1817-3292-2017-1-112-118>

7. Asadullin AR. Dynamics of psychoactive substance consumption in the Republic of

Bashkortostan with in-depth clinical and genetic study of the formation of dependence on substances of the group of synthetic cathinones [dissertation]. Saint-Petersburg: Bekhterev Psychoneurological Research Institute; 2018. Russian.

8. Savchishkina OG. Determinants influencing anesthesia of the population in the Republic of Bashkortostan. Gaps in Russian Legislation. 2015;1:176-178. Russian.

9. Teplyashin PV, Mamay EA. Criminological and sociological characteristics of illicit drug trafficking of the opium group in the Volga Federal District. Journal of the Perm Institute of the FPS of Russia. 2020;3:53-61. Russian.

10. Vari MR, Mannocchi G, Tittarelli R, et al. New psychoactive substances: evolution in the exchange of information and innovative legal responses in the European Union. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2020;17(22):8704. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17228704>

11. Peacock A, Bruno R, Gisev N, et al. New psychoactive substances: challenges for drug surveillance, control, and public health responses. The Lancet. 2019;394(10209):1668-1684. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32231-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32231-7)

12. Zanfagnini B, Pigani L, Zanardi C. Recent advances in the direct electrochemical detection of drugs of abuse. Journal of Solid State Electrochemistry. 2020;24:2603-2616. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10008-020-04686-z>

13. Rahimi A, Nojavan S, Tabani H, et al. Inside gel electromembrane extraction: A novel green methodology for the extraction of morphine and codeine from human biological fluids. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2020;184:113175. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113175>

14. Huestis MA, Smith ML. Cannabinoid markers in biological fluids and tissues: revealing intake. Trends in Molecular Medicine. 2018;24(2):156-172. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.12.006>

15. Mao K, Zhang H, Pan Y. Biosensors for wastewater-based epidemiology for monitoring public health. Water Research. 2021;191:116787. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116787>

16. Foppe KS, Hammond-Weinberger DR, Subedi B. Estimation of the consumption of illicit drugs during special events in two communities in Western Kentucky, USA using sewage epidemiology. Science of the Total Environment.

2018;633:249-256. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.175>

17. Daglioglu N, Guzel EY, Kilercioglu S. Assessment of illicit drugs in wastewater and estimation of drugs of abuse in Adana Province, Turkey. *Forensic Science International*. 2019;294:132-139. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.11.012>

18. Woźniak MK, Wiergowski M, Aszyk J, et al. Application of gas chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of amphetamine-type stimulants in blood and urine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018;148:58-64. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.09.020>

19. Gerace E, Caneparo D, Borio F, et al. Determination of several synthetic cathinones and an amphetamine-like compound in urine by gas chromatography with mass spectrometry. Method validation and application to real cases. *Journal of Separation Science*. 2019;42(8):1577-1584. DOI:
<https://doi.org/10.1002/jssc.201801249>

20. Tang SH, Chuang CH, Chen SF, et al. Optimized procedures for simultaneous quantitation of low concentration levels of morphine and codeine in urine using gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Medical Science*. 2020;40(2):68-75. DOI:
https://doi.org/10.4103/jmedsci.jmedsci_124_19

21. World Drug Report 2020 (United Nations publication, Sales No. E.20.XI.6). [Internet] [cited 2022 September 10]. Available from: https://wdr.unodc.org/wdr2020/field/WDR20_Booklet_5.pdf

22. Been F, Emke E, Matias J, et al. Changes in drug use in European cities during early COVID-19 lockdowns – A snapshot from wastewater analysis. *Environment International*. 2021;153:106540. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106540>

23. Chiappini S, Guirguis A, John A, et al. COVID-19: The hidden impact on mental health and drug addiction. *Frontiers in Psychiatry*. 2020;11:767. DOI:
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00767>

24. Scherbaum N, Bonnet U, Hafermann H, et al. Availability of illegal drugs during the COVID-19 pandemic in Western Germany. *Frontiers in Psychiatry*. 2021;12:648273. DOI:
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.648273>

25. Gonis GI. Illicit drugs use among youth: a hindrance to socio-economic development in Rwanda. *Social Research Reports*. 2018;10(2):74-84.

26. Pozdniakova ME, Bryuno VV. Comparative analysis of changes in drug situation in Russia for 30 years: 1990-2020. *Journal of Addiction Problems*. 2021;5(200):15-51. Russian. DOI:
https://doi.org/10.47877/0234-0623_2021_05_15

27. Pleshakov AA, Cherkudinov DA. Desomorphine fever. *Drug control*. 2010;3:35-36. Russian.

28. Winstock AR, Davies EL, Gilchrist G, et al. Global Drug Survey special edition on COVID-19 global interim report [Internet] [cited 2022 Nov 1]. Available from: https://www.globaldrugsurvey.com/wp-content/themes/globaldrugsurvey/assets/GDS_COVID-19-GLOBAL_Interim_Report-2020.pdf

Статья поступила в редакцию 9 июля 2022 г.
Поступила после доработки 2 ноября 2022 г.
Принята к печати 24 декабря 2022 г.

Received 9 July 2022

Revised 2 November 2022

Accepted 24 December 2022

Информация об авторах

Илья Сергеевич Ефремов, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры психиатрии и наркологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: efremovilya102@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9994-8656>.

Елена Хамитовна Галеева, заведующий клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ «Республиканский клинический наркологический диспансер»; главный внештатный специалист Министерства здравоохранения Российской Федерации по аналитической и судебно-медицинской токсикологии по Приволжскому федеральному округу, г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: xtl.ufa@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4774-7366>.

Иван Владиславович Николаев, биолог клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ «Республиканский клинический наркологический диспансер», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: nikolaev.i.86@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9920-0912>.

Галия Радифовна Ахметгареева, кандидат медицинских наук, заведующий кабинетом внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности ГБУЗ «Республиканский клинический психотерапевтический центр», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail:

galiya_rad@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5654-1557>.

Анастасия Евгеньевна Абдрахманова, врач-психиатр ГБУЗ «Республиканский клинический психотерапевтический центр», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: anastasiamosyakova@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8298-8072>.

Зарифжон Шарифович Ашуров, доктор медицинских наук, профессор, директор Республиканского специализированного научно-практического центра наркологии, п. Салар; заведующий кафедрой психиатрии и наркологии Ташкентской медицинской академии, г. Ташкент, Республика Узбекистан, E-mail: zarif.ashurov@tma.uz, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8322-3482>.

Регина Фаритовна Насырова, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник института персонализированной психиатрии и неврологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии имени В.М. Бехтерева», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: nreginaf77@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1874-9434>.

Азат Раилевич Асадуллин, доктор медицинских наук, профессор кафедры психиатрии и наркологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: droar@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7148-4485>.

Information about the authors

Ilia S. Efremov, Cand. Sci. (Medicine), Assistant at the Department of Psychiatry and Narcology with the course of IDPO, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: efremovilya102@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9994-8656>.

Elena H. Galeeva, Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, Republican Clinical Narcological Dispensary; Chief Freelance Specialist of the Ministry of Health of the Russian Federation for Analytical and Forensic Toxicology in the Volga Federal District, Ufa, Russia, E-mail: xtl.ufa@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4774-7366>.

Ivan V. Nikolaev, Biologist at the Clinical Diagnostic Laboratory, Republican Clinical Narcological Dispensary, Ufa, Russia, E-mail: nikolaev.i.86@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9920-0912>.

Galiya R. Akhmetgareeva, Cand. Sci. (Medicine), Head of the Office for Internal Quality Control and Safety of Medical Activities, Republican Clinical Psychotherapeutic Center, Ufa, Russia, E-mail: galiya_rad@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5654-1557>.

Anastasia E. Abdrakhmanova, Psychiatrist, Republican Clinical Psychotherapeutic Center, Ufa, Russia, E-mail: anastasiamosyakova@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8298-8072>.

Zarifzhon Sh. Ashurov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Director, Republican Specialized Scientific-Practical Medical Center of Narcology, Salar; Head of the Department of Psychiatry and Narcology, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan, E-mail: zarif.ashurov@tma.uz, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8322-3482>.

Regina F. Nasyrova, Doct. Sci. (Medicine), Chief Researcher at the Institute of Personalized Psychiatry and Neurology, Bekhterev Psychoneurological Research Institute, Saint-Petersburg, Russia, E-mail: nreginaf77@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1874-9434>.

Azat R. Asadullin, Doct. Sci. (Medicine), Professor at the Department of Psychiatry and Narcology with the course of IDPO, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: droar@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7148-4485>.