

ISSN 2658-6533

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

10(4) 2024

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 10, №4. 2024

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2014 г.

ISSN 2658-6533



Volume 10, №4. 2024

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

Е.А. Андреева, Э.Т. Мингажева, Р.Р. Фаисханова, Я.В. Валова, Ю.Ю. Федорова, А.Х. Нургалиева, Д.Д. Сакаева, Э.К. Хуснутдинова, Д.С. Прокофьева Рак яичников: роль метилирования генов в канцерогенезе (обзор)	494	Ekaterina A. Andreeva, Elvira T. Mingazheva, Rania R. Faiskhanova, Yana V. Valova, Yulia Yu. Fedorova, Alfiya Kh. Nurgalieva, Dina D. Sakaeva, Elza K. Khusnutdinova, Darya S. Prokofieva Ovarian cancer: the significant of gene methylation in carcinogenesis (review)	494
Anduriña Barrios-Martinez, Odalys Molina, Michel Soriano-Torres, Pedro Carbonell, Diana Martin-Garcia, Luis A. Méndez-Rosado Unusual chromosomal rearrangements detected by FISH in patients at high genetic risk	510	Anduriña Barrios-Martinez, Odalys Molina, Michel Soriano-Torres, Pedro Carbonell, Diana Martin-Garcia, Luis A. Méndez-Rosado Unusual chromosomal rearrangements detected by FISH in patients at high genetic risk	510
Maryam Janbozorgi, Masoumeh Hosseinzadeh, Asma Taheri, Sahar Ghafaripur Impact of Aerobic Exercise on Expression of <i>OPN</i> and <i>OPG</i> Genes and Bmal1 Protein in the Bone Tissue of Diabetic Rats During Two Phases of Light and Dark Circadian Rhythm	520	Maryam Janbozorgi, Masoumeh Hosseinzadeh, Asma Taheri, Sahar Ghafaripur Impact of Aerobic Exercise on Expression of <i>OPN</i> and <i>OPG</i> Genes and Bmal1 Protein in the Bone Tissue of Diabetic Rats During Two Phases of Light and Dark Circadian Rhythm	520
О.В. Головченко Особенности межлокусных взаимодействий при формировании изолированных и сочетанных осложнений беременности	532	Oleg V. Golovchenko Characteristics of inter-locus interactions in the development of isolated and combined complications of pregnancy	532

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACOLOGY

Hang N. Thi, Tai P. Anh, Dang T.D. Khanh, Tran B.N. Huyen, Duy D.N. Anh, Hien N. Thanh Study on biological activities of herbs' decoction combining <i>Scutellaria barbata</i> , <i>Hedyotis diffusa</i> and <i>Ehretia asperula</i>	553	Hang N. Thi, Tai P. Anh, Dang T.D. Khanh, Tran B.N. Huyen, Duy D.N. Anh, Hien N. Thanh Study on biological activities of herbs' decoction combining <i>Scutellaria barbata</i> , <i>Hedyotis diffusa</i> and <i>Ehretia asperula</i>	553
А.Ю. Ляшев, Г.С. Маль, Е.Б. Артюшкова, М.А. Баланина Влияние даларгина на содержание матриксных металлопротеиназ и тканевого ингибитора металлопротеиназ в толстом кишечнике мышей с экспериментальным язвенным колитом	563	Andrei Yu. Liashev, Galina S. Mal, Elena B. Artyushkova, Mariya A. Balanina Effect of dalargin on the content of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in the colon of mice with experimental ulcerative colitis	563

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

MEDICINE

Pavel I. Letyagin, Ludmila N. Stankevich, Taisiia A. Ulianova Eating disorders: neuroendocrine changes and potential treatments (review)	578	Pavel I. Letyagin, Ludmila N. Stankevich, Taisiia A. Ulianova Eating disorders: neuroendocrine changes and potential treatments (review)	578
Т.Е. Белокрыницкая, А.Г. Сидоркина, В.А. Мудров Возможности ранней диагностики поражений ЦНС плода в антенатальном периоде (обзор)	589	Tatiana E. Belokrinitskaya, Anastasia G. Sidorkina, Victor A. Mudrov Possibilities for early diagnosis of fetal central nervous system lesions in the antenatal period (review)	589
Д.А. Зимин, В.А. Постоев, Л.И. Меньшикова, И.М. Сон, К.Д. Сидоренко Качество жизни женщин различного возраста с раком молочной железы после радикальной мастэктомии и его социально-демографические детерминанты	606	Dmitry A. Zimin, Vitaly A. Postoev, Larisa I. Menshikova, Irina M. Son, Kirill D. Sidorenko Quality of life of women with breast cancer after radical mastectomy and its socio-demographic determinants	606
О.Л. Фабрикантов, Н.В. Попова, Ю.Ю. Блинков, А.А. Шорохова, А.Е. Воронина Особенности воспалительного процесса у пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией	621	Oleg L. Fabrikantov, Natalia V. Popova, Yuri Y. Blinkov, Anastasia A. Shorokhova, Alexandra E. Voronina Features of the inflammatory process in patients with social isolation and age-related macular degeneration	621

ГЕНЕТИКА GENETICS



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-1

УДК 577.29

Рак яичников: роль метилирования генов в канцерогенезе (обзор)

Е.А. Андреева^{1,2} , Э.Т. Мингажева¹ , Р.Р. Фаисханова³ , Я.В. Валова^{1,4} ,
Ю.Ю. Федорова¹ , А.Х. Нургалиева¹ , Д.Д. Сакаева⁵ ,
Э.К. Хуснутдинова^{1,5,6} , Д.С. Прокофьева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уфимский университет науки и технологий»,
ул. Заки Валиди, д. 32, г. Уфа, 450076, Российская Федерация

² Автономная некоммерческая организация высшего образования
«Уральский Медицинский Институт»,
ул. Курчатова, д. 9, г. Челябинск, 454092, Российская Федерация

³ Государственное автономное учреждение здравоохранения Республиканский
клинический онкологический диспансер,
пр-т Октября, д. 73/1, г. Уфа, 450054, Российская Федерация

⁴ Федеральное бюджетное учреждение науки «Уфимский научно-исследовательский
институт медицины труда и экологии человека»,
ул. Степана Кувыкина, д. 94, г. Уфа, 450106, Российская Федерация

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Башкирский государственный медицинский университет»,
ул. Ленина, д. 3, г. Уфа, 450008, Российская Федерация

⁶ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии
и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук,
пр-т. Октября, д. 71, г. Уфа, 450054, Российская Федерация

Автор для переписки: Е.А. Андреева (ekaterinabiology@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: Важную роль в прогрессии рака яичников играет эпигенетическая регуляция работы генов. Одним из подобных механизмов является метилирование ДНК генов супрессоров опухолеобразования и онкогенов. Подробное изучение метилирования может служить важной ступенью на пути усовершенствования методов раннего скрининга РЯ, а также открывает новые терапевтические мишени. **Цель исследования:** На основании изучения данных современной литературы рассмотреть роль метилирования ДНК в патогенезе рака яичников и оценить его вклад в развитие данного заболевания. **Материалы и методы:** Анализ литературных данных проводился по ключевым словам: метилирование ДНК, рак яичников, эпигенетическая регуляция, эпидемиология рака яичников. **Результаты:** Согласно данным литературы, при онкологических заболеваниях отмечается гиперметилирование промоторов генов-супрессоров или, напротив, гипометилирование онкогенов. Так, установлено, что при раке яичников часто наблюдается гиперметилирование промоторов генов *OPCML*, *PAX1*, *CDH1*, *HOXA9*, *HIC1*, *MLH1*. Важное диагностическое и/или прогностическое значение имеет метилирование

генов *HIST1H2BB*, *MAGI2*, *HOXA10* и *HOXA11*, *LAMA3*, *ESR1*, *TNF*, *MUC1* и *FOXO1*. Особую роль в прогрессии рака яичников играет метилирование генов микроРНК. **Заключение:** В отличие от генетических изменений, метилирование ДНК – обратимый процесс, что является весьма перспективным при разработке новых терапевтических подходов и ранней диагностики заболеваний, где гиперметилирование промоторов генов может служить потенциальным биомаркером. Результаты многочисленных исследований подтверждают важную роль метилирования генов супрессоров опухолевого роста и различных микроРНК в онкогенезе и свидетельствуют о необходимости дальнейшего анализа, направленного на расшифровку эпигенома человека. Понимание механизмов эпигенетической регуляции развития и течения рака будут способствовать разработке новых диагностических и прогностических методик и подходов для лечения злокачественных новообразований.

Ключевые слова: наследственный рак яичников; эпигенетическая регуляция; метилирование ДНК генов-онкосупрессоров; метилирование генов микро-РНК

Для цитирования: Андреева ЕА, Мингажева ЭТ, Фаисханова РР и др. Рак яичников: роль метилирования генов в канцерогенезе (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2024;10(4):494-509. DOI:10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-1

Ovarian cancer: the significant of gene methylation in carcinogenesis (review)

Ekaterina A. Andreeva^{1,2} , Elvira T. Mingazheva¹ , Rania R. Faiskhanova³ ,
Yana V. Valova^{1,4} , Yulia Yu. Fedorova¹ , Alfiya Kh. Nurgalieva¹ ,
Dina D. Sakaeva⁵ , Elza K. Khusnutdinova^{1,5,6} , Darya S. Prokofieva¹ 

¹ Ufa University of Science and Technology,
32 Zaki Validi St., Ufa, 450076, Russia

² Ural Medical Institute,
9 Kurchatov St., Chelyabinsk, 454092, Russia

³ Republican Clinical Oncology Dispensary,
73/1 Oktyabrya Ave., Ufa, 450054, Russia

⁴ Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology,
94 Stepan Kuvykin St., Ufa, 450106, Russia

⁵ Bashkir State Medical University,
3 Lenin St., Ufa, 450008, Russia

⁶ Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, RAS,
71 Oktyabrya Ave., Ufa, 450054, Russia

Corresponding author: Ekaterina A. Andreeva (ekaterinabiology@yandex.ru)

Abstract

Background: Epigenetic regulation of genes plays an important role in the development of ovarian cancer. One of these mechanisms is DNA methylation of tumor suppressor genes and oncogenes. A detailed study of methylation can serve as an important step towards improving the methods of early screening for OC. **The aim of the study:** Based on the study of modern literature data, to consider the role of DNA methylation in the pathogenesis of ovarian cancer and evaluate its contribution to the development of this disease. **Materials and methods:** Literature data were analyzed using the following keywords: DNA methylation, ovarian cancer, epigenetic regulation, epidemiology of ovarian cancer. **Results:** According to the literature data, hypermethylation of promoters of suppressor

genes or, conversely, hypomethylation of oncogenes is noted in oncological diseases. Thus, it has been established that hypermethylation of the promoters of the *OPCML*, *PAX1*, *CDH1*, *HOXA9*, *HIC1*, *MLH1* genes is often observed in ovarian cancer. Methylation of the *HIST1H2BB*, *MAGI2*, *HOXA10* and *HOXA11*, *LAMA3*, *ESR1*, *TNF*, *MUC1* and *FOXO1* genes has an important diagnostic and/or prognostic value. The methylation of miRNA genes plays a special role in the progression of ovarian cancer. **Conclusion:** In contrast to genetic changes, DNA methylation is a reversible process, which is very promising for the development of new therapeutic approaches and for early diagnosis of the disease, where hypermethylation of gene promoters can serve as biomarkers. Numerous studies support the important role of methylation tumor suppressor genes and various microRNAs in oncogenesis, and predisposes to the development of a field of research aimed at deciphering the human epigenome. Understanding the mechanisms of epigenetic regulation of the development and course of cancer will contribute to the development of new diagnostic and prognostic methods and approaches for cancer treatment.

Keywords: hereditary ovarian cancer; epigenetic regulation; DNA methylation of tumor suppressor genes; methylation of microRNA genes

For citation: Andreeva EA, Mingazheva ET, Faiskhanova RR, et al. Ovarian cancer: the significant of gene methylation in carcinogenesis (review). Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):494-509. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-1

Введение. Рак яичников (РЯ) – одно из наиболее часто диагностируемых гинекологических злокачественных заболеваний. В мировой статистике данная патология занимает третье место после рака тела и шейки матки. Более чем у 313 000 женщин во всем мире диагностируется данная форма рака [1]. Большинство пациенток умирает в течении двух лет после постановки диагноза, при этом пятилетняя выживаемость составляет не более 30% [2]. Высокий уровень смертности от РЯ в первую очередь объясняется бессимптомным течением заболевания, сложностью диагностики, выбора тактики лечебных мероприятий, высокой долей рецидивов [3]. В связи с этим, большинство случаев заболевания диагностируется на III-IV стадии, когда развивается активный метастатический процесс [4]. Процент заболевших данной формой рака находится в прямой зависимости от географического района, он будет выше в промышленно развитых странах, особенно в странах Европы и США. Злокачественные опухоли яичников встречаются у женщин всех возрастных групп, начиная с младенчества. Пик заболеваемости приходится на 55-59 лет [5].

Цель исследования. На основании изучения данных современной литературы

рассмотреть роль метилирования ДНК в патогенезе рака яичников и оценить его вклад в развитие данного заболевания.

Материалы и методы исследования. Анализ литературных данных проводился по ключевым словам: метилирование ДНК, рак яичников, эпигенетическая регуляция, эпидемиология рака яичников.

Факторы, влияющие на патогенез рака яичников. В основе патогенеза данной нозологической формы рака лежат нарушения работы генетического аппарата клеток, которые, в свою очередь, формируют их повышенную чувствительность к воздействию эндогенных и экзогенных факторов. К указанным факторам относятся возраст, большое количество овуляторных циклов, в том числе в результате применения гормональных препаратов, неправильное питание, вредные привычки и другие [6].

Роль генетического компонента в формировании предрасположенности к РЯ нельзя преуменьшать. Ещё в 1866 году французский врач Пьер Поль Брока проанализировал семейный анамнез своей жены и сделал вывод о роли наследственности в формировании злокачественных новообразований яичников и молочных желёз [7]. По данным когортного исследования, около

3% случаев рака яичников приходится на женщин с семейным анамнезом. Риск РЯ в 2,7-3,5 раза выше у женщин, чья мать или сестра болели раком яичников; при этом риск может повышаться, если заболевшему родственнику диагноз был установлен в более молодом возрасте. Также известно об ассоциации рака яичников с мутациями в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Ген *BRCA1* располагается на длинном плече 17-й хромосомы, а ген *BRCA2* – на длинном плече 13-й хромосомы. Мутации в данных генах увеличивают вероятность возникновения рака яичников и молочной железы в течение жизни до 72% и до 80%, соответственно. Риск рака яичников на 65% выше у женщин с нарушениями гена *BRCA1* и на 35% – гена *BRCA2* по сравнению с женщинами без мутаций в этих генах. Наследственные формы заболевания составляют 5-15% случаев рака яичников; большинство из них связаны с мутациями в генах *BRCA1/2* [4].

После BRCA-ассоциированного рака яичников второй наиболее частой причиной наследственного РЯ является синдром Линча. Наследование происходит по аутосомно-доминантному типу [8]. Согласно мета-анализу, около 7% женщин с синдромом Линча заболевают раком яичников к 70 годам.

Синдром Пейтца-Егерса является редким аутосомно-доминантным заболеванием, вызванным мутацией в гене *STK11* (серин/треонинкиназа 11)/*LKB1* [9]. Около 21% женщин с синдромом Пейтца-Егерса заболевают раком яичников в возрасте от 15 до 64 лет [10].

Гистологические типы опухолей яичников. Опухоли яичников характеризуются многообразием гистологических форм [6]. Их можно разделить на две группы: эпителиальные и неэпителиальные. Эпителиальные опухоли составляют 80-90% злокачественных новообразований яичников [4]. Эпителиальный рак яичников включает пять основных гистологических подтипов, включая серозную карциному

высокой и низкой степени злокачественности, эндометриоидные, светлоклеточные и муцинозные карциномы. У большинства пациентов (около 70%) диагностируется серозная карцинома высокой степени злокачественности [6]. Неэпителиальные опухоли включают в себя стромальноклеточные, липидноклеточные, герминогенные опухоли и гонадобластомы [11]. Как показано на рисунке 1, отдельные гистологические формы РЯ характеризуются изменениями в пределах определенных генов.

Эпигенетическая регуляция. В формировании злокачественных опухолей (в том числе, рака яичников) большую роль играют эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов [14]. Эпигенетические изменения включают взаимодействие между метилированием ДНК, модификацией гистонов и экспрессией микроРНК для модуляции экспрессии генов во время развития и прогрессирования рака [15].

Нарушение процессов метилирования ДНК является одним из наиболее распространенных молекулярных изменений, происходящих в злокачественных опухолях различной локализации, и, как правило, связано с устойчивостью к лекарственным препаратам. Метилирование ДНК имеет корреляцию с репрессией генов. Данная модификация заключается в добавлении метильных групп к цитозиновым остаткам матрицы ДНК. В клетках млекопитающих метилирование цитозина происходит преимущественно в динуклеотидах CpG [16]. Опосредованное ДНК-метилтрансферазой (DNMT) метилирование дезоксицитозина (Рис. 2), расположенного внутри динуклеотидов CpG, является наиболее известным и широко изученным эпигенетическим механизмом, приводящим к репрессии транскрипции при раке [15]. Метилирование ДНК выступает одним из ранних событий в онкогенезе и может быть использовано в качестве биомаркера для раннего диагностирования и таргетной терапии [17].

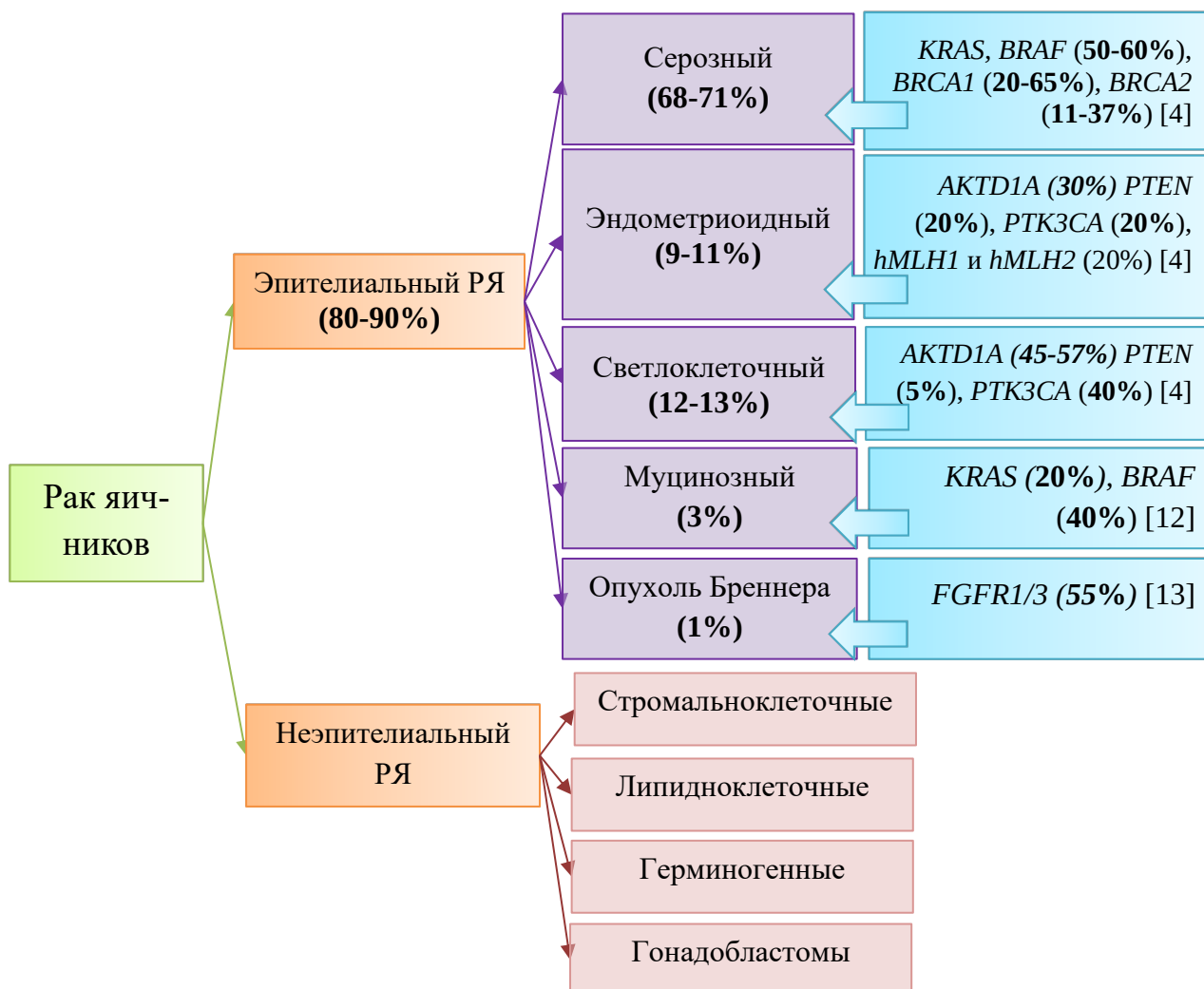


Рис. 1. Классификация гистологических типов РЯ и некоторые затрагиваемые гены
Fig. 1. Classification of histological types of OC some affected genes

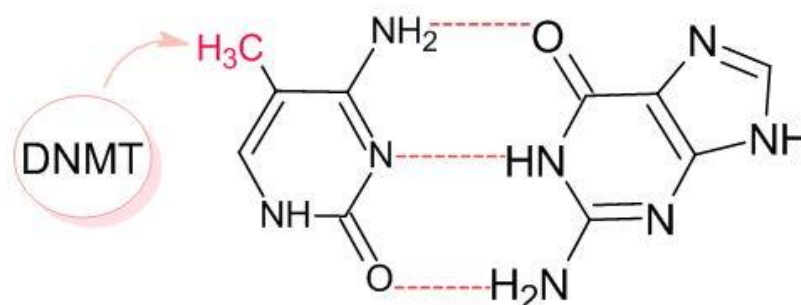


Рис. 2. Метилирование цитозиновых остатков матрицы ДНК
Fig. 2. Methylation of DNA template cytosines

Метилирование структурных генов при раке яичников. Гены *HIST1H2BB* и *MAGI2* являются генами-супрессорами опухолеобразования. Согласно литературным данным, метилирование CpG-

динуклеотидов промоторных регионов генов *HIST1H2BB* и *MAGI2* ассоциировано со снижением их экспрессии в опухолевых клетках яичников. Так, в исследовании Blanca L. Valle с соавт. (2020) был проведен

сравнительный анализ профилей метилирования в 12 образцах ткани серозного рака яичников высокой степени злокачественности и 30 образцах эпителия фаллопиевых труб с использованием Infinium Human Methylation 450K Array, а также оценка дифференциального метилирования у пациенток с длительной (> 5 лет) и короткой (< 3 лет) выживаемостью с последующим репликативным исследованием ($n=35$). С помощью иммуноблотинга с использованием специфических антител и исследований на клеточных линиях рака яичников было установлено, что метилирование промоторов генов *HIST1H2BB* и *MAGI2* снижает уровень экспрессии мРНК в клеточных линиях рака яичников. Полученные результаты свидетельствуют о том, что гены *HIST1H2BB* и *MAGI2* играют роль в подавлении опухолевого роста и могут быть использованы в качестве биомаркеров рака яичников [17].

Доказано, что в 5-15% случаев РЯ и РМЖ возникают в результате мутаций генов *BRCA1/2*. Но также установлено, что при спорадических формах РМЖ и РЯ часто отсутствуют мутации указанных генов, что заставляет предположить эпигенетическую природу их инактивации. Основными функциями гена *BRCA1* являются репарация ДНК, регуляция транскрипции и клеточного цикла, а также убиквитинирование белков. Метилирование ДНК указанного гена приводит к нарушению его функций. В клиниках ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России было проведено молекулярно-генетическое тестирование больных РЯ. Результаты данного исследования продемонстрировали, что частота встречаемости метилирования промотора гена *BRCA1* у больных солитарным РЯ (единичная опухоль) составила 12,2% (18/148), а в группе больных РЯ при первично-множественном злокачественном новообразовании (ПМЖ) – 3,1% (1 наблюдение). Метилирование промотора исследуемого гена не выявлялось у больных несерозным РЯ, а также у больных РЯ – носительниц мутации гена *BRCA1* (как при солитарном, так и при ПМЖ). При

этом исследование показало, что частота встречаемости мутации гена *BRCA1* у больных солитарным раком яичников составила 21,1% (38/148), а у больных раком яичников при ПМЖ 40,6% (13/32). Можно утверждать, что *BRCA1*-ассоциированные онкологические заболевания как правило обусловлены мутациями, а метилирование играет вторичную роль, и его анализ не может служить для высокоточного скрининга [18]. Однако, отмечается, что для РЯ, связанного с метилированием гена *BRCA1*, характерны более ранняя манифестация заболевания ($p<0,05$) и более тяжелое течение ($p<0,05$). Других клинически значимых корреляций не наблюдалось [19].

Изучение паттернов метилирования *BRCA1* может иметь важное терапевтическое значение. Метилирование гена *BRCA1* ассоциировано с нарушением репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации. Поэтому для данных пациентов эффективно лечение с использованием ингибитора поли(АДФ-рибоза)-полимеразы [20]. Метилирование *BRCA1* в значительной степени связано с лекарственной устойчивостью рака яичников. В указанном случае для лечения могут быть использованы ингибиторы метилирования. Но в некоторых опухолевых тканях яичников демонстрируется гипометилирование и поэтому в терапии указанного заболевания не могут быть использованы ингибиторы метилирования. Они могут снижать эффективность к химиотерапевтическим препаратам и повышать резистентность к ним [21].

Ген *MGMT* является ключевым геном-супрессором опухоли. Его белковый продукт является важным элементом системы прямой репарации ДНК в клетке [22]. Основной механизм его инактивации связан с метилированием промоторных районов. В исследованиях демонстрируется высокая частота метилирования промоторного района гена *MGMT* при РМЖ (21%, 12/58) и РЯ (18%, 11/62). Высокая частота также коррелирует с прогрессией заболеваний. При этом было отмечено значительное повышение частоты метилирования гена *MGMT*

при тройном негативном РМЖ и несерозном РЯ [23].

Гиперметилирование *OPCML* коррелирует с более агрессивным течением РЯ и РМЖ. Продукт данного гена способствует супрессии гена *AXL*, который, в свою очередь, обладает метастатической активностью. Так, в исследовании Antony J. с соавт. была выявлена корреляция низкой общей выживаемости и повышенной экспрессии гена. При этом, указанное явление было более выражено у пациенток с низкой экспрессией гена *OPCML*, а у женщин с высоким уровнем *OPCML* не было существенной разницы между общей выживаемостью и уровнем экспрессии гена *AXL* [24].

В работе Dvorská D с соавт. было проведено изучение уровня метилирования в генах *RASSF1A*, *PAX1* и *CDH1* с помощью пиросеквенирования в здоровых, доброкачественных и злокачественных образцах тканей яичников и соответствующих образцах плазмы. Было зафиксировано статистически значимое повышение уровня метилирования ($p < 0,05$) генов *CDH1* и *PAX1* в злокачественных тканях, по сравнению с контрольными. Для гена *RASSF1* не было обнаружено статистически значимых различий в уровне метилирования между диагностическими группами ни в образцах ткани, ни в образцах плазмы [25].

Гены *HOXA10* и *HOXA11* отвечают за контроль экспрессии рецепторов прогестерона в эндометрии и обеспечение его функции. Выключение генов прогестерона, связанное с гиперметилированием регуляторной области генов, является эпигенетическим механизмом, который опосредует резистентность прогестерона. Метилирование промоторов генов *HOXA10* и *HOXA11* играет роль в ранней инициации опухолеобразования в яичниках. Паттерн метилирования указанных генов в здоровых и опухолевых тканях будет отличаться. Было проведено исследование, в ходе которого установлено, что метилирование генов *HOXA10* и *HOXA11* является лучшим дискриминатором между опухолевой и неопухолевой тканью. Дальнейший анализ неза-

висимой выборки, состоящей из 92 образцов опухолевых тканей яичников показал, что метилирование гена *HOXA11* тесно связано с остаточной опухолью после циторедуктивной хирургии и является маркером, указывающим на плохой прогноз [26].

В исследовании Alka Singh с соавт. было показано, что в промоторной области генов *HOXA9* и *HIC1* более высокая плотность метилирования CpG-пар наблюдалась в опухолевой ткани по сравнению с нормальными образцами, что позволяет использовать данные гены в качестве биомаркеров [27].

Гены *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *PMS2* относятся к группе генов системы восстановления несоответствия (мисс-матч репарация, mismatch repair или MMR). Гены MMR отвечают за устранение ошибок репликации ДНК, которые могут возникать при делении клетки. Во время построения новой нити возможна вставка некомплементарного нуклеотида. Система MMR включает в себя белки *MSH2* и *MSH6*, которые формируют первый гетеродимер, отвечающий за поиск ошибок в нити ДНК. Белки *MLH1* и *PMS2* образуют второй гетеродимер, который в месте обнаруженной ошибки комплексу *MSH2/MSH6* присоединяется к нему. В результате указанных событий происходит активация экзонуклеазы, которая вырезает ошибочно построенный участок. Далее ДНК-полимераза правильно достраивает эту нить ДНК. Потеря функции хотя бы одного из указанных генов ассоциирована с микросателлитной нестабильностью и, как следствие, с риском возникновения злокачественных новообразований [28]. Так, в работе Shilpa V. с соавт. была обнаружена значительная взаимосвязь между гиперметилированием промотора гена *MLH1* и высокой микросателлитной нестабильностью ($p = 0,027$) [29].

Ген *LAMA3* кодирует белок, принадлежащий семейству ламининов. Ламины представляют собой гетеротримерные молекулы, состоящие из α -, β - и γ -субъединиц. Ламины необходимы для формирования и функционирования базальной мембраны и осуществляют дополнительные функции в

регулировании миграции клеток и механической трансдукции сигналов. Ген *LAMA3* кодирует альфа-субъединицу и влияет на несколько эпителиально-мезенхимальных регуляторов, включая фактор роста кератиноцитов, эпидермальный фактор роста и инсулиноподобный фактор роста [30]. Гиперметилирование гена *LAMA3* ассоциировано с резистентностью к химиотерапии и плохим прогнозом при раке яичников. Результаты исследования Li-yuan Feng et. al. показали, что уровень метилирования сайтов cg20937934 и cg13270625 гена *LAMA3* у пациенток с хеморезистентным раком яичников был значительно выше, чем у больных с хемочувствительным раком яичников [31].

Ген *ESR1* кодирует рецептор эстрогена. Исследование L. Giannopoulou с соавторами демонстрирует статистически достоверную положительную корреляцию метилирования гена *ESR1* в образцах первичной опухоли с лучшей общей ($P=0,027$) и безрецидивной выживаемостью, ($P=0,041$) [32]. В работе Guanghui Gong с соавт. была обнаружена отрицательная корреляция между уровнем метилирования и экспрессией мРНК для генов *TNF*, *ESR1*, *MUC1* и *FOXO1*. Результаты анализа показали, что более высокий уровень экспрессии гена *TNF* связан с более длительным течением РЯ. Более высокий уровень экспрессии *ESR1* и более низкий уровень

FOXO1 являются потенциальными защитными факторами, которые ассоциированы с лучшими показателями выживаемости больных РЯ. Согласно литературным данным, ген *TNF* является медиатором воспаления и широко изучается при различных видах рака, но данных о роли его метилирования в канцерогенезе обнаружено не было. Метилирование гена *ESR1* обнаруживается как в клеточных линиях РЯ, так и в свободно-циркулирующей ДНК пациенток с серозным РЯ высокой степени злокачественности. При раке яичников с высокой степенью злокачественности отмечается гипометилирование гена *MUC1*, сопровождающееся метастазированием, инвазивным ростом и миграцией клеток. Ген *FOXO1* ассоциирован со многими карциномами, включая РЯ. Также указанный ген связан с лекарственной устойчивостью при РЯ. При этом данные относительно метилирования гена *FOXO1* при раке яичников отсутствуют [33].

Метилирование генов микроРНК при раке яичников. МикроРНК представляют собой небольшие некодирующие РНК длиной 15-25 нуклеотидов [34]. Данные молекулы осуществляют процесс регуляции экспрессии генов путем ингибирования трансляции матричной РНК (мРНК) или за счет стимулирования деградации мРНК [35]. Регуляция экспрессии генов микроРНК показана на рисунке 3.

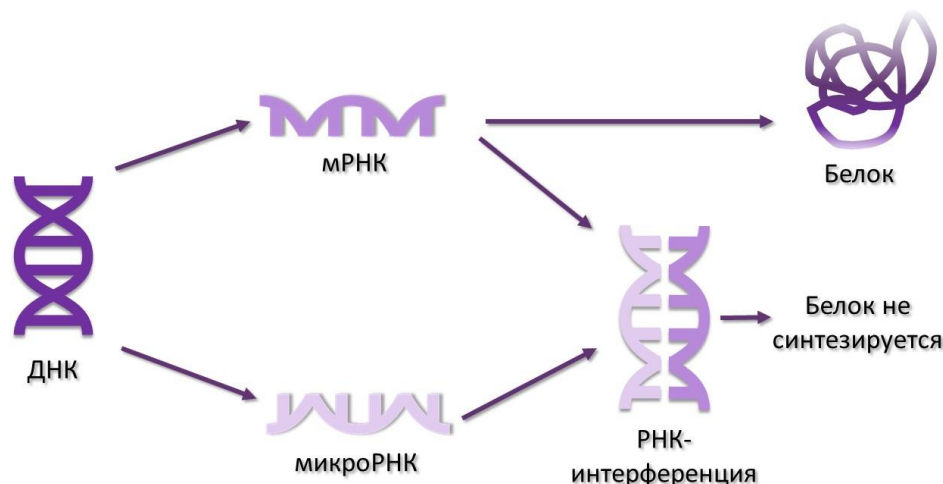


Рис. 3. Регуляция экспрессии микроРНК
Fig. 3. Regulation of miRNA expression

Аберрантная экспрессия микроРНК задействована в патогенезе различных заболеваний, в том числе и онкологических [36]. Указанный механизм играет особую роль в прогрессии рака яичников. Предполагается, что доля генов микроРНК, регулируемых посредством метилирования CpG-островков, в 5-10 раз выше, чем структурных генов. Эта особенность генов микроРНК повышает их привлекательность в качестве диагностических маркеров злокачественных новообразований [37]. Обнаружить аберрантно метилированные гены микроРНК можно не только в патологически измененных опухолевых тканях яичников, но и в жидкостях организма, таких как кровь, моча, асцит [38].

Так, в исследовании Брага с соавт. была определена группа микро-РНК (*MIR-124-1*, *MIR-124-2*, *MIR-124-3*, *MIR-125B-1*, *MIR-127*, *MIR-129-2*) метилирование генов которых вовлечено в развитие и прогрессию рака яичников. Результаты исследований показали статистически значимое повышение частоты метилирования всех шести исследованных генов в образцах опухолей по сравнению с парными образцами гистологически неизменных тканей яичников ($p \leq 10^{-3}$). Кроме того, была показана связь гиперметилирования 5 генов микроРНК (*MIR-124-2*, *MIR-124-3*, *MIR-125B-1*, *MIR-127*, *MIR-129-2*) с прогрессией рака яичников: с более поздней стадией, с увеличением размера опухоли и инвазии, а также с метастазированием в брюшину, региональные лимфоузлы и отдаленные ткани [39].

Кроме того, установлена связь между метилированием различных генов микроРНК и гистологическим типом опухоли яичников. В литературе описывалось исследование с использованием выборки из 99 парных (опухоль/норма) образцов тканей яичников. Анализ метилирования проводился с применением метода количественной метилспецифичной полимеразной цепной реакции. Скрининг биомаркеров пограничной опухоли (ПОЯ) яичников выполнен среди 21 гена микроРНК. В результате было обнаружено, что некоторые гены

микроРНК (*MIR124-1*, *MIR125B-1*, *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR193A*, *MIR203A*, *MIR107*, *MIR1258*, *MIR339*) характеризовались высоким уровнем метилирования в группе больных ПОЯ по сравнению с тканями здоровых женщин. При этом в группе больных злокачественными опухолями яичников (ЗОЯ) уровень их метилирования либо отличался незначительно, либо даже снижался. Для генов *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR203*, *MIR107* и *MIR1258* выявлен более высокий уровень метилирования в образцах больных ПОЯ по сравнению с образцами больных ЗОЯ. Уровень метилирования гена *MIR148A* в ПОЯ был в 4 раза выше, чем в ЗОЯ (31,3% против 7,9%). Уровни метилирования генов микроРНК *MIR148A* и *MIR191* статистически значимо снижены в серозной цистаденокарциноме и повышены в серозной и эндометриоидной аденокарциномах [40].

Микро-РНК *MIR-193a-3p* непосредственно регулирует экспрессию белка GRB7. Клинико-патологический анализ показал, что сверхэкспрессия белка GRB7 коррелирует с метастатическим фенотипом за счёт усиления миграционной способности раковых клеток. Kangmei Chen с соавт. была проведена оценка уровней экспрессии *MIR-193a-3p* в клинических образцах рака яичников (N=27). Было обнаружено ступенчатое снижение паттерна экспрессии *miR-193a-3p* от ранней до поздней стадии опухоли (от 1 до 4) и от низкой до высокой степени злокачественности (от 1 до 3). Далее было проведено сравнение уровней экспрессии белка GRB7 и *miR-193a-3p*. Результаты показали, что низкая экспрессия *miR-193a-3p* достоверно коррелировала с высокой экспрессией белка GRB7 [41].

При раке яичников может происходить подавление кластера *miR-424/503*. Исследования Tong Li с соавт. показали, что гиперметилирование соответствующих генов подавляло экспрессию кластера *miR-424/503* и приводило к высокой экспрессии гена *KIF23*. *KIF23* – ген-концентратор, его экспрессия имеет взаимосвязь с неблагоприятным прогнозом при РЯ [42].

Для некоторых микроРНК отмечается неоднозначный характер экспрессии при раке яичников. Данные по влиянию *MIR-25* (кластер *MIR-106b-25*, семейство *MIR-92a*) на разные виды рака и конкретно на рак яичников являются противоречивыми. В исследованиях представлены результаты о повышении и снижении ее синтеза при раке яичников, о про- и антионкогенном, про- и антиметастатическом воздействии. Если на ранних стадиях канцерогенеза влияние этой микроРНК является скорее проонкогенным, то на поздних она может оказывать антиметастатическое воздействие. Функция *MIR-203* двойственна в различных видах рака, в том числе и в опухолях яичников. По данным одних авторов, указанная микроРНК проявляет свойство супрессора и подавляет эпителиально-мезенхимальный переход, который в свою очередь играет центральную роль в метастазировании [37]. По данным других авторов – *MIR-203* проявляет свойства онкогена, и напротив стимулирует рост и миграцию клеток [4].

Заключение. Злокачественные новообразования яичников являются одними из наиболее распространенных среди всех онкогинекологических патологий (уступают по распространённости лишь раку тела и шейки матки). Большая роль в формировании данной патологии принадлежит эпигенетическим механизмам (в частности, метилированию ДНК структурных генов и генов микро-РНК). Структурные гены, паттерн метилирования которых оказывает влияние на патогенез рака яичников: *OPCML*, *PAX1*, *CDH1*, *HOXA9*, *HIC1*, *MLH1*, *HIST1H2BB*, *MAGI2*, *HOXA10*, *HOXA11*, *LAMA3*, *ESR1*, *MUC1* и *FOXO1*. Также к настоящему времени получена обширная информация о влиянии микроРНК на канцерогенез в целом и прогрессию рака яичников. Отмечается влияние эпигенетической регуляции микроРНК на клинические различия гистологических форм опухолей яичников. Определена группа генов микро-РНК, исследование которой показало статистически значимую зависимость метилирования и прогрессии опухоли яичников. Однако существуют и противоречия, связанные с молекулами

микроРНК, роль которых в онкогенезе неоднозначна. Пока не выяснено, за счёт каких механизмов и на какой стадии прогрессирования заболевания происходит изменение экспрессии и функциональной роли указанных микроРНК.

Таким образом, результаты многочисленных исследований подтверждают важную роль метилирования генов супрессоров опухолевого роста и различных микроРНК в онкогенезе и свидетельствуют о необходимости дальнейшего анализа, направленного на расшифровку эпигенома человека. Понимание механизмов эпигенетической регуляции развития и течения рака будут способствовать разработке новых диагностических и прогностических методик и подходов для лечения злокачественных новообразований.

Информация о финансировании

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РБ (соглашение №1 от 28.12.21 г.), гранта РФФИ №20-34-90003, гранта Президента РФ (соглашение № 75-15-2023-329 от 22.02.23 г.), Министерства науки и высшего образования РФ (№075-03-2021-193/5).

Financial support

The work was supported financially by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Bashkortostan (Agreement No. 1 dated December 28, 21), Russian Foundation for Basic Research grant No. 20-34-90003, grant of the President of the Russian Federation (agreement No. 75-15-2023-329, dated February 22, 23), the Ministry of Science higher education of the Russian Federation (No. 075-03-2021-193/5).

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Global cancer observatory [Электронный ресурс] [дата обращения 30.04.2023]. URL: <https://gco.iarc.fr/>

2. Croft PK, Sharma S, Godbole N, et al. Ovarian-cancer-associated extracellular vesicles: Microenvironmental regulation and potential clinical applications. *Cells*. 2021;10(9):2272. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10092272>
3. Виллерт АБ, Коломиец ЛА, Юнусова НВ, и др. Асцит как предмет исследований при раке яичников. *Сибирский онкологический журнал*. 2019;18(1):116-123. DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2019-18-1-116-123>
4. Кушлинский НЕ, Стилиди ИС, Огнуров НА, и др. Рак яичников: фундаментальные и клинические исследования. М.: Проспект; 2021.
5. Муллаянова ЛШ, Муллагалеева ЭФ, Владимирова ЕИ, и др. Оценка роли нового гена-кандидата KIR3DL1 в патогенезе рака яичников по результатам полного экзомного секвенирования. *Исследования и практика в медицине*. 2019;6(S):199-200.
6. Валова ЯВ, Мингажева ЭТ, Прокофьева ДС, и др. Рак яичников в составе наследственных онкологических синдромов (обзор). *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2021;7(4): 330-362. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2021-7-4-0-2>
7. Тихомирова ТЕ, Тюляндина АС, Румянцев АА, и др. BRCA-ассоциированный рак яичников: обзор современной литературы. *Тазовая хирургия и онкология*. 2022;12(3):56-62. DOI: <https://doi.org/10.17650/2686-9594-2022-12-3-56-62>
8. Фаисханова РР, Сакаева ДД. Синдром Линча как проявление наследственного рака яичников: клинический случай лечения пациентки с платиночувствительным рецидивом рака яичников. *Медицинский Совет*. 2021;(4S):114-119. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-4S-114-119>
9. Липатов ОН, Ахметгареева КТ. Роль генетических мутаций в профилактике злокачественных новообразований у здорового населения (обзор литературы). *Креативная хирургия и онкология*. 2020;10(4):330-338. DOI: <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2020-10-4-330-338>
10. Cancer research UK [Электронный ресурс] [дата обращения 14.07.2022]. URL: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/ovarian-cancer/risk-factors#heading-Four>
11. Урманчеева АФ, Кутушева ГФ, Ульрих ЕА. Опухоли яичника: клиника, диагностика и лечение. Санкт-Петербург: Н-Л; 2012.
12. Ohnishi K, Nakayama K, Ishikawa M, et al. Mucinous borderline ovarian tumors with BRAFV600E mutation may have low risk for progression to invasive carcinomas. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2020;302(2):487-495. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-020-05638-8>
13. Lin DI, Killian JK, Venstrom JM, et al. Recurrent urothelial carcinoma-like FGFR3 genomic alterations in malignant Brenner tumors of the ovary. *Modern Pathology*. 2021;34(5):983-993. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41379-020-00699-1>
14. Klymenko Y, Nephew KP. Epigenetic crosstalk between the tumor microenvironment and ovarian cancer cells: a therapeutic road less traveled. *Cancers*. 2018;10(9):295. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers10090295>
15. Singh A, Gupta S, Sachan M. Epigenetic biomarkers in the management of ovarian cancer: current perspectives. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2019;7:182. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00182>
16. Кребс Дж, Голдштейн Э, Килпатрик С. Гены по Льюину. М.: Лаборатория знаний; 2022.
17. Valle BL, Rodriguez-Torres S, Kuhn E, et al. HIST1H2BB and MAGI2 Methylation and Somatic Mutations as Precision Medicine Biomarkers for Diagnosis and Prognosis of High-grade Serous Ovarian Cancer. *Cancer Prevention Research*. 2020;13(9):783-794. DOI: <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-19-0412>
18. Эсенова МЭ, Паяниди ЮГ, Винокурова СВ, и др. Эпигенетические и генетические нарушения функций генов BRCA1/2 у больных солитарным раком яичников и раком яичников при полинеоплазии. *Тазовая хирургия и онкология*. 2021;11(2):11-18. DOI: <https://doi.org/10.17650/2686-9594-2021-11-2-11-18>
19. Kalachand RD, Stordal B, Madden S, et al. BRCA1 promoter methylation and clinical outcomes in ovarian cancer: an individual patient data meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*. 2020;112(12):1190-1203. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djaa070>
20. Kwon JS. Comments on: Peripheral blood BRCA1 methylation profiling to predict familial ovarian cancer. *Journal of Gynecologic Oncology*. 2021;32(2):e33. DOI: <https://doi.org/10.3802/jgo.2021.32.e33>

21. Yan B, Yin F, Wang QI, et al. Integration and bioinformatics analysis of DNA-methylated genes associated with drug resistance in ovarian cancer. *Oncology Letters*. 2016;12(1):157-166. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4608>
22. Абрамов ПМ, Винокурова СВ, Елкин ДС. Маркеры метилирования ДНК для диагностики серозного рака яичников. *Онкогинекология*. 2019;4:4-16.
23. Qiao B, Zhang Z, Li Y. Association of MGMT promoter methylation with tumorigenesis features in patients with ovarian cancer: a systematic meta-analysis. *Molecular genetics & genomic medicine*. 2018;6(1):69-76. DOI: <https://doi.org/10.1002/mgg3.349>
24. Antony J, Zanini E, Kelly Z, et al. The tumour suppressor OPCML promotes AXL inactivation by the phosphatase PTPRG in ovarian cancer. *EMBO Reports*. 2018;19(8):e45670. DOI: <https://doi.org/10.15252/embr.201745670>
25. Dvorská D, Braný D, Nagy B, et al. Aberrant methylation status of tumour suppressor genes in ovarian cancer tissue and paired plasma samples. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(17):4119. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20174119>
26. Мальцева ЛИ, Киселев ВИ, Полозников АА, и др. Эффективность терапии хронического эндометрита эпигаллокатехин-3-галлатом у женщин с нарушением репродуктивной функции. *Практическая медицина*. 2019;17(4):62-67. DOI: <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2019-4-62-67>
27. Singh A, Gupta S, Badarukhiya JA, et al. Detection of aberrant methylation of HOXA9 and HIC1 through multiplex MethyLight assay in serum DNA for the early detection of epithelial ovarian cancer. *International Journal of Cancer*. 2020;147(6):1740-1752. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.32984>
28. Трякин АА, Федянин МЮ, Цуканов АС, и др. Микросателлитная нестабильность как уникальная характеристика опухолей и предиктор эффективности иммунотерапии. Злокачественные опухоли. 2019;9(4):59-69. DOI: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2019-9-4-59-69>
29. Shilpa V, Bhagat R, Premalata CS, et al. Microsatellite instability, promoter methylation and protein expression of the DNA mismatch repair genes in epithelial ovarian cancer. *Genomics*. 2014;104(4):257-263. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2014.08.016>
30. LAMA3 laminin subunit alpha 3 [Homo sapiens (human)] [Электронный ресурс] [дата обращения 30.04.2023]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3909>
31. Feng L, Huang Y, Zhang W, et al. LAMA3 DNA methylation and transcriptome changes associated with chemotherapy resistance in ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*. 2021;14:67. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00807-y>
32. Giannopoulou L, Mastoraki S, Buderath P, et al. ESR1 methylation in primary tumors and paired circulating tumor DNA of patients with high-grade serous ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*. 2018;150(2):355-360. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2018.05.026>
33. Gong G, Lin T, Yuan Y. Integrated analysis of gene expression and DNA methylation profiles in ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*. 2020;13:30. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13048-020-00632-9>
34. Zhang R, Siu MKY, Ngan HYS, et al. Molecular Biomarkers for the Early Detection of Ovarian Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(19):12041. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms231912041>
35. Загоруйко ВА, Носов АК, Князева МС, и др. Перспективы применения микроРНК (mir-371, mir-302, mir-372, mir-367) в качестве биомаркера у больных герминогенными опухолями. *Вопросы онкологии*. 2023;69(1):24-29. DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2023-69-1-24-29>
36. Ho PTB, Clark IM, Le LTT. MicroRNA-based diagnosis and therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(13):7167. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23137167>
37. Брага ЭА, Логинов ВИ, Пронина ИВ, Бурдённый АМ, Филиппова ЕА, Лукина СС. Метилирование генов микроРНК: новые маркеры для диагностики и прогноза метастазирования рака яичников. *Онкогинекология*. 2020;1(33):4-15. DOI: [10.52313/22278710_2020_1_4](https://doi.org/10.52313/22278710_2020_1_4)
38. Weiwei Xie et. al. Ovarian cancer: epigenetics, drug resistance, and progression. *Cancer Cell International*. 2021;21 DOI: <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02136-y>
39. Брага ЭА, Пронина ИВ, Уткин ДО, и др. Гиперметилирование генов микроРНК MIR-124, MIR-125b, MIR-127 и MIR-129 в карциноме яичников вовлечено в подавление их экспрессии и ассоциировано как с развитием, так и с прогрессией рака яичников. *Альманах клинической медицины*. 2019;47(1):47-53. DOI: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2019-47-003>

40. Лукина СС, Бурденный АМ, Филиппова ЕА, и др. Клинические особенности метилирования генов микроРНК в пограничных опухолях яичников и в зависимости от гистологического строения злокачественных опухолей яичников. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):21-30. DOI: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2022-50-001>

41. Chen K, Liu MX, Mak CSL, et al. Methylation-associated silencing of miR-193a-3p promotes ovarian cancer aggressiveness by targeting GRB7 and MAPK/ERK pathways. Theranostics. 2018;8(2):423-436. DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.22377>

42. Li T, Li Y, Gan Y, et al. Methylation-mediated repression of MiR-424/503 cluster promotes proliferation and migration of ovarian cancer cells through targeting the hub gene KIF23. Cell Cycle. 2019;18(14):1601-1618. DOI: <https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1624112>

References

1. Global cancer observatory [Internet] [cited 2023 Apr 30]. Available from: <https://gco.iarc.fr/>

2. Croft PK, Sharma S, Godbole N, et al. Ovarian-cancer-associated extracellular vesicles: Microenvironmental regulation and potential clinical applications. Cells. 2021;10(9):2272. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10092272>

3. Villert AB, Kolomiets LA, Yunusova NV, et al. Ascites as a subject of studies in ovarian cancer. Siberian journal of oncology. 2019;18(1):116-123. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2019-18-1-116-123>

4. Kushlinsky NE, Stilidi IS, Ognerubov NA, et al. Ovarian cancer: basic and clinical research. M.: Prospect; 2021. Russian.

5. Mullayanova LSh, Mullagaleeva EF, Vladimirova EI, et al. Assessment of the role of the new candidate gene KIR3DL1 in the pathogenesis of ovarian cancer based on the results of complete exom sequencing. Research'n Practical Medicine Journal. 2019;6(S):199-200. Russian.

6. Valova YV, Mingazheva ET, Prokofieva DS, et al. Ovarian cancer as part of hereditary cancer syndromes (review). Research Results in Biomedicine. 2021;7(4):330-362. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2021-7-4-0-2>

7. Tikhomirova TE, Tyulyandina AS, Rumyantsev AA, et al. BRCA-associated ovarian cancer: a review of the current literature. Pelvic Surgery and Oncology. 2022;12(3):56-62. Russian.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2686-9594-2022-12-3-56-62>

8. Faiskhanova RR, Sakaeva DD. Lynch syndrome as a manifestation of hereditary ovarian cancer: a case report of treatment of a patient with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer. Medical Council. 2021;(4S):114-119. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-4S-114-119>

9. Lipatov ON, Akhmetgareeva KT. The Role of Genetic Mutations in the Prevention of Malignant Tumours in a Healthy Population (A Review). Creative surgery and oncology. 2020;10(4):330-338. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2020-10-4-330-338>

10. Cancer research UK [Internet] [cited 2023 Apr 30]. Available from: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/ovarian-cancer/risk-factors#heading=Four>

11. Urmancheeva AF, Kutusheva GF, Ulrikh EA. Ovarian tumors: clinic, diagnosis and treatment. St. Petersburg: N-L; 2012. Russian.

12. Ohnishi K, Nakayama K, Ishikawa M, et al. Mucinous borderline ovarian tumors with BRAFV600E mutation may have low risk for progression to invasive carcinomas. Archives of Gynecology and Obstetrics. 2020;302(2):487-495. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-020-05638>

13. Lin DI, Killian JK, Venstrom JM, et al. Recurrent urothelial carcinoma-like FGFR3 genomic alterations in malignant Brenner tumors of the ovary. Modern Pathology. 2021;34(5):983-993. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41379-020-00699-1>

14. Klymenko Y, Nephew KP. Epigenetic crosstalk between the tumor microenvironment and ovarian cancer cells: a therapeutic road less traveled. Cancers. 2018;10(9):295. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers10090295>

15. Singh A, Gupta S, Sachan M. Epigenetic biomarkers in the management of ovarian cancer: current perspectives. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2019;7:182. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00182>

16. Krebs J, Goldstein E, Kilpatrick S. Genes according to Lewin. Moscow: Laboratoriya znanij; 2022. Russian.

17. Valle BL, Rodriguez-Torres S, Kuhn E, et al. HIST1H2BB and MAGI2 Methylation and Somatic Mutations as Precision Medicine Biomarkers for Diagnosis and Prognosis of High-grade Serous Ovarian Cancer. Cancer Prevention Research. 2020;13(9):783-794. DOI:

<https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-19-0412>

18. Esenova ME, Payanidi YuG, Vinokurova SV, et al. Genetic and epigenetic profiling of the BRCA1 / 2 genes in solitary ovarian cancer and multiple primary ovarian tumors. *Pelvic Surgery and Oncology*. 2021;11(2):11-18. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17650/2686-9594-2021-11-2-11-18>

19. Kalachand RD, Stordal B, Madden S, et al. BRCA1 promoter methylation and clinical outcomes in ovarian cancer: an individual patient data meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*. 2020;112(12):1190-1203. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djaa070>

20. Kwon JS. Comments on: Peripheral blood BRCA1 methylation profiling to predict familial ovarian cancer. *Journal of Gynecologic Oncology*. 2021;32(2):e33. DOI: <https://doi.org/10.3802/jgo.2021.32.e33>

21. Yan B, Yin F, Wang QI, et al. Integration and bioinformatics analysis of DNA-methylated genes associated with drug resistance in ovarian cancer. *Oncology Letters*. 2016;12(1):157-166. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4608>

22. Abramov PM, Vinokurova SV, Elkin DS. DNA methylation markers for diagnosis of serous ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*. 2019;4:4-16. Russian.

23. Qiao B, Zhang Z, Li Y. Association of MGMT promoter methylation with tumorigenesis features in patients with ovarian cancer: a systematic meta-analysis. *Molecular genetics & genomic medicine*. 2018;6(1):69-76. DOI: <https://doi.org/10.1002/mgg3.349>

24. Antony J, Zanini E, Kelly Z, et al. The tumour suppressor OPCML promotes AXL inactivation by the phosphatase PTPRG in ovarian cancer. *EMBO Reports*. 2018;19(8):e45670. DOI: <https://doi.org/10.15252/embr.201745670>

25. Dvorská D, Braný D, Nagy B, et al. Aberrant methylation status of tumour suppressor genes in ovarian cancer tissue and paired plasma samples. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(17):4119. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20174119>

26. Maltseva LI, Kiselev VI, Poloznikov AA, et al. Effectiveness of chronic endometritis therapy with Epigallocatechin-3-gallate in women with reproductive dysfunction. *Practical medicine*. 2019;17(4):62-67. Russian. DOI: <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2019-4-62-67>

27. Singh A, Gupta S, Badarukhiya JA, et al. Detection of aberrant methylation of HOXA9 and

HIC1 through multiplex MethyLight assay in serum DNA for the early detection of epithelial ovarian cancer. *International Journal of Cancer*. 2020;147(6):1740-1752. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.32984>

28. Tryakin AA, Fedyanin MYu, Tsukanov AS, et al. Microsatellite instability as a unique characteristic of tumors and a predictor of response to immune therapy. *Malignant tumours*. 2019;9(4):59-69. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2019-9-4-59-69>

29. Shilpa V, Bhagat R, Premalata CS, et al. Microsatellite instability, promoter methylation and protein expression of the DNA mismatch repair genes in epithelial ovarian cancer. *Genomics*. 2014;104(4):257-263. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2014.08.016>

30. LAMA3 laminin subunit alpha 3 [Homo sapiens (human)] [Internet] [cited 2023 Apr 30]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3909>

31. Feng L, Huang Y, Zhang W, et al. LAMA3 DNA methylation and transcriptome changes associated with chemotherapy resistance in ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*. 2021;14:67. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00807-y>

32. Giannopoulou L, Mastoraki S, Buderath P, et al. ESR1 methylation in primary tumors and paired circulating tumor DNA of patients with high-grade serous ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*. 2018;150(2):355-360. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2018.05.026>

33. Gong G, Lin T, Yuan Y. Integrated analysis of gene expression and DNA methylation profiles in ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*. 2020;13:30. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13048-020-00632-9>

34. Zhang R, Siu MKY, Ngan HYS, et al. Molecular Biomarkers for the Early Detection of Ovarian Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(19):12041. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms231912041>

35. Zagoruiko VA, Nosov AK, Knyazeva MS, et al. Prospects for the application of microRNAs (miR-371, miR-302, miR-372, miR-367) as biomarkers in patients with germ cell tumors. *Voprosy onkologii*. 2023;69(1):24-29. Russian. DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2023-69-1-24-29>

36.38. Ho PTB, Clark IM, Le LTT. MicroRNA-based diagnosis and therapy. *International Journal of Molecular Sciences*.

2022;23(13):7167.

DOI:

<https://doi.org/10.3390/ijms23137167>

37.39. Braga EA, Pronina IV, Utkin DO, et al. Hypermethylation of the microRNA miR-124, miR-125b, miR-127, and miR-129 in ovarian carcinoma is involved in suppression of their expression and associated with both the development and progression of ovarian cancer. *Almanac of Clinical Medicine*. 2019;47(1):47-53. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2019-47-003>

38. Lukina SS, Burdenny AM, Filippova EA, et al. Clinical features of the microRNA genes methylation in borderline ovarian tumors and depending on the histological structure in ovarian malignancies. *Almanac of Clinical Medicine*. 2022;50(1):21-30. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2022-50-001>

39. Chen K, Liu MX, Mak CSL, et al. Methylation-associated silencing of miR-193a-3p promotes ovarian cancer aggressiveness by targeting GRB7 and MAPK/ERK pathways. *Theranostics*. 2018;8(2):423-436. DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.22377>

40. Li T, Li Y, Gan Y, et al. Methylation-mediated repression of MiR-424/503 cluster promotes proliferation and migration of ovarian cancer cells through targeting the hub gene KIF23. *Cell Cycle*. 2019;18(14):1601-1618. DOI: <https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1624112>

Статья поступила в редакцию 23 июня 2023 г.
Поступила после доработки 16 марта 2024 г.
Принята к печати 2 апреля 2024 г.

Received 23 June 2023

Revised 16 March 2024

Accepted 2 April 2024

Информация об авторах

Екатерина Анатольевна Андреева, аспирант по научной специальности 1.5.7 – Генетика ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа; преподаватель АНО ВО «Уральский Медицинский Институт», г. Челябинск, Российская Федерация, E-mail: ekaterinabiology@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2896-4499>.

Эльвира Тагировна Мингажева, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: elvira.f91@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6691-5543>.

Рания Разяповна Фаисханова, кандидат медицинских наук, заведующий отделением онкогинекологии ГАУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер, г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: rancho111@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6958-0977>.

Яна Валерьевна Валова, аспирант по научной специальности 03.02.07 – Генетика ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: Q.juk@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6605-9994>.

Юлия Юрьевна Федорова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории популяционной и медицинской генетики, доцент кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: fedorova-y@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9344-828X>.

Альфия Хаматьяновна Нургалиева, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории популяционной и медицинской генетики, доцент кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: alfiyakh83@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6077-9237>.

Дина Дамировна Сакаева, доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: d_sakaeva@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4341-6017>.

Эльза Камильевна Хуснутдинова, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», директор ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, заведующий кафедрой медицинской генетики и фундаментальной медицины ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: elzakh@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>.

Дарья Симоновна Прокофьева, кандидат биологических наук, доцент, заведующий лабо-

раторией популяционной и медицинской генетики, доцент кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: dager-glaid@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0229-3188>.

Information about the authors

Ekaterina A. Andreeva, Post-graduate Student in Scientific Specialty 1.5.7 – Genetics, Ufa University of Science and Technology, Ufa; Lecturer, Ural Medical Institute, Chelyabinsk, Russia, E-mail: ekaterinabiology@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2896-4499>.

Elvira T. Mingazheva, Cand. Sci. (Biology), Senior Lecturer at the Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: elvira.f91@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6691-5543>.

Rania R. Faiskhanova, Cand. Sci. (Medical), Head of the Department of Oncogynecology, Republican Clinical Oncology Dispensary, Ufa, Russia, E-mail: rancho111@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6958-0977>.

Yana V. Valova, Post-graduate Student in Scientific Specialty 03.02.07 – Genetics, Ufa University of Science and Technology, Junior Researcher at the Department of Toxicology and Genetics, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia, E-mail: Q.juk@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6605-9994>.

Yulia Yu. Fedorova, Cand. Sci (Biology), Senior Researcher at the Laboratory of Population and

Medical Genetics, Associate Professor at the Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: fedorova-y@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9344-828X>.

Alfiya Kh. Nurgalieva, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Senior Researcher at the Laboratory of Population and Medical Genetics, Associate Professor at the Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: alfiyakh83@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6077-9237>.

Dina D. Sakaeva, Doct. Sci. (Medicine), Professor at the Department of Pharmacology with a course of Clinical Pharmacology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: d_sakaeva@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4341-6017>.

Elza K. Khusnutdinova, Doct. Sci. (Biology), Professor, Head of the Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa University of Science and Technology, Director of the Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center RAS, Head of the Department of Medical Genetics and Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: elzakh@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>.

Darya S. Prokofieva, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Head of the Laboratory of Population and Medical Genetics, Associate Professor at the Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: dager-glaid@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0229-3188>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-2

УДК 575.164

Unusual chromosomal rearrangements detected by FISH in patients at high genetic risk

Anduriña Barrios-Martinez^{1,2} , Odalys Molina² , Michel Soriano-Torres^{1,2} ,
Pedro Carbonell³ , Diana Martin-Garcia³ , Luis A. Méndez-Rosado^{1,2}

¹ University of Medical Sciences of Havana,
31 Ave., Havana, 10600, Cuba

² National Center of Medical Genetics,
31 Ave., Havana, 11300, Cuba

³ Sancti Spiritus University of Medicine,
3 Reparto Olivos, Sancti Spiritus, 60100, Cuba

Corresponding author: Luis A. Méndez-Rosado (albermen@infomed.sld.cu)

Abstract

Background: Genetic and chromosomal causes in particular are responsible for a large percentage of pregnancy losses during the first trimester of pregnancy. Among chromosomal abnormalities, balanced or unbalanced, structural aberrations are the least common in reproductive disorders. **The aim of the study:** To describe several types of unusual structural chromosomal aberrations diagnosed by FISH in patients at high genetic risk. **Materials and methods:** Two patients were referred to the cytogenetics laboratory of the National Center of Medical Genetics from infertility clinic in the province of Pinar del Río. Two patients, from Sancti Spiritus and Isla de la Juventud, with high genetic risk due to repeated miscarriages and advanced maternal age were referred to the laboratory for pre-natal diagnosis. In the cytogenetic laboratory, conventional cytogenetic and FISH analyses were carried out. Conventional cytogenetic methods are used as the first tool in the diagnosis of chromosomal abnormalities. The FISH technique is used with VYSIS probes for specific labelling (LSI probes and CEP probes) of regions of chromosomes 5, 15, 13, 18, 21 and X, which completes the diagnosis. **Results:** In four women carrying structural rearrangements, the following chromosomal aberrations were detected: 47, XX,+ idic(15)(pter→q11.1::q11.1→ pter) .ish idic (15)(D15Z1++), 46,XX,t(13;21)(q22;q11.2), 46,XX,tas(18;21)(p11.3;q22.3) and 46,XY,inv(5)(p12q31.1). **Conclusion:** The present study is a demonstration of the importance of the FISH technology for the characterisation of subtle genomic aberrations causing reproductive disorders in female carriers. The effect of chromosomal aberrations, whether balanced or not, on the formation of altered germ cells that cause reproductive disorders has been discussed.

Keywords: reproductive disorders; FISH; translocations; inversions; carrier parents

Acknowledgements: to the geneticists and genetic counsellors in the provinces of Pinar del Río, Havana and the municipality of Isla de la Juventud who participated in the search for information on the patients in this study.

For citation: Barrios-Martinez A, Molina O, Soriano-Torres M, et al. Unusual chromosomal rearrangements detected by FISH in patients at high genetic risk. Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):510-519. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-2

Introduction. During gestation, several genetic factors may predispose to early pregnancy loss and 3-5% of couples are known to experience recurrent pregnancy loss (RPL). The identification of causative genetic aberrations associated with RPL is a very broad field of research within medical genetics. [1]

Foetal chromosome abnormality is a significant cause of RPL, with aneuploidy (trisomy) being the main cause (45.0%) of miscarriages and fetal deaths, followed by monosomy X (9.6%) and triploidy (8.6%) [2, 3]. Structural abnormality (3.4%) are found in lower proportion within fetal anomalies [4]. In contrast, in prenatal diagnosis by amniocentesis (16-20 weeks of gestation), Mendez et al. found that up to 22% of structural chromosomal abnormalities (balanced or unbalanced) had made it to this stage of gestation, probably because the potential genomic imbalances they caused were relatively well tolerated [5, 6].

Individuals who carry a balanced chromosomal rearrangement may be at risk of having a child with intellectual and physical abnormalities due to unfavorable chromosome segregation during gamete formation. The imbalance is typically caused by trisomies or partial monosomies of the chromosomes involved in the structural aberration [7]. Sometimes these balanced rearrangements can be easily diagnosed under routine microscopy. In some cases, molecular methods such as FISH or microarrays may be necessary to accurately determine the type of rearrangement, break-points, duplicated or deleted segments, and potentially involved chromosomes due to the size or complexity of the aberration [8, 9].

The FISH technique, or fluorescence in situ hybridization, has been utilized in the field of science since the 1980s. It has many applications in the field of genetics, allowing the diagnosis of both congenital and acquired diseases. As a result, it is considered an invaluable diagnostic tool. [10, 11]

Material and methods. The cytogenetics laboratory of the National Center of Medical Genetics in Havana is a national reference laboratory for cytogenetic studies of patients at high genetic risk. Two patients were referred to the cytogenetics laboratory from infertility

clinic in the province of Pinar del Rio. Two patients, from Sancti Spiritus and Isla de la Juventud, with high genetic risk due to repeated miscarriages and advanced maternal age were referred to the laboratory for prenatal diagnosis.

First, patients were studied by conventional cytogenetics using GTG banding. If a conclusive diagnosis could not be reached then the FISH technology was applied.

Conventional cytogenetic analysis

1. Postnatal. Routine chromosome preparations were obtained by peripheral blood culture using standard protocols described in the AGT Cytogenetics Laboratory Manual [12]. It allowed chromosomal analysis and also FISH analysis on chromosomes.

2. Prenatal. Prenatal studies were performed by amniocyte culture at 16-20 weeks of gestation according to the protocols described in the TGA Cytogenetics Laboratory Manual [12] and adapted to the conditions of our laboratory.

FISH

VYSIS probes, specifically from ABBOT, were used to identify the rearrangements:

Supernumerary Marker Chromosome (SMC): LSI SRNPN spectrum green/CEP 15(D15Z1) spectrum red/ LSI PML spectrum orange probes or another variant of this probe with LSI SRNPN spectrum orange/CEP 15(D15Z1) spectrum green/ LSI PML spectrum orange for the detection of the critical region of PW/AS syndromes (Prader Willi-Angelman).

Aneuvision probe kits for α -satellite probes CEP 18 (p11.1-q11.1) labeled with SpectrumAqua fluorochrome, X (p11.1-q11.1) labeled with SpectrumGreen fluorochrome and Y (p11.1-q11.1) labeled with SpectrumOrange fluorochrome were used to identify chromosomes 18, X and Y.

Aneuvision probe kits for LSI probes 13 (13q14) labeled with SpectrumGreen fluorochrome and 21 (q22.13-q22.2) labeled with Spectrum Orange fluorochrome were used for the identification of chromosomes 13 and 21.

LSID5S23, D5S71 Spectrum Green/LSI EGR1 Spectrum Orange probes were used to

identify the regions of interest on chromosome 5.

For diagnosis, we relied on the computer program Cytovision version 3.9, Genus section (Applied Imaging, USA), which was used to capture and process images taken with Olympus microscopes (BX-51, Japan).

FISH molecular tests were performed according to the modifications applied in the laboratory based on the Aneuvision manufacturer's protocols.

Ethical aspects: In all cases, genetic counseling was provided to patients and informed consent was requested for the invasive sample collection procedure. Once the diagnosis was obtained, all unused samples were discarded. In the laboratory databases, each patient is assigned a code with which this work was performed, maintaining anonymity during

the processing of the information. The Ethical Committee for Scientific Research of the National Center of Medical Genetics approved the execution of this study.

Results

Case I

25-year-old woman, normal intellect, with fertility disorders due to multiple spontaneous abortions in the first trimester. Chromosomal study in peripheral blood detects a SMC. FISH study using the chromosome 15 probe to detect the PW/AS critical region showed that the SMC originated from chromosome 15 but did not comprise the PW/AS critical region (Fig. 1).

The FISH result was: 47, XX,+idic(15)(pter→q11.1::q11.1→pter).ish idic(15)(D15Z1++).

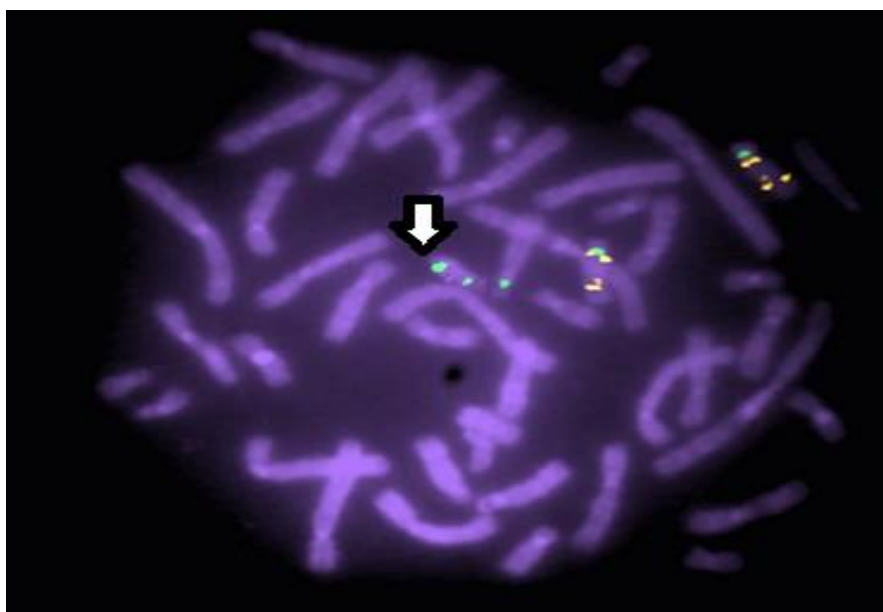


Fig.1. SMC marked with an arrow. It has two centromeres towards its ends, it is a pseudo-isodicentric 15. Five centromeres (green), two q11-q13 regions and two q25 regions (yellow) are present in metaphase.

Case II

38-year-old woman with two previous pregnancies, the first a normal girl and the second a boy with Down syndrome. In the third pregnancy, prenatal diagnosis was performed and 47 chromosomes were detected in the fetal

karyotype, the origin of one of them could not be identified by conventional methods (Fig. 2).

Chromosomal study of the mother showed an unusual, apparently balanced 13;21 translocation (Fig. 3).

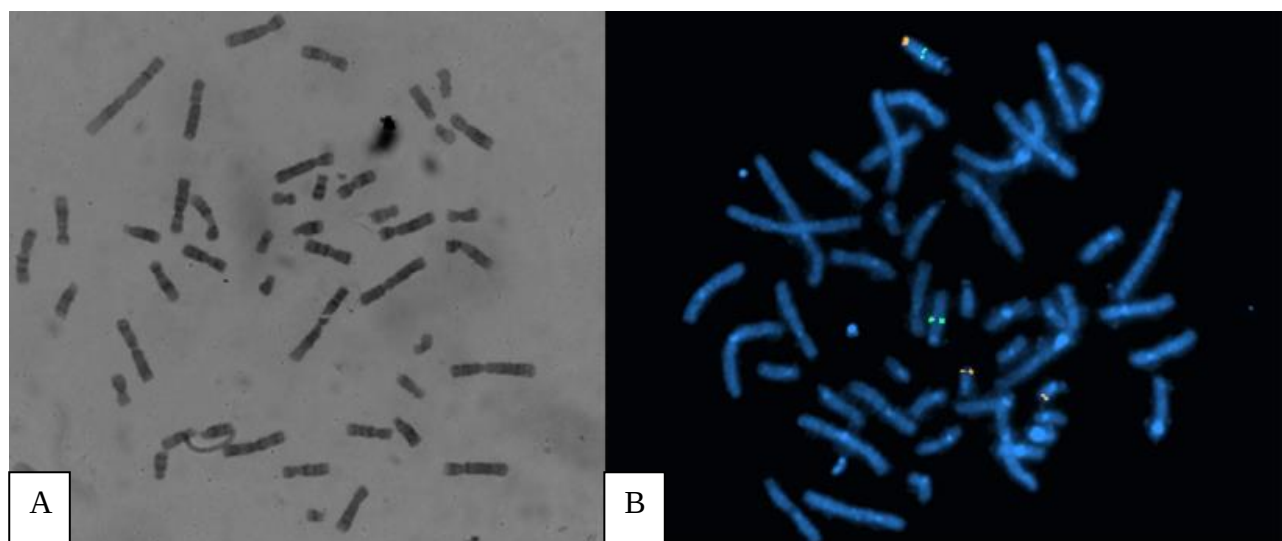


Fig. 2. A – Metaphase obtained from amniocytes during prenatal diagnosis, unidentified chromosome is indicated by the arrow. B – Fetal metaphase analyzed with FISH, using probes for the 13q14 region (green) and 21q22.13-q22.2 (yellow). Three signals were observed for the critical region of chromosome 21, one of them translocated to chromosome 13.

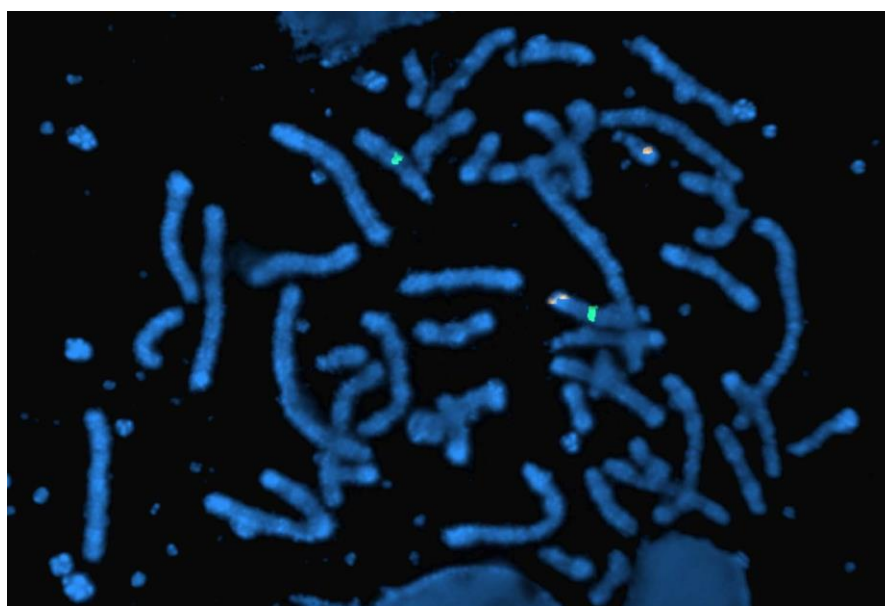
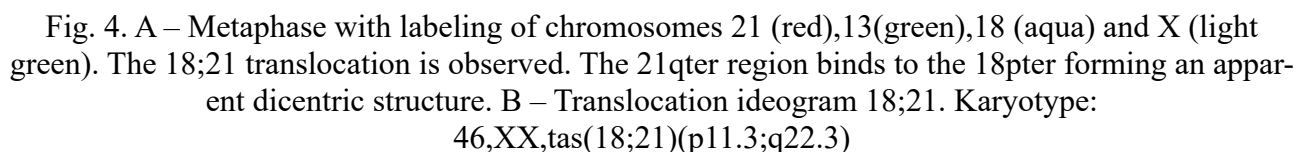


Fig. 3. The critical region of chromosome 21 (21q22.13-q22.2) is observed to be translocated to the 13q end of the maternal chromosome.

Once the FISH results (mother and fetus) were analyzed, conventional chromosome reanalysis led to the conclusion that the maternal karyotype was: 46,XX,t(13;21)(q22;q11.2). The fetal karyotype is due to a 3:1 segregation of maternal gametes: 47,XY,t(13;21)(q22;q11.2)mat+21. The couple decided to continue the pregnancy. The child was born but died at 11 months old. A subsequent study of the healthy girl showed that she carried the same rearrangement as the mother.

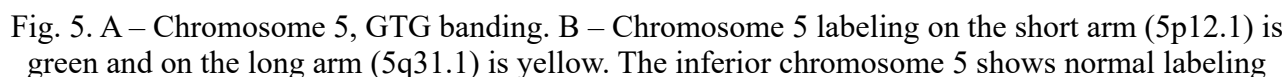
Case III

A 32-year-old woman with recurrent pregnancy losses. In conventional chromosome analysis, a rare chromosomal structure is detected, which is assumed to be a possible translocation of a chromosome 18 and a chromosome 21, since those two chromosomes are missing in the analyzed metaphases. FISH was performed with probes of chromosomes 21, 13, 18 and X to confirm this hypothesis (Fig. 4).



40-year-old woman with history of infertility. A prenatal diagnosis is carried out due to the advanced age of the mother. Prenatal ultrasound at 22 weeks' gestation revealed an increased nuchal fold (7.1 mm) and intrauterine growth retardation in the fetus, and later a heart defect (ventricular septal defect). In the fetal karyotype, a chromosome 5 with an altered GTG banding pattern was observed, though it was not possible to determine the nature of this rearrangement. The FISH test is

performed with chromosomal probe 5 used for the detection of Cri-du-Chat syndrome (Fig. 5). After analyzing the FISH results and in light of the altered GTG banding pattern observed, it was concluded that the fetal karyotype was 46,XY,inv(5)(p12q31.1). The couple decides to terminate the pregnancy. Chromosomal analysis of both parents reveals a pericentric inversion of chromosome 5 in the mother, similar to that in the fetus.



with correct centromere localization. Chromosome 5 above shows a pericentric inversion. Note the change in centromere position (arrow), now closer to 5q31.

Discussion. The FISH technology has been used internationally to discover the genetic causes of neurodevelopmental disorders [13, 14], aberrations involved in cancer development [15, 16], and many other applications. In the present study we demonstrate the application of this technique for studies of reproductive disorders.

Although structural chromosomal aberrations are among the least common, they are widely implicated in reproductive disorders and are high risk factors for recurrent miscarriage, birth of affected children with malformations and/or dysmorphic features, and intellectual disability [7]. This study describes four cases with these types of aberrations, each of which will be discussed.

SMC from chromosome 15

A study by Liehr and Weise reported 41 marker chromosomes in 30,510 infertility patients and detected an overall rate of 0.125% of sSMC carriers. They found 36/21,841 (0.165%) male and 2/9,165 (0.022%) woman sSMC carriers. [17]

Between 25-50% of all SMC originate from chromosome 15. Most of them result from inversion duplication of 15 (inv dup (15)) or also called pseudo isochromosome 15 (psu dic(15;15) with an incidence of 1 in 30,000 cases. [18, 19]

When SMC involves only the inversion and duplication of 15 from the centromere to the q11.1 band, neurodevelopmental disorders are generally not present, this is explained because in this region there are no genes involved, that is, it is composed of the centromeric and pericentromeric heterochromatin of chromosome 15, which is a highly repetitive DNA. [20, 21, 22]

In this case, the carrier is not intellectually disabled, but has fertility problems. According to several literature reports, the presence of inv dup (15) can interfere with the process of meiosis during gametogenesis. SMC can lead to disruption of the correct pairing of homologous chromosomes causing aneuploidy, which is known as the interchromosomal effect. [23, 24, 25]

In this case a centromeric region of a chromosome other than 15 appears marked in green, this is due to some kind of polymorphism of the repetitive DNA region of the centromere of this acrocentric chromosome that causes it to be marked with the D15Z1 probe. This event has also been reported by other authors. [26]

Reciprocal Translocations

Reciprocal chromosomal translocations (RCTs) are the most frequent structural rearrangements in humans. The incidence of these translocations is estimated at 1 in 712 live births, and the frequency at the time of prenatal diagnosis is even higher, approximately 1 in 250 pregnancies. [27]

Two unusual translocations are described, the first 46,XX,t(13;21)(q22;q11.2) in a pregnant woman who already had a normal girl and a boy with Down syndrome. The fetus had a 3:1 segregation of the exchange trisomy type, in which the two derived chromosomes, der(21) and der(13) plus the maternal chromosome 21 segregate into one of the oocytes, forming a fetus with trisomy 21 during fertilization. It is likely that in this woman there were silent recurrent miscarriages due to adjacent type 1 or 2 segregations where there will be partial monosomies of chromosomes 13 and 21 [28]. Cohen et al. in a review of 1159 families carrying translocations found that the proportion of chromosomally unbalanced offspring was 71% with adjacent segregation type 1, 4% with adjacent segregation 2, 22% with tertiary trisomy/monosomy and 2.5% with trisomy Exchange [29].

Each couple and rearrangement involved must be analyzed on a case-by-case basis. Thus, taking into account the chromosomes and chromosomal segments involved in this case, it is possible to explain the conception of the child with trisomy 21. The 3:1 segregation in any of its variants will make the birth of the baby more feasible. Partial or total trisomies, 21 or 13, that form after fertilization are compatible with subsequent life and development.

The other translocation to be analyzed 46,XX,tas(18;21)(p11.3;q22.3) is more unusual. This rare translocation, in which the two complete chromosomes and their two centromeres are involved, represents one of the exceptional events of formation of a constitutional dicentric, which does not involve acrocentric chromosomes, and which is stable in the different cell divisions. Few such cases have been reported in the literature [30, 31].

Presumably, this stability is achieved by inactivation of one of the two centromeres, but this is only a hypothesis that the authors have not been able to corroborate. In this case, both adjacent segregations will give disomic gametes that may produce trisomy 21 or 18. In 3:1 segregation, double trisomies 13 and 18 would occur. In these cases, the percentage of reproductive disorders is high (miscarriages, children with malformations, neonatal deaths, etc.).

Dicentric chromosomes are rarely reported as constitutional events and usually cause severe phenotypic disorders in carriers [30, 32]. On the other hand, in the case that we have reported, the patient only had disturbances in the reproductive sphere.

Chromosome 5 pericentric inversion

Chromosomal inversions are usually balanced events and have been shown to be inherited in 85-90% of cases [33, 34]. The study of inversions is clinically relevant in part because they can lead to recombinant chromosomes in gametes, which could cause serious problems in offspring [34].

In the present case, it appears that the fetus inherited the same translocation as the mother. In theory, he should have been phenotypically normal. At the microscopic level, it is impossible to detect subtle deletions or duplications that may occur at breakpoints when an inversion is transmitted from a parent to its offspring, and this risk increases when the inversion occurs *de novo* [35].

Webb et al. report the case of a family carrying an inv(15)(p11q13) for three generations; when the inversion was passed from mother to child, a deletion in the critical region for Angelman syndrome occurred and the child developed this condition. This small deletion

could only be diagnosed by molecular methods [36]. On the other hand, a boy with Prader-Willi syndrome, whose grandmother and father were carriers of inv(15)(p11q12), had a deletion in 15q12, as reported by Kähkönen et al. [37]

In the case reported in this paper, one of the sites involved is the 5q31 locus. Literature reports show that *de novo* deletions in this region can cause the so-called PURA-Related Developmental and Epileptic Encephalopathy syndrome [38]. Cardiac anomalies may be present in 11.2% of these patients, as was detected prenatally in our case [38].

Unfortunately, in our case, molecular methods could not be used to detect a possible deletion at the breakpoints of chromosome 5. Another possibility could be that the inversion of this family is actually balanced and that the child's phenotypic conditions are due to a mutation elsewhere in his genome or to some epigenetic phenomenon not elucidated in our study.

Limitations: The lack of diagnostic methods such as SNP microarrays has made it impossible to detect possible microdeletion-duplications which in some cases would have complemented the results obtained by the FISH method.

Conclusion. The present study is a demonstration of the importance of the FISH technology for the characterisation of subtle genomic aberrations causing reproductive disorders in female carriers. The effect of chromosomal aberrations, whether balanced or not, on the formation of altered germ cells that cause reproductive disorders has been discussed.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Tise CG, Byers HM. Genetics of recurrent pregnancy loss: a review. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2021;33(2):106-111.

DOI:

<https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000695>

2. Dimitriadis E, Menkhorst E, Saito S, et al. Recurrent pregnancy loss. *Nature Reviews Disease Primers*. 2020;6(1):98. DOI:

<https://doi.org/10.1038/s41572-020-00228-z>

3. Hardy K, Hardy PJ, Jacobs PA, et al. Temporal changes in chromosome abnormalities in human spontaneous abortions: results of 40 years of analysis. *American Journal of Medical Genetics, Part A*. 2016;170(10):2671-2680. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37795>

4. Soler A, Morales C, Mademont-Soler I, et al. Overview of chromosome abnormalities in first trimester miscarriages: a series of 1,011 consecutive chorionic villi sample karyotypes. *Cytogenetic and Genome Research*. 2017;152(2):81-89. DOI: <https://doi.org/10.1159/000477707>

5. Méndez-Rosado LA, Quiñones O, Molina O, et al. Antenatal cytogenetic testing in Havana, Cuba. *MEDICC Review*. 2014;16(3-4):27-34. DOI: <https://doi.org/10.37757/MR2014.V16.N3-4.7>

6. Méndez-Rosado LA, Hechavarría-Esteno D, de la Torre ME, et al. Current status of prenatal diagnosis in Cuba: causes of low prevalence of Down syndrome. *Prenatal Diagnosis*. 2014;34(11):1049-1054. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.4421>

7. Wilch ES, Morton CC. (Historical and Clinical Perspectives on Chromosomal Translocations. In: Zhang Y, editor. *Chromosome Translocation. Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2018;1044. Springer, Singapore. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-13-0593-1_1

8. Iourov IY, Vorsanova SG, Demidova IA, et al. 5p13.3p13.2 duplication associated with developmental delay, congenital malformations and chromosome instability manifested as low-level aneuploidy. *SpringerPlus*. 2015;4:616. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1399-3>

9. Iourov IY, Vorsanova SG, Kurinnaia OS, et al. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies. *Molecular Cytogenetics*. 2012;5(1):46. DOI: <https://doi.org/10.1186/1755-8166-5-46>

10. Liehr T, Claussen U. Current developments in human molecular cytogenetic techniques. *Current Molecular Medicine*. 2002;2(3):283-297. DOI: <https://doi.org/10.2174/1566524024605725>

11. Liehr T. Molecular Cytogenetics in the Era of Chromosomics and Cytogenomic Approaches. *Frontiers in Genetics*. 2021;12:720507. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.720507>

12. Arsham MS, Barch MJ, Lawce HJ, editors. *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New York: Raven Press; 2017.

13. Iourov IY, Vorsanova SG, Voinova VY, et al. Xq28 (MECP2) microdeletions are common in mutation negative females with Rett syndrome and cause mild subtypes of the disease. *Molecular Cytogenetics*. 2013;6:53. DOI: <https://doi.org/10.1186/1755-8166-6-53>

14. Iourov IY, Liehr T, Vorsanova SG et al. The applicability of interphase chromosome-specific multicolor banding (ICS-MCB) for studying neurodevelopmental and neurodegenerative disorders. *Research Results in Biomedicine*. 2019;5(3):4-9. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-3-0-1>

15. Quessada J, Cuccuini W, Saultier P, et al. Cytogenetics of Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Review of the Current Knowledge. *Genes*. 2021;12(6):924. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes12060924>

16. Short NJ, Zhou S, Fu C, et al. Association of Measurable Residual Disease With Survival Outcomes in Patients With Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncology*. 2020;6(12):1890-1899. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.4600>

17. Liehr T, Weise A. Frequency of small supernumerary marker chromosomes in prenatal, newborn, developmentally retarded and infertility diagnostics. *International Journal of Molecular Medicine*. 2007;19(5):719-731. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.19.5.719>

18. Blennow E, Bui TH, Kristoffersson U, et al. Swedish survey on extra structurally abnormal chromosomes in 39 105 consecutive prenatal diagnoses: prevalence and characterization by fluorescence in situ hybridization. *Prenatal Diagnosis*. 1994;14(11):1019-1028. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.1970141103>

19. Crolla JA, Youings SA, Ennis S, et al. Supernumerary marker chromosomes in man: parental origin, mosaicism and maternal age revisited. *European Journal of Human Genetics*. 2005;13(2):154-160. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201311>

20. Oracova E, Musilova P, Kopečna O, et al. Sperm and embryo analysis in a carrier of supernumerary inv dup(15) marker chromosome. *Journal of Andrology*. 2009;30(3):233-239. DOI: <https://doi.org/10.2164/jandrol.108.006783>

21. Robinson WP, Binkert F, Giné R, et al. Clinical and molecular analysis of five inv dup(15) patients. *European Journal of Human Genetics*.

- 1993;1(1):37-50. DOI: <https://doi.org/10.1159/000472386>
22. Leana-Cox J, Jenkins L, Palmer CG, et al. Molecular cytogenetic analysis of inv dup(15) chromosomes, using probes specific for the Prader-Willi/Angelman syndrome region: clinical implications. *American Journal of Human Genetics*. 1994;54(5):748-756.
23. Nonaka T, Ooki I, Enomoto T, et al. Two cases of recurrent abortion in which isodicentric chromosome 15 was observed in the husbands. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2014;40(6):1795-1798. DOI: <https://doi.org/10.1111/jog.12401>
24. Shim SH, Lee CH, Park YJ, et al. Two inv dup (15) chromosomes in a woman with repeated abortions. *American Journal of Medical Genetics*. 2001;104(4):303-306. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.10082>
25. Méndez-Rosado LA, Molina-Gamboa O, Blanco I, et al. Characterization of three patients with supernumerary chromosome marker derived from an inv dup(15) (Caracterización de tres pacientes con marcador cromosómico supernumerario derivados de una inv dup(15)). *Revista Cubana de Genética Comunitaria*. 2020;13(2):e121. Spanish.
26. Cockwell AE, Jacobs PA, Crolla JA. Distribution of the D15Z1 copy number polymorphism. *European Journal of Human Genetics*. 2007;15(4):441-445. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201780>
27. Amor DJ. Autosomal structural rearrangement. In: McKinlay Gardner RJ, Amor DJ. *Gardner and Sutherland's Chromosome abnormalities and genetic counseling*. Oxford University Press. New York; 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00439-018-1946-4>
28. Kaiser-Rogers K, Rao KW. Structural Chromosome Rearrangements. In: Gersen S, Keagle M, editors. *The Principles of Clinical Cytogenetics*. New York: Springer; 2013. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1688-4_9
29. Cohen O, Cans C, Mermet MA, et al. Viability thresholds for partial trisomies and monosomies. A study of 1,159 viable unbalanced reciprocal translocations. *Human Genetics*. 1994;93(2):188-194. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00210608>
30. Waldenmaier C, Shibata K, Hirsch W. Asymmetrical, reciprocal translocation (45,XX,t(9;17) (p21;p12). *Journal of Mental Deficiency Research*. 1975;19(3-4):259-266. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2788.1975.tb01277.x>
31. Wiland E, Olszewska M, Georgiadis A, et al. Cytogenetic and molecular analyses of de novo translocation dic(9;13)(p11.2;p12) in an infertile male. *Molecular Cytogenetics*. 2014;7(1):14. DOI: <https://doi.org/10.1186/1755-8166-7-14>
32. Pavlistova L, Izakova S, Zemanova Z, et al. Rare congenital chromosomal aberration dic(X;Y)(p22.33;p11.32) in a patient with primary myelofibrosis. *Molecular Cytogenetics*. 2016;9(1):67. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-016-0276-2>
33. Pettenati MJ, Rao PN, Phelan MC, et al. Paracentric inversions in humans: a review of 446 paracentric inversions with presentation of 120 new cases. *American Journal of Medical Genetics*. 1995;55(2):171-187. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320550207>
34. Chien CW, Chao AS, Chang YL, et al. Frequency and clinical significance of chromosomal inversions prenatally diagnosed by second trimester amniocentesis. *Scientific Reports*. 2022;12(1):2215. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06024-x>
35. Méndez-Rosado LA, Lardoezt-Ferrer R. High risk for carriers of de novo balanced structural chromosomal aberrations in prenatal diagnosis: Latin America data. *Prenatal Diagnosis*. 2020;40(2):274-275. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.5600>
36. Webb T, Clayton-Smith J, Cheng XJ, et al. Angelman syndrome with a chromosomal inversion 15 inv(p11q13) accompanied by a deletion in 15q11q13. *Journal of Medical Genetics*. 1992;29(12):921-924. DOI: <https://doi.org/10.1136/jmg.29.12.921>
37. Kähkönen M, Kokkonen H-L, Haapala K, et al. Discrepancy in cytogenetic and DNA analyses of a patient with a deletion of proximal 15q due to familial pericentric inversion and analysis of eight other patients diagnosed to have Prader-Willi syndrome. *American Journal of Human Genetics*. 1990;47:A31.
38. Johannesen KM, Gardella E, Gjerulfsen CE, et al. PURA-Related Developmental and Epileptic Encephalopathy: Phenotypic and Genotypic Spectrum. *Neurology: Genetics*. 2021;7(6):e613. DOI: <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000613>

Received 15 February 2024

Revised 2 June 2024

Accepted 28 June 2024

Information about the authors

Anduriña Barrios-Martinez, MSc, Professor, University of Medical Sciences of Havana; Researcher, National Center of Medical Genetics, Havana, Cuba, E-mail: abarrios@infomed.sld.cu, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5957-3538>.

Odalys Molina, Biologist, Researcher, National Center of Medical Genetics, Havana, Cuba, E-mail: molinagamboa63@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1151-3509>.

Michel Soriano-Torres, MSc, Professor, University of Medical Sciences of Havana; Researcher, National Center of Medical Genetics, Havana, Cuba, E-mail: michel.soriano@cngen.sld.cu, OR

CID: <https://orcid.org/0000-0003-3335-8669>.

Pedro Carbonell, MSc, Professor, Sancti Spiritus University of Medicine, Sancti Spiritus, Cuba, E-mail: pcarbonell.ssp@infomed.sld.cu, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8551-2694>.

Diana Martin-Garcia, MD, PhD, Professor, Sancti Spiritus University of Medicine, Sancti Spiritus, Cuba, E-mail: dianamartin.ssp@infomed.sld.cu, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5848-9051>.

Luis A. Méndez-Rosado, PhD, Professor, University of Medical Sciences of Havana; Researcher, National Center of Medical Genetics, Havana, Cuba, E-mail: albermen@infomed.sld.cu, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4401-0054>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-3

УДК 575.164

Impact of Aerobic Exercise on Expression of *OPN* and *OPG* Genes and Bmal1 Protein in the Bone Tissue of Diabetic Rats During Two Phases of Light and Dark Circadian Rhythm

Maryam Janbozorgi , Masoumeh Hosseinzadeh , Asma Taheri ,
Sahar Ghafaripur

Shahid Chamran University of Ahvaz,
Golestan Blvd., Ahvaz, 61357, Iran

Corresponding author: Asma Taheri (asma3521@gmail.com)

Abstract

Background: Diabetes is a major global disease with a high mortality rate. The impact of exercise on bone tissue protection in diabetic rats during circadian cycle phases is unknown. This study examined the effects of endurance training on genes in diabetic rats during light and dark circadian rhythm phases. **The aim of the study:** The present study investigated the impact of endurance training on insulin resistance and gene expression in diabetic rats during circadian rhythm phases. **Materials and methods:** In this study, 18 NMRI mice were randomly assigned to 6 groups: healthy control in the dark, healthy control in the light, diabetic control in the dark, diabetic control in the light, and diabetic exercise in the dark. Then, they developed diabetes after being fed a high-fat diet and receiving a single injection of streptozotocin. The 8-week endurance training program consisted of 5 days per week of Vmax 50–60%. Blood and bone tissue were removed following anesthesia. Bone tissue was examined for the expression of *OPN* and *OPG* genes, Bmal1 protein expression, and insulin resistance index. **Results:** In diabetic rats, eight weeks of endurance training significantly reduced insulin resistance ($P=0.005$) and significantly increased the expression of the Bmal1 protein ($P=0.009$). *OPG* and *OPN* variables did not significantly differ between the diabetic and control exercise groups during the changes in the two phases of darkness and light ($P>0.05$). **Conclusion:** Endurance training may improve insulin sensitivity in diabetics by enhancing antioxidant system performance and controlling circadian activity. Further research is needed to determine the effects on genes in bone.

Keywords: diabetes; bone tissue; endurance exercise; Bmal1; *OPN*; *OPG*

For citation: Janbozorgi M, Hosseinzadeh M, Taheri A, et al. Impact of Aerobic Exercise on Expression of *OPN* and *OPG* Genes and Bmal1 Protein in the Bone Tissue of Diabetic Rats During Two Phases of Light and Dark Circadian Rhythm. Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):520-531. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-3

Abbreviations List

NMRI Mice	Naval Medical Research Institute Mice
ANOVA	Analysis Of Variance
<i>OPN</i>	Osteopontin
<i>OPG</i>	Osteoprotegerin
Bmal1 Protein	Brain And Muscle Arnt-Like Protein-1
T2DM	Type 2 Diabetes Mellitus
STZ	Streptozotocin
HFD	High-Fat Diet
QPCR	<i>Real-Time PCR and Quantitative PCR</i>
CD-ZT3	Light Phase Diabetic Control Group
CD-ZT15	Dark Phase Diabetic Control Group
TD-ZT3	Light Phase Diabetic Exercise Group
CH-ZT3	Light Phase Healthy Control Group
CH-ZT15	Dark Phase Healthy Control Group
CD-ZT3	Light Phase Diabetic Control Group
PKB	Protein Kinase B
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
ERK	Kinases Regulated by Extracellular Messages
T2D	Type 2 Diabetes
ROS	Reactive Oxygen Species
RNS	Reactive Nitrogen Species
NADPH	Nicotinamide-Adenine Dinucleotide Phosphate
PI3KAKT	Phosphatidylinositol 3-Kinase/Protein Kinase B
HIIT	High-Intensity Interval Training

Introduction. Diabetes is a global chronic disease causing significant negative impacts on lives, families, and communities. It is one of the top ten causes of death for adults and is expected to affect 700 million people globally by 2045 [1-5]. Diabetes can develop a number of complex systemic complications due to improper management and care, including diabetic retinopathy, diabetic nephropathy, and diabetic neuropathy [6, 7, 8]. Osteoporosis is also brought on by diabetes [9], which is a condition that results in a decline in bone density and the breakdown of the structure of skeletal tissue, both of which increase the risk of fracture [10]. Bone formation and resorption are essential for maintaining active metabolic tissue. When imbalanced, bone density decreases, leading to more bone loss through reabsorption than creation. Type 2 diabetes affects skeletal tissue and bone metabolism, with poor blood sugar control impacting both formation and resorption. Important bone formation indicators include osteopontin (*OPN*)

and osteoprotegerin (*OPG*) [11]. *OPN* is a protein that is expressed in a variety of cells, including lymphocytes, smooth muscle cells, endothelial cells, macrophages, and osteoblasts. As a result, it contributes to the pathology of several inflammatory diseases, including cardiovascular condition and allergic disease [12]. Additionally, obese individuals have higher plasma levels of *OPN* or fat tissue *OPN* gene expression [13]. The main risk factors for the emergence of insulin resistance, type 2 diabetes, and diabetes-related complications like small vessels and liver diseases are the same elevated *OPN* levels in obesity [14]. *OPG*, a secreted glycoprotein from osteoblast generation cells, binds to the nuclear factor kappa-B receptor activator, neutralizing its effect and preventing bone resorption. It inhibits osteoclast precursor differentiation into mature osteoclasts [15].

the circadian clock system in mammals is crucial for maintaining homeostasis [16]. In-

vestigations have shown that circadian disruption is associated with metabolic disorders and type 2 diabetes [17]. Exercise can help with metabolic issues linked to circadian rhythm [17]. The body's physiological and biochemical processes must be regulated by circadian rhythm. Animals' circadian rhythms are tightly regulated by the suprachiasmatic nucleus of the brain's hypothalamus [18]. The optical signals that pass through the optic nerves set the clock and different behaviors. Alternately, the circadian oscillator transcription factors Bmal1 (brain-muscle Arnt-like 1) and CLOCK (circadian locomotor output control kaput), which control cellular functions, are expressed by the central nervous system as well as nearly all peripheral tissues and cells. They modify [18]. Cell-autonomous circadian rhythms are controlled at the molecular level by coupled transcriptional and translational feedback loops. Bmal1 and CLOCK proteins make up this feedback's favorable arm. The processes required to preserve glucose homeostasis are regulated by this internal clock system [17]. Bmal1, one of the key clock genes, is expressed under the control of messenger, metabolic, and epigenetic regulators [19]. There is evidence that T2DM can be improved by changing eating or exercise schedules [20]. Tahara et al. reported that the right time is effective in preventing obesity, diabetes, and cardiovascular diseases and that the physiological reactions to stress and sports activity are dependent on the time of physical exercise [21]. Dalbram et al. have demonstrated that physical activity increases the amount of Bmal1 protein in muscle tissue and that activity during the dark phase reduces obesity without altering insulin sensitivity or glucose homeostasis [17].

The expression of OPN and OPG genes increases in obesity [13]. These elevated levels in obesity are risk factors for the development of insulin resistance and type 2 diabetes [14], so we will be looking at them in this study.

Due to the lack of research on the effect of endurance exercise on bone indices as a mediator of the effect of diabetes on osteoporosis and also the highest level of expression of the *OPN* and *OPG* genes in bone tissue compared

to other tissues [12, 22], the bone tissue of diabetic rats was selected as the target tissue in this research.

The aim of the study. To compare the effects of an endurance training program during light and dark phases on bone indices in diabetic rats, considering the significant impact of mechanical pressures on bone regeneration and the influence of circadian rhythm on bone health.

Materials and Methods. This experimental study utilized simple random sampling and laboratory procedures. Eighteen adult male NMRI rats were induced with diabetes using a high-fat diet and low-dose Streptozotocin (STZ) injection [23]. The study aimed to investigate the effects of diabetes on bone indices. STZ was made in a citrate buffer with a pH of 5 every day, then injected within 30 minutes. Rats were randomly divided into four diabetic groups based on weight homogenization [24] and healthy control groups at the same time five days after STZ injection if their fasting glucose level was greater than 126 mg/dl. They received a regular diet and STZ solution and were purchased along with the diabetic group. The Razi Rad Company produced transparent polycarbonate cages that were 30 cm long, 30 cm wide, and 30 cm high and were used to house mice in three sets. The environment had a temperature of $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, a humidity level between 45% and 55%, and a light-to-dark cycle of 12:12 hours. Standard pellet food and water were freely available to the samples throughout the research.

At the end of the adaptation week, the fourth and eighth weeks of the main training, the maximum speed test was taken from all groups. Using Vmax measurements taken at the start and fourth weeks of training, training intensity in the groups was adjusted by training within the desired range. Rats from various groups were positioned on a treadmill and trained for 5 minutes at a speed of 6 m/min. The speed increased to 2 meters per minute every two minutes when the mice were unable or unwilling to work any longer. The rats' maximum speed was recorded as their final running speed, and to avoid any disruptions and their

impact on the rats' performance and the research's findings, the maximum speed was measured for each group once every hour that corresponded to that group [25, 26].

The training times were three hours after the onset of light at 9 am (ZT3) and three hours after the onset of darkness at 6 pm (ZT12) to determine the training time of the day. The exercise groups worked out at two different times during the day one week after ensuring the induction of diabetes [11]. The rats were gradually introduced to the treadmill for a week before the primary training program to help them get used to it after the onset of darkness or at 9 PM (ZT15) [11]. The development and implementation of the training program took place in training groups, with each session lasting 80 minutes and being conducted at a moderate intensity (V_{max} 50-60%). Weekly assessments of weight and blood sugar levels were made throughout the 8-week exercise program, which included five sessions per week [25].

The rats were moved to the sampling room 48 hours after the eight-week training period ended, and ketamine (75 mg/kg of body weight) and xylazine (10 mg/kg of body weight) were intraperitoneally administered. Their serum samples were separated after blood samples were drawn directly from the heart and centrifuged for five minutes at a speed of 5000 rpm. At the same time, pancreatic tissue was taken and stored in a -70 freezer for further analysis. Each group was examined during its specific training hour because multiple time points are required to detect changes in the phase or amplitude of the molecular clock [16].

In order to determine the insulin resistance index (HOMA-IR) of blood glucose using the glucose oxidase and spectrophotometry method (Pars Azmoun, Iran) and insulin using the species-specific ELISA method (Bioassay Technology, China) with extra-test accuracy of 3.4% and intra-test accuracy of 4.3%, insulin resistance was calculated using Equation 1:

$$\text{Homa} - \text{IR} = \frac{\text{Fasting Insulin} \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{ml}} \right) * \text{Fasting Glucose} \left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}} \right)}{22.5} \quad \text{Equation 1}$$

When comparing diabetic subjects to healthy rats, the HOMA-IR value either increased or decreased, indicating an increase or decrease in insulin resistance, respectively.

In order to evaluate changes in the expression level of *OPG* and *OPN* genes, real-time PCR was performed using the qPCRTM Green Master Kit for SYBR Green I (Jena Bioscience, Germany) on a Lightcycler Detection System (Roche, USA). Relative expression levels of the *OPG* and *OPN* transcripts were compared to those of rat GAPDH as a housekeeping gene. Specific sets of primers (Bioneer, South Korea) designed for this study were: *OPG* (GenBank: NM_008764): 5'-CGGAAACAGAGAAGCCACGCAA -3' and 5'-CTGTCCACCAAAACACTCAGCC -3' and *OPN* (GenBank: NM_009263): 5'-GCTTGGCTTATGGACTGAGGTC -3' and 5'-CCTTAGACTCACCGCTCTTCATG -3' and GAPDH (GenBank: NM_008084): 5'-CATCACTGCCACCCAGAAGACTG -3' and 5'- Reactions were performed in a 12.5 μl mixture containing 6.25 μl qPCRTM Green

Master Kit for SYBR Green I (Jena Bioscience, Germany), 0.25 μl of each primer (200 nm.), three μl cDNA (100 ng), and 2.25 μl nuclease-free water. The PCR protocol used consisted of a 5-minute denaturation at 94 °C followed by 45 cycles of 94 °C for 15 s and 60 °C for 30 s. Reactions were performed in triplicate. Two separate reactions without cDNA or with RNA were performed in parallel as controls. Relative quantification was performed according to the comparative method and using Lightcycler 96 software. All qPCR analysis was performed according to the minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments (MIQE) guidelines [27].

Following RNA and DNA isolation from isolated tissues using the TriPure total RNA isolation kit per the manufacturer's instructions (Roche Molecular System, USA), total protein was precipitated, and its concentration was determined using the Bradford method. 25 μl of the Laemmli sample buffer supplemented with 2-mercaptoethanol at a final concentration of

7.5% (vol/vol) were combined with 25 l of each protein sample (1 lg/l). The samples were heated for 15 minutes at 65 degrees Celsius, separated using 10% SDS-PAGE, and then electrophoretically transferred to a nitrocellulose membrane (Schleicher & Schuell, Inc., Keene, NH). After being incubated for 1 hour in PBS containing 5% nonfat milk, the filters were blocked. Following a PBS-Tween wash, the blots were immunoblotted at a 1:500 ratio using a primary antibody against rat Bmal1 (Sanra Cruz Biotechnology Inc. sc-373955). Goat anti-rabbit HRP-conjugated antibody (Sanra Cruz Biotechnology Inc. sc-376938) and DAB reagent (Sigma Aldrich, Germany) were used to detect the primary antibody. Densitometric quantification of Bmal1 proteins in relation to GAPDH as a calibrator was performed using Image J software (National Institutes of Health). Western blot was done in three independent experiments for each sample.

Data analyses were done using the SPSS 26 software package (SPSS Inc., Chicago, IL,

USA). One-way ANOVA was used to test differences between various means (post hoc analysis LSD test). All experimental data were presented as the mean $\pm$ SEM. The level of significance for all tests was set at $P < 0.05$.

Results. The variance analysis of the study's findings is shown in Table 1. The results show that aerobic exercise affects the target parameters in diabetic mice at a 1% significance level. Following the intervention, Table 2 shows the average comparison of the assessed variables across all research groups. The differences between the columns in the LSD post hoc test are denoted by unequal Latin letters above them. The abbreviations CD-ZT3 stand for "light phase diabetic control group," CD-ZT15 for "dark phase diabetic control group," and TD-ZT3 for "light phase diabetic exercise group," respectively. CH-ZT3 stands for "light phase healthy control group," CH-ZT15 for "dark phase healthy control group," and CD-ZT3 for "light phase diabetic control group." The acronyms for HOMA-IR are insulin resistance index, oxidant to total antioxidant ratio, and Bmal1.

Table 1

Variance analysis of evaluated parameters

	Weight gr	Bmal1 ng/ μ l	Homa-IR μ U/ml*mmol/l	Insulin mU/L	Glucose Mg/dl	OPN μ m/l	OPG μ m/l	Vmax m/min
F	5.455**	129.8**	66.823**	51.422**	22.217**	39.88**	30.38**	40.946**
p-value	0.008	0.0001	0.000	0.000	0.000	0.0001	0.0001	0.000

Table 2

Mean and standard deviation of the studied variables after the intervention

	Weight gr	Homa-IR μ U/ml*mmol/l	Insulin mU/L	Glucose Mg/dl	Vmax m/min
CH-ZT3	33.00 $\pm$ 3.60 ^b	9.99 $\pm$ 0.85 ^f	40.08 $\pm$ 3.61 ^e	101.18 $\pm$ 4.10 ^e	15.16 $\pm$ 1.04 ^b
CH-ZT15	34.00 $\pm$ 2.64 ^b	11.83 $\pm$ 1.74 ^e	41.10 $\pm$ 5.25 ^e	116.40 $\pm$ 4.22 ^d	15.50 $\pm$ 1.32 ^b
CD-ZT3	41.33 $\pm$ 1.52 ^a	31.17 $\pm$ 0.79 ^b	88.04 $\pm$ 5.36 ^b	143.58 $\pm$ 5.09 ^b	14.83 $\pm$ 1.60 ^b
CD-ZT15	40.66 $\pm$ 3.05 ^a	37.80 $\pm$ 3.04 ^a	97.53 $\pm$ 6.43 ^a	157.33 $\pm$ 5.45 ^a	15.60 $\pm$ 0.91 ^b
TD-ZT3	34.33 $\pm$ 1.52 ^b	25.27 $\pm$ 3.38 ^c	71.32 $\pm$ 7.12 ^c	143.20 $\pm$ 5.63 ^b	24.66 $\pm$ 1.15 ^a
TD-ZT15	36.33 $\pm$ 1.55 ^b	20.10 $\pm$ 2.60 ^d	63.80 $\pm$ 5.87 ^d	127.40 $\pm$ 3.36 ^c	24.80 $\pm$ 1.70 ^a

The post hoc test between research groups revealed that diabetic rats had significantly higher levels of glucose, insulin, HOMA-IR, and weight variables than healthy control rats (Table 2). Aerobic exercise had a significant impact on the training groups'

changes in these variables' levels in comparison to the diabetic groups, as well as the trained rats' decreasing trend in these variables' levels. Changes in the levels of glucose, insulin, and HOMA-IR variables in all the study groups showed a significant difference in response to the two phases of darkness and light. Of

course, there was no appreciable difference in weight changes between the two phases of darkness and light ($P>0.05$).

A comparison of the *OPN* variable's mean results (Fig. 1) revealed that rats with diabetes had significantly higher levels of this variable than rats in the healthy control group ($P<0.05$). The evaluation of the impact of aer-

obic exercise in the training groups compared to the diabetic groups without exercise revealed a trend of decreasing and significant *OPN* changes in trained rats at the 5% level ($P<0.05$). The *OPN* variable did not significantly differ between the diabetic and control training groups, as it changed during the two phases of darkness and light ($P>0.05$).

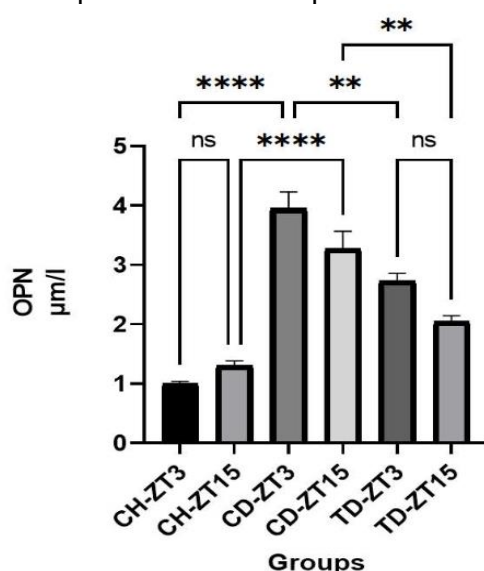


Fig. 1. *OPN* gene level expressed in different groups. Data are mean $\pm$ SD. Pairwise comparisons between bars indicate the rate of significant difference at $P<0.05$.

According to a comparison of the *OPG* variable's average results (Fig. 2), rats with diabetes had significantly higher levels of this variable in the light phase ($P<0.05$) than rats in the healthy control group, but these changes were not significant in the dark phase ($P>0.05$). The trend of *OPG* changes in the trained rats

was decreasing and significant only in the light phase ($P<0.05$) when comparing the training groups' effects on diabetes groups without training to the diabetic groups. In the diabetic and control exercise groups, there were no appreciable differences in the changes in the two phases of darkness and light ($P>0.05$).

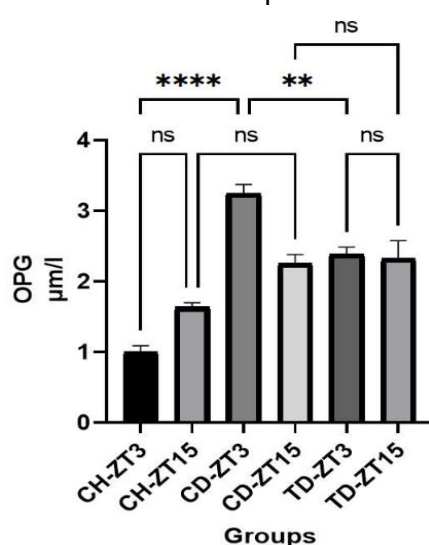


Fig. 2. *OPG* gene level expressed in different groups. Data are mean $\pm$ SD. Pairwise comparisons between bars indicate the rate of significant difference.

When the average results of the Bmal1 variable were compared (Fig. 3), it was evident that diabetic rats had significantly lower levels of this variable than healthy control rats ($P<0.05$). The comparison of the training groups' responses to aerobic exercise with the

diabetic groups' responses revealed that the trained rats' response to this variable is increasing and that this trend is significant at the 5% level ($P<0.05$). Significant Bmal1 changes were observed in both the diabetic and control training groups ($P<0.05$).

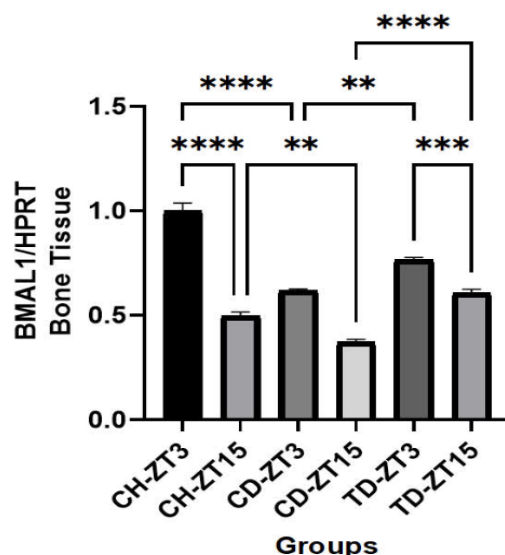


Fig. 3. Bmal1 protein expression level in Bone tissue in different groups, Data are mean $\pm$ SD. Pair-wise comparisons between bars indicate the rate of significant difference.

When comparing the maximum speeds of the various study groups, it was found that aerobic training significantly increased the maximum speed in the trained mice when compared to the untrained mice ($P<0.05$). Maximum speed variations during the two phases of darkness and light were not statistically significant ($P>0.05$).

Discussion. The results of this study showed that diabetes increased insulin resistance in diabetic rats and that eight weeks of endurance exercise significantly reduced this resistance in these subjects. Both glucose uptake and the activity of proteins involved in insulin signaling are enhanced by exercise [12]. In many studies [28, 29], improving insulin resistance and raising the insulin sensitivity of glucose-consuming cells. It has been verified that the findings largely agree with those of the current study. The present study's findings that endurance training reduced insulin resistance are consistent with those of Dela et al. [30], Park et al. [31], and other studies. This improvement in the circumstances results from increased insulin secretion and glucose uptake by consuming cells, according to Slentz et al.

[29] and Malin et al. [32]. It should be noted that exercise improves beta cells' capacity to process signals and secrete insulin since disturbances in the behavior of lipids and intracellular pathways, including cellular stress responses like oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, autophagy, and ceramide/LD formation, are involved in the death of beta cells caused by cytotoxicity [33].

The results of this study's analysis of changes in the *OPN* and *OPG* genes revealed that while endurance training causes a decrease in these genes in bone tissue, consumption of high-fat food causes an increase in these genes. However, there were no appreciable differences between the diabetic and control exercise groups in the changes in the two phases of darkness and light for the *OPG* and *OPN* variables. According to researchers, the type of exercise, its intensity and duration, and the recovery period between efforts all influence the *OPG* response [34]. In another study, in line with our findings, Humphries et al. (2009) investigated the effects of whole-body vibration with and without resistance training on bones for 16 weeks and concluded that bone vibration

training and vibration with resistance training respectively led to a reduction of 50% and 36% in the amount of *OPN* [35].

According to Yu et al (2013), eight weeks of aerobic exercise running on a treadmill resulted in a reduction in serum *OPN* levels and fat percentage in young obese women, leading to the conclusion that changes in body composition are likely one of the factors that lowered *OPN* in the exercise group [12]. While having no impact on the phosphorylation pathway of protein kinase B (PKB) and mitogen-activated protein kinase (MAPK), *OPN* and *OPG* cause the proliferation of JNK and kinases regulated by extracellular messages (ERK) and impair insulin sensitivity by impairing PPAR-gamma and adiponectin gene expression. Therefore, it appears that by increasing insulin sensitivity and lowering inflammatory and pro-inflammatory factors, aerobic exercise can lower the expression of *OPN* and *OPG* levels [36].

According to the findings of the current study, eating foods high in fat causes the *Bmal1* gene in bone tissue to decrease, which is consistent with the assertions made by Lee et al. [19] and Petrenko et al. [37]. In addition, the circadian clock is hampered in humans and cells in T2D, as evidenced by the reduction of *Bmal1*. A circadian rhythm may contribute to metabolic diseases, such as obesity and type 2 diabetes (T2D), reducing the exocytosis of insulin [38]. The present study shows that endurance exercise enhances *Bmal1* status and increases *Bmal1* levels in diabetic rats' bone tissue. Su and endurance exercise, regardless of the time, boost the amount of *Bmal1*, the primary protein that makes up the clock, even though HFD consumption, a factor that interferes with the circadian rhythm, decreases insulin-stimulated glucose uptake, while endurance exercise counteracts this effect [17].

Our study's findings show that there is a significant difference between the increase of the molecular clock gene *Bmal1* during the dark phase and the light phase. Our results are in agreement with those of Savikj et al. [39], Dalbram et al. [17], Heden and Kanaley [40], and Mancilla et al. [41] among the studies conducted. Regarding the time of exercise in the

present study, a significant difference was observed between the activity in the light phase and the dark phase of diabetic rats. Studies have found that participating in sports helps with circadian disorders because it can reset or change the phase of the body's internal clock. In fact, exercising at a specific time of day can correct circadian clock irregularities and improve energy metabolism [17]. Contrary to healthy individuals, those with T2DM have better circadian rhythms, insulin sensitivity, and glycemia at night. However, the conditions for activity are less favorable at night and in the early morning, which causes blood sugar and fat levels to rise in the morning. Found that melatonin reduces reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) and acts as an antioxidant cascade [39]. Melatonin secretion in the dark phase increases with the reduction of light. This not only lessens the oxidative stress brought on by exercise but it also boosts the activity of antioxidant enzymes like superoxide dismutase. Melatonin secretion is influenced by physical activity, duration of activity, and time of day, either immediately or later. Melatonin and aerobic exercise both reduce the number of free radicals produced during exercise. Melatonin can lessen malondialdehyde and lipid peroxidation, particularly when combined with aerobic exercise. Additionally, it can improve the body's health and adaptation to physical activity by reducing ROS caused by that activity [42]. Additionally, diabetes results in a decrease in *Bmal1*, which affects both the body's ability to tolerate glucose and the ability of skeletal muscles to absorb glucose when stimulated by insulin. Contrarily, in mice with type 2 diabetes, upregulating *Bmal1* expression enhances insulin sensitivity and enhances insulin tolerance [17]. Sympathetic activation and glucocorticoid release are likely to be the common signalling pathways by which physical activity alters the body's internal clock [25]. The oxidation of the NADPH cofactor and the displacement of the γ -subunit of the K^+ channel, which ultimately results in the induction of sleep, are probably caused by the buildup of ROS. According to recent research, clock genes have

redox characteristics and may be directly impacted by the molecular mechanism of adenosine accumulation. It works for intracellular interactions [24]. In this way, the prevention and management of type 2 diabetes may benefit from therapeutic approaches intended to improve circadian clock function. However, these findings did not agree with those of Steidle-Kloc et al. [43], Toghi-Eshghi and Yardley [44], or Chiang et al. [45]. In the study conducted by Kloc et al., the subjects were CAD/T2DM patients who voluntarily underwent a number of exercise sessions at home, reducing the amount of control over the proper execution of the exercise protocol. Acute resistance training that took place at 7 AM and 5 PM was the activity that Toghi-Eshghi and Yardley studied. The 12-week study by Chiang et al. included diabetics as well. The type and intensity of the activity, as well as the time spent engaging in the activity, can generally be mentioned as contributing factors to the studies' inconsistent findings. According to some research, Bmal1 is phosphorylated by insulin-activated PI3K/AKT signaling, which lowers its transcriptional activity. In addition, because prolonged starvation can increase insulin signalling, refeeding after a prolonged fast has a stronger effect on the clock genes [16]. Because some strains of mice have higher levels of insulin resistance brought on by HFD, the type of subjects and mice used in the study can also affect the outcome [17].

Endurance exercise at the start of the dark phase increases the main clock protein, improves insulin resistance and bone index genes in type 2 diabetic rats. Limitations include uncontrolled food consumption, limited time measurements, and lack of evaluation of other circadian rhythm genes. Consideration of impacts on liver and muscle is important. Additionally, HIIT has been found in some studies to be more effective on cell metabolism than endurance exercises [17], and there was no room to compare them in the current study, so further research is necessary.

Conclusion. The study reveals that diabetes increases insulin resistance, *OPN*, *OPG*, and *Bmal1* protein levels in bone tissue. Performing eight weeks of endurance exercise at

the beginning of the dark phase yields greater improvements in insulin resistance and *Bmal1* protein concentration compared to the light phase. These findings can guide the development of exercise protocols aligned with the circadian rhythm to mitigate bone tissue damage in diabetic individuals. Regardless of the timing, endurance training for eight weeks reduces the expression of *OPN* and *OPG* genes in bone tissue. Daily use of such exercise can modify *OPN* and *OPG* levels, potentially reducing the risk of bone tissue damage in diabetic patients. Limitations include uncontrolled food consumption, limited time measurements, and the need to consider the impact on other tissues like the liver and muscle.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Cutrim DMSL, Pereira FA, de Paula FJA, et al. Lack of relationship between glycemic control and bone mineral density in type 2 diabetes mellitus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2007;40(2):221-227. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006005000054>
2. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9(th) edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2019;157:107843. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>
3. Sahbafar H, Mehmandoust S, Zeinalizad L, et al. Prepared Plasmonic Glass Substrates via Electrodeposition for Detecting Trace Glucose: SERS, DFT, and FDTD Investigations. *Plasmonics*. 2024;19:2087-2096. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11468-023-02126-y>
4. Gray SP, Cooper ME. Alleviating the burden of diabetic nephropathy. *Nature Reviews Nephrology*. 2011;7(2):71-73. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrneph.2010.176>
5. Eskandari V, Sahbafar H, Zeinalizad L, et al. A review of applications of surface-enhanced raman spectroscopy laser for detection of

biomaterials and a quick glance into its advances for COVID-19 investigations. *ISSS Journal of Micro and Smart Systems*. 2022;11(2):363-382. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41683-022-00103-x>

6. Liu HF, Zhang HJ, Hu QX, et al. Altered polarization, morphology, and impaired innate immunity germane to resident peritoneal macrophages in mice with long-term type 2 diabetes. *BioMed Research International*. 2012;2012:867023. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/867023>

7. Rahimi Z. Parathyroid hormone, glucose metabolism and diabetes mellitus. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2009;307:77-82.

8. Won JC, Kwon HS, Kim CH, et al. Prevalence and clinical characteristics of diabetic peripheral neuropathy in hospital patients with Type 2 diabetes in Korea. *Diabetic Medicine*. 2012;29(9):e290-e296. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2012.03697.x>

9. Zanatta LCB, Boguszewski CL, Borba VZC, et al. Association between undercarboxylated osteocalcin, bone mineral density, and metabolic parameters in postmenopausal women. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2018;62(4):446-451. DOI: <https://doi.org/10.20945/2359-3997000000061>

10. Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, et al. Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(13):5266-5270. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0711119105>

11. Sato S, Basse AL, Schönke M, et al. Time of Exercise Specifies the Impact on Muscle Metabolic Pathways and Systemic Energy Homeostasis. *Cell Metabolism*. 2019;30(1):92-110.e4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.03.013>

12. You JS, Ji HI, Chang KJ, et al. Serum osteopontin concentration is decreased by exercise-induced fat loss but is not correlated with body fat percentage in obese humans. *Molecular Medicine Reports*. 2013;8(2):579-584. DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1522>

13. Komorowski J, Jankiewicz-Wika J, Kolomecki K, et al. Systemic blood osteopontin, endostatin, and E-selectin concentrations after vertical banding surgery in severely obese adults. *Cytokine*. 2011;55(1):56-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2011.03.020>

14. Pagel CN, Wasgewater Wijesinghe DK, Taghavi Esfandouni N, et al. Osteopontin, inflammation and myogenesis: influencing regeneration, fibrosis and size of skeletal muscle. *Journal of Cell Communication and Signaling*. 2014;8(2):95-103. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12079-013-0217-3>

15. Silvestrini G, Ballanti P, Patacchioli F, et al. Detection of osteoprotegerin (OPG) and its ligand (RANKL) mRNA and protein in femur and tibia of the rat. *Journal of Molecular Histology*. 2005;36(1-2):59-67. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10735-004-3839-1>

16. Tahara Y, Shibata S. Entrainment of the mouse circadian clock: Effects of stress, exercise, and nutrition. *Free Radical Biology and Medicine*. 2018;119:129-138. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.026>

17. Dalbram E, Basse AL, Zierath JR, et al. Voluntary wheel running in the late dark phase ameliorates diet-induced obesity in mice without altering insulin action. *Journal of Applied Physiology*. 2019;126(4):993-1005. DOI: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00737.2018>

18. Kurose T, Yabe D, Inagaki N. Circadian rhythms and diabetes. *Journal of Diabetes Investigation*. 2011;2(3):176-177. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2040-1124.2011.00105.x>

19. Lee Y. Roles of circadian clocks in cancer pathogenesis and treatment. *Experimental and Molecular Medicine*. 2021;53(10):1529-1538. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00681-0>

20. Parameswaran G, Ray DW. Sleep, circadian rhythms, and type 2 diabetes mellitus. *Clinical Endocrinology*. 2022;96(1):12-20. DOI: <https://doi.org/10.1111/cen.14607>

21. Tahara Y, Aoyama S, Shibata S. The mammalian circadian clock and its entrainment by stress and exercise. *Journal of Physiological Sciences*. 2017;67(1):1-10. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12576-016-0450-7>

22. Dashti N, Rezaeian N, Karimi M, et al. The Effect of high intensity interval training on serum levels of Osteopontin and insulin resistance index in sedentary overweight and obese women. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2021;14(2):115-126. DOI: <https://doi.org/10.52547/JOEPPA.14.2.115>

23. Khalili R, Hasanzadeh S, Jalali AS, et al. The Effects of Liraglutide on In Vitro Fertilization in Mice Following Experimental Diabetes. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2020;14(1):51-60. DOI: <https://doi.org/10.29252/qums.14.1.51>

24. Nazari M, Moghimipour E, Tabandeh MR. Betaine Down Regulates Apelin Gene Expression in Cardiac and Adipose Tissues of Insulin Resistant Diabetic Rats Fed by High-Calorie Diet. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 2017;23(2):181-190. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10989-016-9551-7>
25. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Scientific Reports*. 2017;7(1):204. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00276-8>
26. Ostler JE, Maurya SK, Dials J, et al. Effects of insulin resistance on skeletal muscle growth and exercise capacity in type 2 diabetic mouse models. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2014;306(6):E592-E605. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00277.2013>
27. Bustin SA, Benes V, Garson JA, et al. The MIQE Guidelines: M inimum I nformation for Publication of Q uantitative Real-Time PCR Experiments. *Clinical Chemistry*. 2009;55(4):611-622. DOI: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
28. Heiskanen MA, Motiani KK, Mari A, et al. Exercise training decreases pancreatic fat content and improves beta cell function regardless of baseline glucose tolerance: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2018;61(8):1817-1828. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4627-x>
29. Slentz CA, Tanner CJ, Bateman LA, et al. Effects of exercise training intensity on pancreatic beta-cell function. *Diabetes Care*. 2009;32(10):1807-1811. DOI: <https://doi.org/10.2337/dc09-0032>
30. Dela F, von Linstow ME, Mikines KJ, et al. Physical training may enhance beta-cell function in type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2004;287(5):E1024-E1031. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00056.2004>
31. Park S, Hong SM, Sung SR. Exendin-4 and exercise promotes beta-cell function and mass through IRS2 induction in islets of diabetic rats. *Life Sciences*. 2008;82(9-10):503-511. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.12.018>
32. Malin SK, Solomon TPJ, Blaszcak A, et al. Pancreatic β -cell function increases in a linear dose-response manner following exercise training in adults with prediabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2013;305(10):E1248-E1254. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00260.2013>
33. Oh YS, Bae GD, Baek DJ, et al. Fatty Acid-Induced Lipotoxicity in Pancreatic Beta-Cells During Development of Type 2 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology*. 2018;9:384. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00384>
34. Pereira GB, Tibana RA, Navalta J, et al. Acute effects of resistance training on cytokines and osteoprotegerin in women with metabolic syndrome. *Clinical Physiology and Functional Imaging*. 2013;33(2):122-130. DOI: <https://doi.org/10.1111/cpf.12004>
35. Humphries B, Fenning A, Dugan E, et al. Whole-body vibration effects on bone mineral density in women with or without resistance training. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*. 2009;80(12):1025-1031. DOI: <https://doi.org/10.3357/ASEM.2573.2009>
36. Zeyda M, Gollinger K, Todoric J, et al. Osteopontin is an activator of human adipose tissue macrophages and directly affects adipocyte function. *Endocrinology*. 2011;152(6):2219-2227. DOI: <https://doi.org/10.1210/en.2010-1328>
37. Petrenko V, Gandasi NR, Sage D, et al. In pancreatic islets from type 2 diabetes patients, the dampened circadian oscillators lead to reduced insulin and glucagon exocytosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2020;117(5):2484-2495. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1916539117>
38. Petrenko V, Philippe J, Dibner C. Time zones of pancreatic islet metabolism. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2018;20(S2):116-126. DOI: <https://doi.org/10.1111/dom.13383>
39. Savikj M, Gabriel BM, Alm PS, et al. Afternoon exercise is more efficacious than morning exercise at improving blood glucose levels in individuals with type 2 diabetes: a randomised crossover trial. *Diabetologia*. 2019;62(2):233-237. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4767-z>
40. Heden TD, Kanaley JA. Syncing Exercise With Meals and Circadian Clocks. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. 2019;47(1):22-28. DOI: <https://doi.org/10.1249/JES.0000000000000172>
41. Mancilla R, Brouwers B, Schrauwen-Hinderling VB, et al. Exercise training elicits superior metabolic effects when performed in the afternoon compared to morning in metabolically compromised humans. *Physiological Reports*. 2021;8(24):e14669. DOI: <https://doi.org/10.14814/phy2.14669>

42. Mansouri MRM, Abbasian S, Khazaie M. Melatonin and Exercise: Their Effects on Malondialdehyde and Lipid Peroxidation. In: Drăgoi CM, Nicolae AC, editors. Melatonin - Molecular Biology, Clinical and Pharmaceutical Approaches. IntechOpen; 2018. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.79561>

43. Steidle-Kloc E, Schönfelder M, Müller E, et al. Does exercise training impact clock genes in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus? European Journal of Preventive Cardiology. 2016;23(13):1375-1382. DOI: <https://doi.org/10.1177/2047487316639682>

44. Toghi-Eshghi SR, Yardley JE. Morning (Fasting) vs Afternoon Resistance Exercise in Individuals With Type 1 Diabetes: A Randomized Crossover Study. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2019;104(11):5217-5224. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2018-02384>

45. Chiang SL, Heitkemper MML, Hung YJ, et al. Effects of a 12-week moderate-intensity exercise training on blood glucose response in patients with type 2 diabetes: A prospective longitudinal study. Medicine. 2019;98(36):e16860. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016860>

Received 4 November 2023

Revised 29 January 2024

Accepted 28 February 2024

Information about the authors

Maryam Janbozorgi, Assistant Professor at the Department of Sport Physiology, School of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, E-mail: m.janbozorgi@scu.ac, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3614-727X>.

Masoumeh Hosseinzadeh, Instructor at the Department of Sport Physiology, School of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, E-mail: masoumeh.hosseinzadeh0912@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6042-3943>.

Asma Taheri, Assistant Professor at the Department of Sport Physiology, School of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, E-mail: tasma3521@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-0465-5579>.

Sahar Ghafaripur, Graduate, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, E-mail: visia174@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2558-7073>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-4

УДК 575.822

Особенности межлокусных взаимодействий при формировании изолированных и сочетанных осложнений беременности

О.В. Головченко 

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. Головченко (gol.doc@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Осложнения беременности имеют высокую распространенность и важное медико-социальное значение. В их формирование вовлечены генетические факторы. **Цель исследования:** Изучить особенности межлокусных взаимодействий при формировании изолированных и сочетанных осложнений беременности. **Материалы и методы:** Выборка для исследования составила 786 беременных из которых 462 женщины были с различными осложнениями беременности (изолированная ПЭ (n=190); 2) изолированная ЗРП (n=196); 3) сочетание ПЭ и ЗРП (n=76)) и 324 женщины с физиологическим течением беременности. Проведено генотипирование 13 полиморфных локусов генов факторов роста и их рецепторов (rs4444903 *EGF*, rs833061 *VEGFA*, rs2981582 *FGFR2*, rs6214 *IGF1*, rs1800469 *TGFβ1*), генов рецепторов эстрогенов и прогестерона (rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs3798577 *ESR1*, rs484389 *PGR*, rs1042838 *PGR*), генов наследственных тромбофилий (rs1126643 *ITGA2*, rs5918 *ITGB3* и rs5985 *F13A1*). Взаимодействие полиморфных локусов, ассоциированных с изучаемыми осложнениями беременности, визуализацию и определение характера (синергизм, независимый эффект, антагонизм) и силы (доля вклада в энтропию признака) данных взаимодействий, изучали методами MB-MDR и MDR. **Результаты:** Риск развития изолированной ЗРП определяется тремя моделями межлокусных взаимодействий 5 полиморфизмов: rs4444903 *EGF*, rs6214 *IGF1*, rs2234693 *ESR1*, rs484389 *PGR* и rs5985 *F13A1* с наиболее выраженными эффектами полиморфного локуса rs6214 *IGF1*. Подверженность к изолированной ПЭ определяется межлокусными взаимодействиями пяти локусов: rs4444903 *EGF*, rs833061 *VEGFA*, rs2981582 *FGFR2*, rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1* ключевую роль в которых играет двухлокусное взаимодействие rs9340799 *ESR1*xrs2234693 *ESR1* (входит в состав всех 3-х моделей). Формирование сочетания ЗРП и ПЭ ассоциировано с двумя моделями межгенных взаимодействий 4 полиморфизмов: rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs484389 *PGR*, rs5918 *ITGB3*. Три рисковые комбинации генотипов, показали наибольший уровень статистической значимости ассоциаций ($p < 0,005$) с осложнениями беременности: TT-rs2234693 *ESR1*/xGA-rs6214 *IGF1* – изолированная ЗРП ($\beta = 1,86$, $p = 0,003$); AA-rs9340799 *ESR1*/xTT-rs2234693 *ESR1* – изолированная ПЭ ($\beta = 2,45$, $p = 0,0009$) и сочетание ПЭ и ЗРП ($\beta = 2,38$, $p = 0,002$). **Заключение:** Риск развития осложнений беременности в значительной степени определяется генетической комбинаторикой трех полиморфных локусов rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs6214 *IGF1*.

Ключевые слова: полиморфизм; ассоциации; SNP×SNP взаимодействия; преэклампсия, задержка роста плода

Для цитирования: Головченко ОВ. Особенности межлокусных взаимодействий при формировании изолированных и сочетанных осложнений беременности. Научные результаты биомедицинских исследований. 2024;10(4):532-552. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-4

Characteristics of inter-locus interactions in the development of isolated and combined complications of pregnancy

Oleg V. Golovchenko 

Belgorod State National Research University,
85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
Corresponding author: Oleg V. Golovchenko (gol.doc@mail.ru)

Abstract

Background: Pregnancy complications have a high prevalence and important medical and social implications. Genetic factors are involved in their development. **The aim of the study:** To study the characteristics of interlocus interactions in the formation of isolated and combined pregnancy complications. **Materials and methods:** The sample for the study consisted of 786 pregnant women, including 462 women with various pregnancy complications (isolated preeclampsia (PE) (n=190); 2) isolated fetal growth retardation (FGR) (n=196); 3) a combination of PE and FGR (n=76)) and 324 women with a physiological course of pregnancy. Genotyping was performed for 13 polymorphic loci of growth factor genes and their receptors (rs4444903 *EGF*, rs833061 *VEGFA*, rs2981582 *FGFR2*, rs6214 *IGF1*, rs1800469 *TGFβ1*), estrogen and progesterone receptor genes (rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs3798577 *ESR1*, rs484389 *PGR*, rs1042838 *PGR*) and hereditary thrombophilia genes (rs1126643 *ITGA2*, rs5918 *ITGB3* and rs5985 *F13A1*). The interaction of polymorphic loci associated with the studied pregnancy complications, visualization and determination of the nature (synergism, independent effect, antagonism) and strength (proportion of contribution to the entropy of the trait) of these interactions were studied using MB-MDR and MDR methods. **Results:** The risk of developing isolated FGR is determined by three models of interlocus interactions of 5 polymorphisms: rs4444903 *EGF*, rs6214 *IGF1*, rs2234693 *ESR1*, rs484389 *PGR* and rs5985 *F13A1* with the most pronounced effects of the polymorphic locus rs6214 *IGF1*. Susceptibility to isolated PE is determined by the interlocus interactions of five loci: rs4444903 *EGF*, rs833061 *VEGFA*, rs2981582 *FGFR2*, rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, in which the two-locus interaction rs9340799 *ESR1*×rs2234693 *ESR1* plays a key role (it is part of all 3 models). The formation of a combination of FGR and PE is associated with two models of intergenic interactions of 4 polymorphisms: rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs484389 *PGR*, rs5918 *ITGB3*. Three high-risk genotype combinations of genotypes showed the highest level of statistical significance of associations ($p < 0.005$) with pregnancy complications: TT-rs2234693 *ESR1*×GA-rs6214 *IGF1* – isolated FGR ($\beta = 1.86$, $p = 0.003$); AA-rs9340799 *ESR1*×TT-rs2234693 *ESR1* – isolated PE ($\beta = 2.45$, $p = 0.0009$) and the combination of PE and FGR ($\beta = 2.38$, $p = 0.002$). **Conclusion:** The risk of pregnancy complications is largely determined by the genetic combinatorics of the three polymorphic loci rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs6214 *IGF1*.

Keywords: polymorphism; associations; SNP×SNP interactions; pre-eclampsia; fetal growth retardation

For citation: Golovchenko OV. Features of interlocus interactions in the formation of isolated and combined pregnancy complications. Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):532-552. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-4

Введение. Осложнения беременности (преэклампсия (ПЭ), плацентарная недостаточность (ПН), задержка роста плода (ЗРП)) продолжают оставаться одной из нерешенных научно-практических проблем в мировом акушерстве [1-8]. ПЭ осложняет 2–8% беременностей во всем мире [3, 4]. По данным официальной статистики в настоящее время (2020-2022 гг) в РФ ПЭ регистрируется у 7,6-7,9% беременных и за последние годы встречаемость ПЭ среди беременных РФ несколько возросла с 84,2 на 1000 родов в 2020 г до 85,2 на 1000 родов в 2022 г [9]. В структуре осложнений беременности значимое место занимает задержка роста плода (ЗРП) [7, 8]. Среди всех беременностей встречаемость ЗРП может достигать 8-10% [7, 10].

Анализ современной литературы свидетельствует о том, что ПЭ и ЗРП являются мультифакторными заболеваниями. Роль генетических факторов в формировании как ПЭ [11-16] так и ЗРП [10, 17-20] не вызывают сомнения и является доказанной. Вместе с этим, результаты исследований, направленных на поиск генетических детерминант ПЭ, ЗРП часто не согласуются между собой и нередко противоречивы. Это определяют необходимость «дополнительных» исследований по этой теме (поиск генетических факторов риска возникновения ПЭ, ЗРП), особенно с учетом оценки сложных процессов межгенных взаимодействий, влияющих на предрасположенность к ПЭ и ЗРП. Уточнение генетических механизмов формирования ПЭ и ЗРП создаст необходимые предпосылки «генетического обоснования» профилактики ПЭ и ЗРП еще на этапе прегравидарной подготовки. Число фундаментальных научных работ в области молекулярно-генетических исследований осложнений беременности, которые нашли бы практическое применение в современном здравоохранении невелико и необходимы дальнейшие исследования в этой области.

Цель исследования. Изучить особенности межлокусных взаимодействий при формировании изолированных и сочетанных осложнений беременности.

Материалы и методы исследования. Выборка, на которой выполнено настоящее исследование, составила 786 беременных: у 462 женщин были диагностированы различные осложнения беременности (ПЭ, ЗРП); 324 женщины имели физиологическое течение беременности. Критерием включения в группу с осложнениями беременности явилось наличие у женщины клинически подтвержденных ПЭ [16] и/или ЗРП [10]. Исследование проходило под обязательным контролем со стороны этического комитета НИУ БелГУ.

Из общего числа обследованных (786 беременных) были сформированы 4 группы для исследования: 1) изолированная ПЭ (n=190); 2) изолированная ЗРП (n=196); 3) сочетание ПЭ и ЗРП (n=76); 4) контрольная группа (n=324).

Объектом генетического исследования была ДНК, выделенная из периферической венозной крови. Оценка качества полученной ДНК и определение ее концентрации осуществлялись на спектрофотометре Thermo Scientific «NanoDrop 2000с».

В молекулярно-генетическое исследование нами были включены отобранные с учетом определенных критериев полиморфные локусы трех групп генов-кандидатов – факторов роста и их рецепторов, рецепторов эстрогенов и прогестерона, факторов, участвующих в процессах коагуляции крови (факторы наследственных тромбофилий). При отборе полиморфных локусов генов-кандидатов учитывались следующие критерии: а) ассоциации с осложнениями беременности (ПЭ, ЗРП и др.) по данным ранее проведенных генетических ассоциативных исследований; б) значимый регуляторный

(эпигенетический) потенциал; в) ассоциации с экспрессией генов; г) частота полиморфного варианта не менее 5%.

Для оценки регуляторного потенциала рассматриваемых в работе полиморфных локусов, их связи с транскрипцией генов, а также распространенности полиморфных вариантов в различных популяциях и в том числе европейских, использовалась он-лайн база данных HaploReg (дата доступа: 15.01.2023 —

<http://archive.broadinstitute.org/mammals/haploreg/>).

Для настоящего исследования (согласно выше обозначенных критериев) были отобраны 13 полиморфных локусов ряда генов, в том числе генов факторов роста и рецепторов факторов роста (rs833061 *VEGFA*, rs6214 *IGF1*, rs4444903 *EGF*, rs2981582 *FGFR2*, rs1800469 *TGFβ1*), генов рецепторов эстрогенов и прогестерона (rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs3798577 *ESR1*, rs484389 *PGR*, rs1042838 *PGR*), генов наследственных тромбофилий (rs1126643 *ITGA2*, rs5918 *ITGB3* и rs5985 *F13A1*). Следует отметить, что все 13 включенных в исследование полиморфных локусов, имеют значимый регуляторный потенциал, в том числе три из них (rs1042838, rs5918 и rs5985) приводят к несинонимичным заменам аминокислот в кодируемых полипептидах (*F13A1*, *PGR*, *ITGB3*), 8 локусов имеют связи с генной экспрессией, 3 локуса (rs2981582, rs5985, rs1800469) по данным полногеномных исследований (GWAS) связаны с такими заболеваниями и признаками как конечная стадия гемокоагуляции, рак молочной железы и др.) и минорные аллели всех рассматриваемых полиморфизмов встречаются с частотой более 10% среди европейского населения.

В работе использовался амплификатор CFX-96-Real-Time System, тест системы/наборы для генотипирования SNP, изготовленные на базе Синтол (Москва) и Тест-Ген (Ульяновск). Исследование проведено на кафедре медико-биологических дисциплин НИУ БелГУ методом дискриминации аллелей по протоколам производителей с контро-

лем качества генотипирования (использовались положительные и отрицательные контрольные образцы) [21].

Все экспериментальные данные (распределение генотипов) оценивались на предмет их соответствия закону Харди-Вайнберга (HWE) [22]. При проведении этого анализа вводили поправку Бонферрони, где учитывали число анализируемых полиморфных локусов ($n=13$, $p_{\text{bonf}}=0,05/13=0,0038$). Таким образом, статистически значимым считали отклонение наблюдаемого распределения генотипов от теоретически ожидаемого при равновесии HWE при $p<0,0038$. Так же при проведении популяционно-генетического анализа нами выполнен расчет частот минорных аллелей по рассматриваемым полиморфизмам.

Взаимодействие полиморфных локусов, ассоциированных с изучаемыми осложнениями беременности, визуализацию и определение характера (синергизм/независимый эффект/антагонизм) и силы (вклад в энтропию признака/заболевания) данных взаимодействий, изучали методами MB-MDR и MDR [23]. По результатам проведенного анализа межлокусных взаимодействий (данное исследование выполнялось в программе MB-MDR среды R) отбирались наиболее значимые модели (характеризуются наибольшими значениями статистик Вальда) трех разных уровней - 2, 3 и 4 локусные взаимодействия. В качестве ковариат рассматривались количественные переменные – возраст беременной и индекс массы тела женщины до беременности. При этом проводилась коррекция на множественные сравнения – были выполнены пермутационные перестановки (осуществлялось 1000 пермутаций). Статистически значимыми считались различия на уровне $p_{\text{perm}}<0,05$. Пермутационное тестирование проводилось в программе MB-MDR в среде R.

Для полиморфных локусов rs9340799 и rs2234693, показавших наиболее выраженные ассоциации при межлокусных взаимодействиях с осложнениями беременности (изолированная ПЭ, сочетание ПЭ и ЗПП) и SNPs, сильно сцепленных ($r^2\geq 0,6$) с ними проведен анализ функционального значения.

Для этого были использованы мировые онлайн ресурсы (базы данных) по функциональной геномике такие как HaploReg, GTEx-portal. Определение сильно сцепленных SNPs с изучаемыми нами полиморфными локусами проводилось в программе HaploReg (v4.1). Использовались оценки неравновесия по сцеплению между SNPs по европейской популяции из проекта 1000 Геномов при заданном пороговом значении $r^2 \geq 0,6$.

Результаты и их обсуждение. В начале данного исследования нами проведен популяционно-генетический анализ распределения рассматриваемых молекулярно-генетических маркеров и их соответствие ожидаемым параметрам при выполнении равновесия Харди-Вайнберга (HWE) во всех изучаемых 4 группах беременных с целью оценки качества генетических данных, полученных экспериментально. Соответствие между наблюдаемым и ожидаемым согласно HWE распределением генотипов свидетельствует о «корректности» проведенного экспериментального генетического исследования (полученные генетические данные можно использовать при анализе ассоциаций), тогда как выявленные несоответствия между наблюдаемым и ожидаемым согласно HWE распределением генотипов указывают на необходимость «дополнительных» исследований, которые бы подтвердили «корректность» проведенного экспериментального генетического исследования (проведение повторного генотипирования и др.). Данный «подготовительный этап» анализа первичных генетических данных является обязательным и позволяет избежать получение в результате ассоциативного анализа ложноположительных/ложноотрицательных результатов, что безусловно повышает качество проводимого нами генетико-эпидемиологического исследования.

Результаты проведенного популяционно-генетического анализа показали, что практически для всех рассмотренных нами SNPs во всех изучаемых группах беременных (изолированная ПЭ, изолированная ЗРП, сочетание ПЭ и ЗРП, контрольная группа) полученное нами в результате проведенного

молекулярно-генетического исследования эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии HWE. Для двух полиморфных локусов в двух группах беременных наблюдалось некоторое отклонение в наблюдаемом распределении генотипов в сравнении с ожидаемым согласно равновесия HWE: среди беременных с изолированной ПЭ по полиморфизму rs5985 гена *F13A1* зарегистрировано увеличение доли гомозигот и снижение соответственно доли гетерозиготных индивидуумов ($H_0=0,332$, $H_e=0,408$ $p=0,008$), а в группе беременных с изолированной ЗРП по полиморфному локусу rs4444903 гена *EGF*, наоборот, выявлено повышение удельного веса гетерозиготных индивидуумов и уменьшение доли гомозигот ($H_0=0,577$, $H_e=0,500$ $p=0,044$) в сравнении с ожидаемым распределением генотипов согласно равновесия HWE. Следует отметить, что включение в анализ поправки Бонферрони (введена для коррекции на множественные сравнения согласно количеству рассматриваемых полиморфных локусов ($n=13$, $p_{\text{bonf}}=0,05/13=0,0038$)) отклонения в распределении генотипов по двум вышеуказанным полиморфизмам (rs5985 гена *F13A1* и rs4444903 гена *EGF*) среди беременных с ПЭ и беременных с ЗРП оказались статистически не значимым ($p>0,0038$) и следовательно, можно заключить, что все рассматриваемые нами полиморфные локусы во всех изучаемых 4 группах беременных прошли тест на соответствие HWE и могут быть использованы на дальнейших этапах нашей работы при изучении ассоциаций.

На следующем этапе работы мы провели анализ взаимодействий полиморфных локусов, с целью установления межгенных взаимодействий, определяющих подверженность к осложнениям беременности (изолированное ЗРП, изолированная ПЭ, сочетание ПЭ и ЗРП), а также определения конкретных комбинаций генотипов, связанных с риском развития различных осложнений беременности. Для этого мы использовали методы MB-MDR и MDR. Полученные результаты приведены в таблицах 1 и 2 и рисунках 1-3.

Таблица 1

Межгенные взаимодействия, ассоциированные с развитием осложнений беременности

Table 1

Intergenic interactions associated with the development of pregnancy complications

Перечень полиморфизмов, включенных в модели	Рисковые модели			Протективные модели			P	P _{perm}
	n	β	W	n	β	W		
Изолированная ЗРП								
2 локуса:rs2234693 ESR1xrs6214 IGF1	1	1,85	8,63	1	-1,03	3,17	0,003	0,018
3 локуса:rs484389 PGRxrs6214 IGF1xrs4444903 EGF	-	-	-	3	-2,23	11,89	0,0006	0,012
4 локуса:rs5985 F13A1xrs2234693 ESR1xrs484389 PGRxrs6214 IGF1	2	1,98	6,76	4	-1,89	19,02	0,00001	0,001
Изолированная ПЭ								
2 локуса:rs9340799 ESR1xrs2234693 ESR1	3	2,10	24,82	3	-1,27	21,57	0,0000006	<0,001
3 локуса:rs9340799 ESR1xrs2234693 ESR1xrs4444903 EGF	1	2,10	4,09	5	-1,26	19,66	0,000009	<0,001
4 локуса:rs9340799 ESR1xrs2234693 ESR1xrs2981582 FGFR2x rs833061 VEGFA	1	1,94	3,46	4	-1,85	25,03	0,0000006	<0,001
Сочетание ПЭ и ЗРП								
2 локуса:rs9340799 ESR1xrs2234693 ESR1	1	2,38	9,27	2	-1,11	7,24	0,002	0,033
3 локуса:rs5918 ITGB3xrs2234693 ESR1xrs484389 PGR	2	1,50	9,59	-	-	-	0,002	0,042

Примечание: результаты получены методом MB-MDR (проводилась коррекция на ковариаты); β – коэффициент логистической регрессии; W – статистики Вальда; P – уровень статистической значимости; P_{perm} – уровень статистической значимости после проведенного пермутационного тестирования.
Note: results obtained by MB-MDR method (correction for covariates was performed); β – logistic regression coefficient; W – Wald statistics; P – statistical significance level; P_{perm} – statistical significance level after permutation testing performed.

Согласно полученных нами данных, риск развития изолированной ЗПП определяется тремя моделями межлокусных взаимодействий ($0,001 \leq p_{perm} \leq 0,018$) 5 полиморфизмов: rs4444903 *EGF*, rs6214 *IGF1*, rs2234693 *ESR1*, rs484389 *PGR* и rs5985 *F13A1* (Табл. 1). При этом полиморфный локус rs6214 *IGF1* играет ключевую роль в этих моделях – он входит в состав всех 3-х моделей, определяющих риск развития изолированной ЗПП.

Так же, парное межлокусное взаимодействие rs2234693 *ESR1*xrs6214 *IGF1* является основой 2-х из 3-х моделей, вовлеченных в формирование изолированной ЗПП. Нами установлены (в рамках вышеуказанных моделей) 3 «протективные» комбинации генотипов (показатели $\beta = -1,22$ - $-2,39$) и одна «рисковая» двухлокусная комбинация – TT-rs2234693 *ESR1*xGA-rs6214 *IGF1* ($\beta = 1,86$), влияющих на формирование изолированной ЗПП (Табл. 2).

Таблица 2

Данные о распределении комбинаций генотипов, ассоциированных с развитием осложнений беременности

Table 2

Data on the distribution of genotype combinations associated with the development of pregnancy complications

Генотипическая комбинация	Частота комбинации, % (n)		β	P	Эффект
	осложн. беремен.	контроль			
Изолированная ЗПП					
TT-rs2234693 ESR1xGA-rs6214 IGF1	16,33 (32)	11,42 (37)	1,86	0,003	рисковый
TC-rs484389 PGRxGG-rs6214 IGF1xAG- rs4444903 EGF	1,53 (3)	3,39 (11)	-2,32	0,031	протективный
GG-rs5985 F13A1xCT-rs2234693 ESR1xTC-rs484389 PGRxGG-rs6214 IGF1	2,55 (5)	3,39 (11)	-2,39	0,027	протективный
GG-rs5985 F13A1xCT-rs2234693 ESR1xTC-rs484389 PGRxGA-rs6214 IGF1	3,06 (6)	7,41 (24)	-1,22	0,048	протективный
Изолированная ПЭ					
AA-rs9340799 ESR1xCC-rs2234693 ESR1	2,63 (5)	5,86 (19)	-1,89	0,0005	протективный
AA-rs9340799 ESR1xTT-rs2234693 ESR1	21,05 (40)	14,81 (48)	2,45	0,0009	рисковый
GG-rs9340799 ESR1xTT-rs2234693 ESR1	0,52 (1)	1,85 (6)	-2,66	0,014	протективный
AA-rs9340799 ESR1xCC-rs2234693 ESR1xAG-rs4444903 EGF	1,05 (2)	1,85 (6)	-1,83	0,031	протективный
AA-rs9340799 ESR1xTT-rs2234693 ESR1xAG-rs4444903 EGF	8,95 (17)	8,33 (27)	2,10	0,043	рисковый
AG-rs9340799 ESR1xCT-rs2234693 ESR1xCC-rs2981582 FGFR2xCC-rs833061 VEGFA	1,05 (2)	5,56 (18)	-1,97	0,017	протективный
AA-rs9340799 ESR1xCC-rs2234693 ESR1xCT-rs2981582 FGFR2xCT-rs833061 VEGFA	0,52 (1)	2,78 (9)	-2,92	0,006	протективный
Сочетание ПЭ и ЗПП					
AA-rs9340799 ESR1xTT-rs2234693 ESR1	19,74 (15)	14,81 (48)	2,38	0,002	рисковый
TT-rs5918 ITGB3xTT-rs2234693 ESR1xTC-rs484389 PGR	13,16 (10)	4,01 (13)	1,93	0,016	рисковый

Примечание: результаты получены методом MB-MDR (проводилась коррекция на ковариаты); β – коэффициент логистической регрессии; P – уровень значимости; комбинации генотипов рисковой направленности выделены жирным.

Note: results obtained by MB-MDR method (correction for covariates was performed); β – logistic regression coefficient; P – significance level; combinations of risky genotypes are highlighted in bold.

Развитие изолированной ПЭ так же связано с тремя наиболее значимыми моделями межгенных взаимодействий ($p_{perm} \leq 0,001$), первостепенное значение в которых (входит в состав всех 3-х моделей) имеет двухлокусное взаимодействие rs9340799 *ESR1*xrs2234693 *ESR1* (Табл. 1). В целом подверженность к изолированной ПЭ определяется межлокусными взаимодействиями пяти локусов: rs4444903 *EGF*, rs833061 *VEGFA*, rs2981582 *FGFR2*, rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*. С развитием изолированной ПЭ ассоциированы 5 комбинаций генотипов протективной направленности ($\beta = -1,83 - 2,92$) и две комбинации рисковой направленности – AA-rs9340799 *ESR1*xTT-rs2234693 *ESR1* ($\beta = 2,45$) и AA-rs9340799 *ESR1*xTT-rs2234693 *ESR1*xAG-rs4444903 *EGF* ($\beta = 2,10$) (Табл. 2).

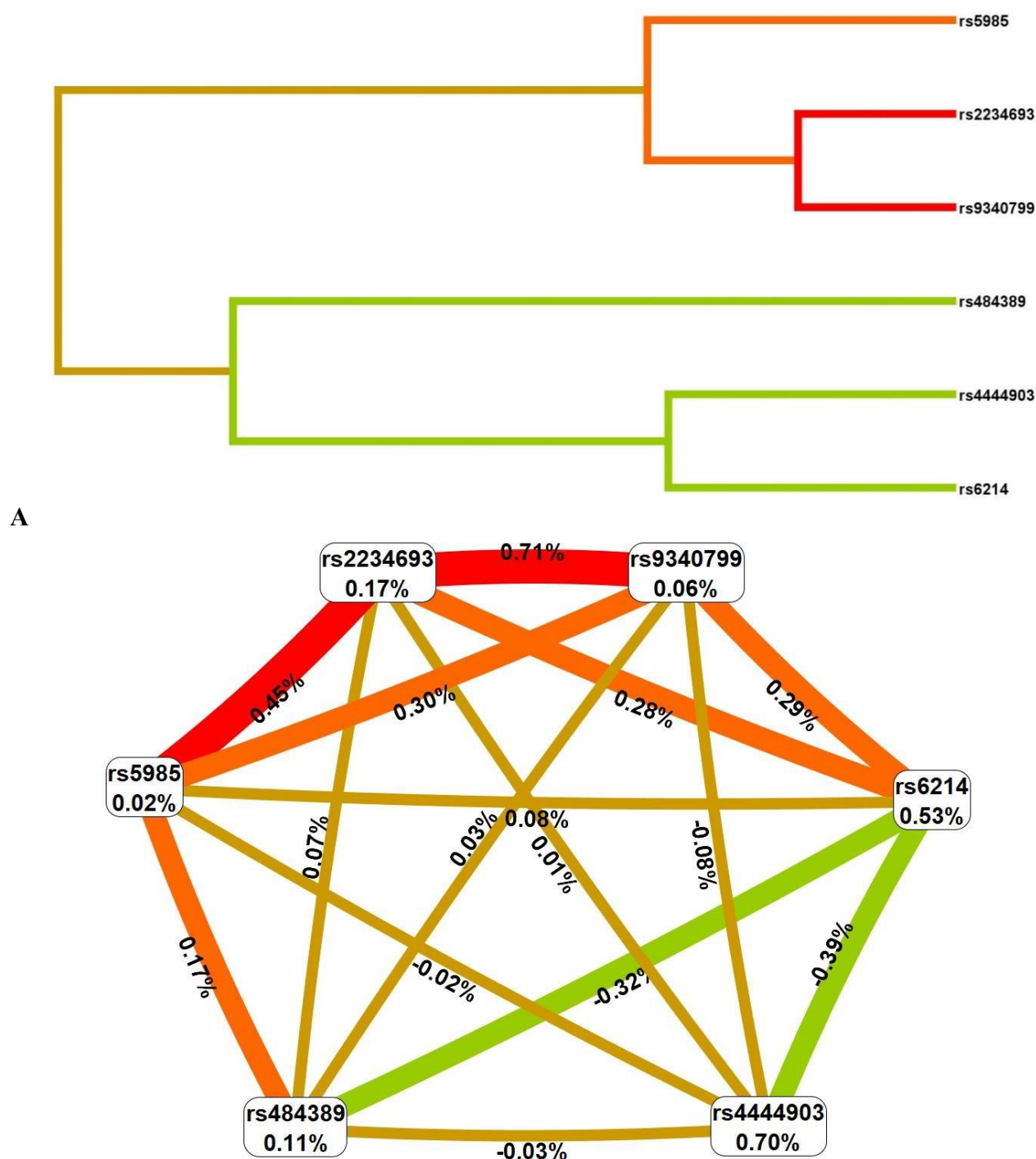
Формирование сочетания ЗПП и ПЭ ассоциировано с двумя моделями межгенных взаимодействий ($0,033 \leq p_{perm} \leq 0,042$) в которых «задействовано» 4 полиморфизма: rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs484389 *PGR*, rs5918 *ITGB3* (Табл. 1). Две комбинации генотипов, показавших статистически значимые ассоциации с развитием сочетания ЗПП и ПЭ - AA-rs9340799 *ESR1*xTT-rs2234693 *ESR1* и TT-rs5918 *ITGB3*xTT-rs2234693 *ESR1*xTC-rs484389 *PGR*, оказывают рисковое влияние на возникновение данного осложнения беременности ($\beta = 2,38$ и $\beta = 1,93$ соответственно) (Табл. 2).

Важно подчеркнуть, что комбинация генотипов AA-rs9340799 *ESR1*xTT-rs2234693 *ESR1* в рамках двухлокусного взаимодействия rs9340799 *ESR1*xrs2234693 *ESR1* является рисковой как для формирования изолированной ПЭ ($\beta = 2,45$), так и для развития сочетания ПЭ и ЗПП ($\beta = 2,38$), что может указывать на универсальное значение этой комбинации генотипов в развитии ПЭ в целом. Около 20-21% женщин с данными осложнениями беременности имеют эту генотипическую комбинацию,

тогда как в контрольной группе процент таких женщин не достигает уровня 15%.

Для изучения силы и направленности межлокусных взаимодействий, определяющих подверженность к изолированным и сочетанным осложнениям беременности мы построили дендрограммы и графы для соответствующих локусов. Итак, в формировании изолированной ЗПП (самостоятельно, в составе гаплотипов (ранее полученные данные [24, 25] и межлокусных взаимодействий (данные настоящего исследования)) согласно полученных нами данных вовлечены 6 локусов – rs4444903 *EGF*, rs6214 *IGF1*, rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs484389 *PGR* и rs5985 *F13A1* (дендрограмма и граф взаимодействия этих локусов представлены на рис. 1). Нами обнаружены выраженные эпистатические взаимодействия синергетической направленности (на дендрограмме и графе линии, их соединяющие окрашены в красный цвет) между rs2234693 *ESR1* и rs9340799 *ESR1* (вклад в энтропию признака – 0,71%), rs2234693 *ESR1* и rs5985 *F13A1* (вклад в энтропию признака – 0,45%).

В развитие изолированной ПЭ, как показали результаты нашей работы, вовлечены так же 6 локусов - rs4444903 *EGF*, rs833061 *VEGFA*, rs2981582 *FGFR2*, rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs1042838 *PGR* (данные настоящего исследования и ранее полученные результаты [26]) (дендрограмма и граф взаимодействия этих локусов представлены на рисунке 2). Наиболее значимые (имеют наибольшие значения показателей энтропии) синергетические взаимодействия (на дендрограмме и графе линии, их соединяющие окрашены в красный цвет) при формировании изолированной ПЭ нами зарегистрированы для двух пар локусов - rs2234693 *ESR1* и rs9340799 *ESR1* (вклад в энтропию признака – 0,97%), rs1042838 *PGR* и rs4444903 *EGF* (вклад в энтропию признака – 0,90%).



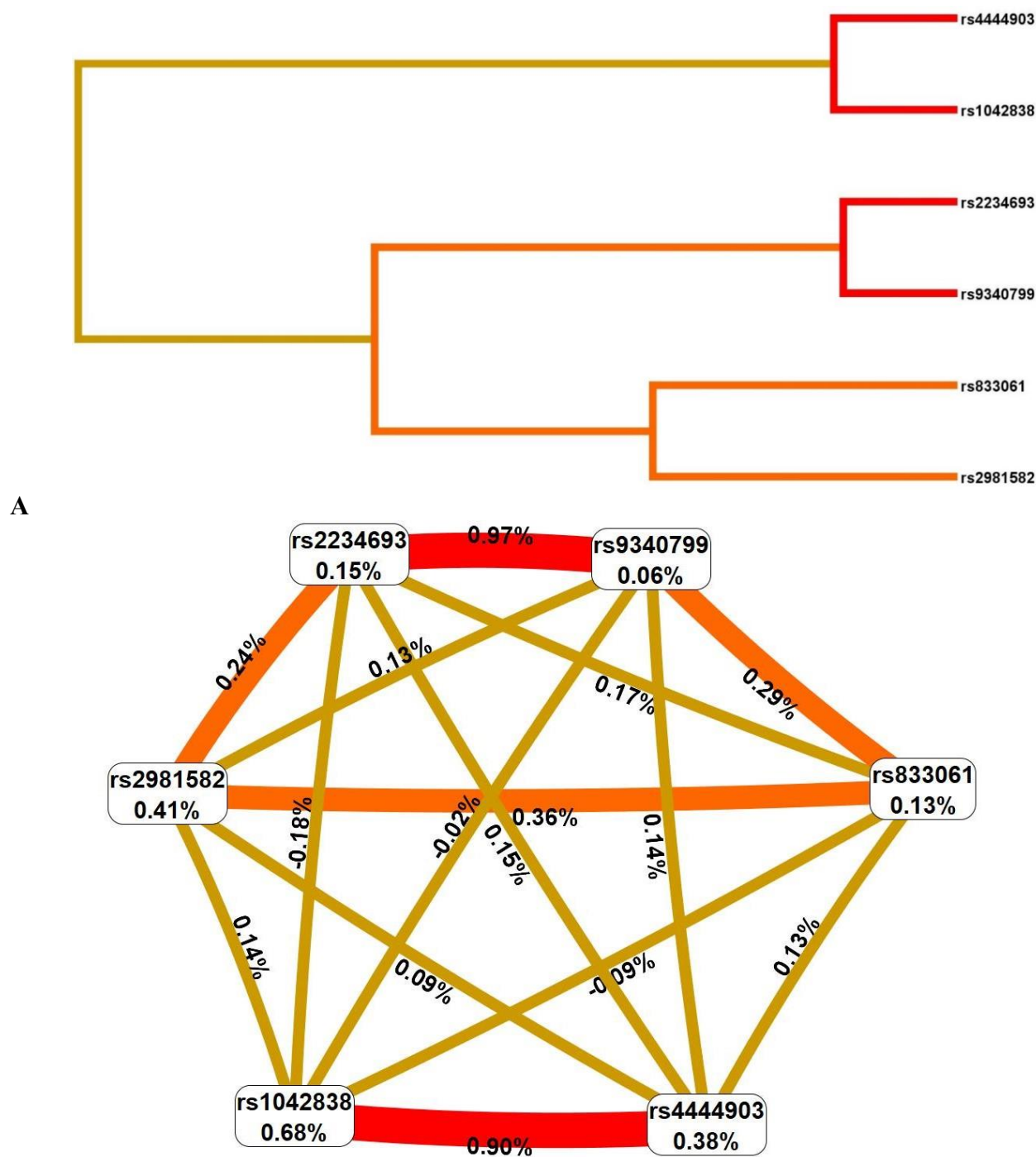
Б

Рис. 1. Дендрограмма (А) и граф (Б) взаимодействий полиморфных локусов, показавших значимые ассоциации с изолированной ЗРП (получены методом MDR)

Примечание: граф характеризует силу и направленность влияния полиморфных локусов и их сочетаний на развитие изолированной ЗРП (% энтропии). При обозначении полиморфизма указан rs SNP. Красный и оранжевый цвет линии указывают на выраженный и умеренный синергизм, коричневый – независимый эффект, зеленый и синий – умеренный и выраженный антагонизм соответственно.

Fig. 1. Dendrogram (A) and graph (B) of interactions of polymorphic loci showing significant associations with isolated PD (obtained by MDR method)

Note: the graph characterises the strength and directionality of the influence of polymorphic loci and their combinations on the development of isolated PRA (% entropy). When denoting polymorphism, rs SNP is indicated. Red and orange line colour indicate pronounced and moderate synergism, brown - independent effect, green and blue – moderate and pronounced antagonism, respectively.



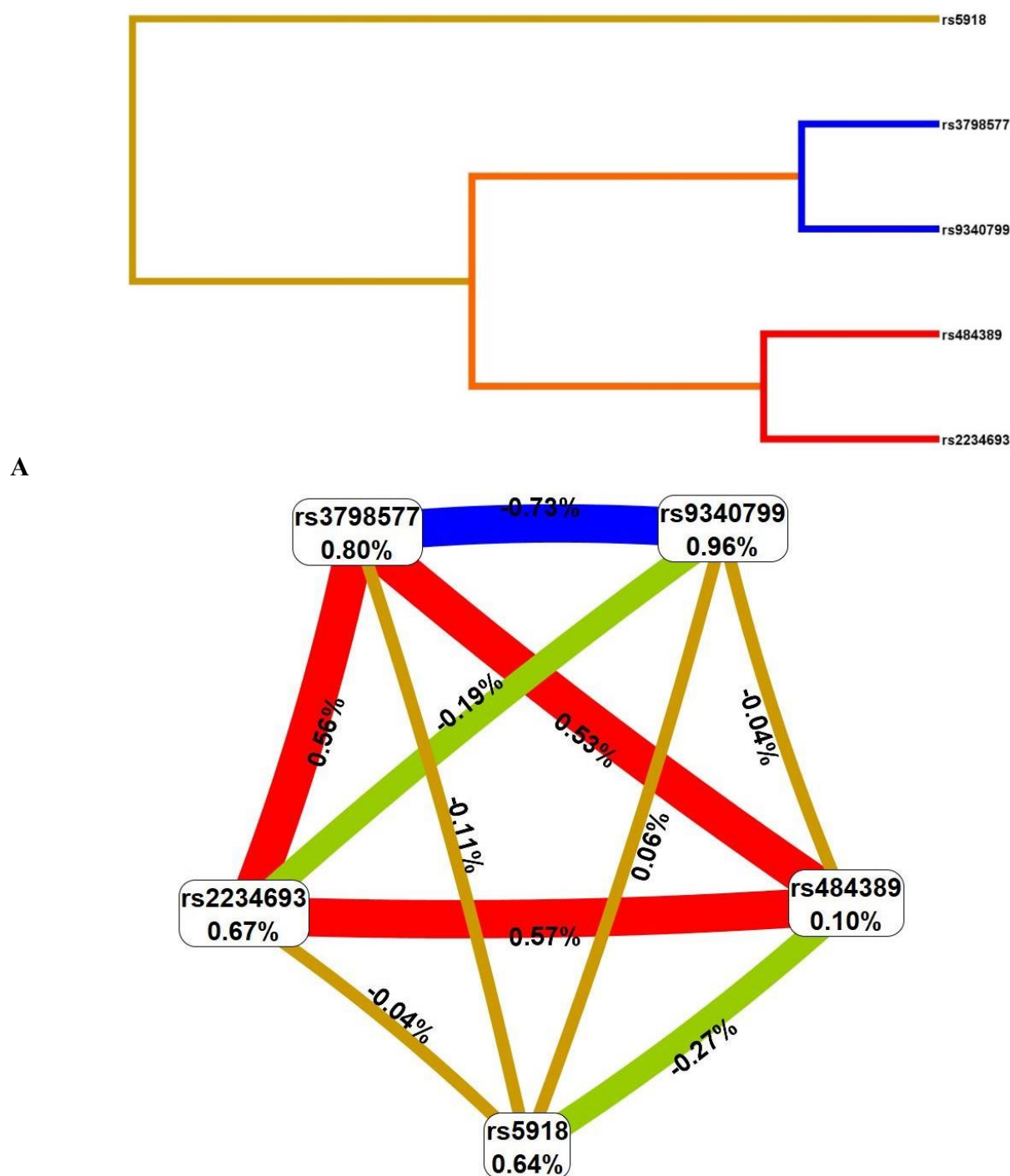
Б

Рис. 2. Дендрограмма (А) и граф (Б) взаимодействий полиморфных локусов, показавших значимые ассоциации с изолированной ПЭ (получены методом MDR)

Примечание: граф характеризует силу и направленность влияния полиморфных локусов и их сочетаний на развитие изолированной ЗРП (% энтропии). При обозначении полиморфизма указан rs SNP. Красный и оранжевый цвет линии указывают на выраженный и умеренный синергизм, коричневый – независимый эффект, зеленый и синий – умеренный и выраженный антагонизм соответственно.

Fig. 2. Dendrogram (A) and graph (B) of interactions of polymorphic loci showing significant associations with isolated PE (obtained by MDR method)

Note: the graph characterises the strength and directionality of the influence of polymorphic loci and their combinations on the development of isolated PRA (% entropy). When denoting polymorphism, rs SNP is indicated. Red and orange line colour indicate pronounced and moderate synergism, brown – independent effect, green and blue – moderate and pronounced antagonism, respectively.



Б

Рис. 3. Дендрограмма (А) и граф (Б) взаимодействий полиморфных локусов, показавших значимые ассоциации с сочетанием ЗРП и ПЭ (получены методом MDR)

Примечание: граф характеризует силу и направленность влияния полиморфных локусов и их сочетаний на развитие изолированной ЗРП (% энтропии). При обозначении полиморфизма указан rs SNP. Красный и оранжевый цвет линии указывают на выраженный и умеренный синергизм, коричневый – независимый эффект, зеленый и синий – умеренный и выраженный антагонизм соответственно.

Fig. 3. Dendrogram (A) and graph (B) of interactions of polymorphic loci showing significant associations with the combination of PD and PE (obtained by MDR method)

Note: the graph characterises the strength and directionality of the influence of polymorphic loci and their combinations on the development of isolated PRA (% entropy). When denoting polymorphism, rs SNP is indicated. Red and orange line colour indicate pronounced and moderate synergism, brown – independent effect, green and blue – moderate and pronounced antagonism, respectively.

Возникновение сочетания ЗПП и ПЭ, согласно материалам данной работы, определяется 5 локусами – rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs3798577 *ESR1*, rs484389 *PGR*, rs5918 *ITGB3* (материалы настоящего исследования и ранее полученные данные [27]) (дендрограмма и граф взаимодействия этих локусов представлены на рисунке 3). Интересно, что взаимодействия между локусами rs9340799 *ESR1* и rs3798577 *ESR1* имеют выраженную антагонистическую направленность (на дендрограмме и графе линии, их соединяющие окрашены в синий цвет) и отличаются наибольшим вкладом в энтропию признака (развитие сочетания ЗПП и ПЭ), который составляет -0,73%. Три полиморфизма - rs2234693 *ESR1*, rs3798577 *ESR1*, rs484389 *PGR*, наиболее значимо взаимодействуют между собой в рамках трех парных взаимодействий синергетической направленности (на графе линии, их соединяющие окрашены в красный цвет): rs2234693 *ESR1* и rs484389 *PGR* (показатель энтропии 0,57%), rs2234693 *ESR1* и rs3798577 *ESR1* (показатель энтропии 0,56%), rs3798577 *ESR1* и rs484389 *PGR* (показатель энтропии 0,53%).

Итак, резюмируя результаты, полученные в данном разделе работы, можно отметить, что в формирование изолированных и сочетанных осложнений беременности вовлечены межлокусные взаимодействия ряда рассматриваемых генов кандидатов. Среди изученных 13 полиморфизмов 5 локусов в составе моделей межгенных взаимодействий определяют подверженность к изолированной ЗПП (rs4444903 *EGF*, rs6214 *IGF1*, rs2234693 *ESR1*, rs484389 *PGR* и rs5985 *F13A1*), несколько иные 5 локусов в рамках межгенных взаимодействий вовлечены в формирование изолированной ПЭ (rs4444903 *EGF*, rs833061 *VEGFA*, rs2981582 *FGFR2*, rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*) и межлокусные взаимодействия 4 полиморфизмов ассоциированы с риском развития сочетания ЗПП и ПЭ (rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs484389 *PGR*, rs5918 *ITGB3*).

Исходя из вышеприведенных данных можно сделать вывод, что, во-первых, общей генетической детерминантой развития изо-

лированных форм ЗПП и ПЭ (в рамках межгенных взаимодействий) является локус rs4444903 *EGF*, общей генетической детерминантой для развития изолированной ЗПП и сочетания ЗПП и ПЭ является локус rs484389 *PGR*, общей генетической детерминантой для возникновения изолированной ПЭ и сочетания ЗПП и ПЭ служит полиморфизм rs9340799 *ESR1*. Весьма важным является тот факт, что полиморфный вариант rs2234693 *ESR1* в рамках межгенных взаимодействий является общим генетическим фактором для возникновения всех трех рассматриваемых форм осложнений беременности – изолированной ЗПП, изолированной ПЭ, сочетания ЗПП и ПЭ.

Во-вторых, парное межлокусное взаимодействие rs9340799 *ESR1*/rs2234693 *ESR1* является общим генетическим фактором риска развития как изолированной ПЭ, так и сочетания ЗПП и ПЭ.

В-третьих, пять установленных в нашей работе различных комбинаций генотипов, имеющих рисковое значение для возникновения рассматриваемых форм осложнений беременности, могут иметь важное практическое значение для выделения среди женщин при прегравидарной подготовке и на ранних сроках беременности группы риска по возникновению осложнений беременности, среди которых наиболее перспективными могут быть три рисковые комбинации генотипов, имеющие наибольший уровень статистической значимости ассоциаций ($p < 0,005$) с осложнениями беременности: ТТ-rs2234693 *ESR1*/хGA-rs6214 *IGF1* – изолированная ЗПП ($\beta = 1,86$, $p = 0,003$); АА-rs9340799 *ESR1*/хТТ-rs2234693 *ESR1* – изолированная ПЭ ($\beta = 2,45$, $p = 0,0009$) и сочетание ПЭ и ЗПП ($\beta = 2,38$, $p = 0,002$).

Согласно полученных нами данных, важную роль в развитии ПЭ имеют полиморфные локусы rs9340799 и rs2234693 гена *ESR1*: комбинация генотипов АА-rs9340799 *ESR1*/хТТ-rs2234693 *ESR1* является значимым фактором риска возникновения как изолированной ПЭ, так и сочетания ПЭ и ЗПП. Анализ регуляторного потенциала 26 SNPs, сильно сцепленных с полиморфными локусами rs2234693 и rs9340799

гена *ESR1* (Табл. 4 и 5), показал, что большинство из них проявляют значимые эпигенетические эффекты. Полиморфизм rs2077647 расположен в экзоне гена *ESR1* и приводит к синонимичной замене в кодируемом белке. Полиморфный локус rs2077647 локализуется в эволюционно консервативном регионе. Наиболее выраженный регуляторный потенциал демонстрируют полиморфные локусы rs2077647, rs62442056, rs9479130 (Табл. 3 и 4). Так, полиморфный локус rs9479130, сцепленный с rs2234693 and rs9340799 гена *ESR1* ($r^2=1,00$ and $r^2=0,61$ соответственно) расположен в области гиперчувствительности к ДНКазе 1 в 24 тканях, регионе двух регуляторных мотивов

ДНК (ZBTB33, AP-1) и регионе связывания с тремя регуляторными белками (TCF12, NRSF, SIN3AK20). Также локус rs2077647 (сцеплен с rs2234693) находится в регионе промоторов в 24 различных тканях, сайтах гиперчувствительности к ДНКазе 1 в 7 тканях, области 4 регуляторных мотивов ДНК (Znf143, RP58, LUN-1, Zfp410), регионе связывания с регуляторным белком HAE2F1. SNP rs62442056 (сцеплен с rs9340799) локализуется в регионе гиперчувствительности к ДНКазе 1 в 29 тканях, регионе пяти регуляторных мотивов ДНК (CEBPB, Foxa, Foxi1, TCF12, HDAC2) и регионе связывания с тремя регуляторными белками (NRSF, TCF12, SIN3AK20).

Таблица 3

Регуляторный потенциал полиморфных локусов, сильно сцепленных ($r^2 \geq 0,6$) с rs2234693 гена *ESR1*

Table 3

Regulatory potential of polymorphic loci strongly linked ($r^2 \geq 0.6$) to rs2234693 of the *ESR1* gene

Позиция сцеплен SNP	r^2	D'	Сцепленный SNP	Консер. регион	Промотор	Энхансер	Гиперчувствительность к ДНКазе	Регуляторные белки	Мотивы ДНК
151807942	0,76	0,91	rs2077647		24 ткани		7 тканей	HAE2F1	4 мотива
151834828	0,77	-0,99	rs3003926						6 мотивов
151834829	0,76	-0,99	rs3020312						BDP1, Maf
151835062	0,85	-0,98	rs827423						6 мотивов
151835593	0,85	-0,98	rs827422				Надпочеч. плода		8 мотивов
151835987	0,84	-0,98	rs827421						
151836746	0,96	0,99	rs6902771						Gm397, Nkx2
151838491	0,98	0,99	rs9383593						Sin3Ak-20
151838765	0,98	0,99	rs3853250						
151839931	1	1	rs9397448						4 мотива
151841092	0,99	1	rs4870056						AFP1, ZEB1
151842200	1	1	rs2234693						6 мотивов
151842246	0,61	1	rs9340799						Ets, Hand1
151843104	1	1	rs7774230			Жировая тк.	Мышцы, кожа		Gfi1b, TATA
151843413	1	1	rs7739085			Жировая тк.			6 мотивов
151845666	0,99	1	rs9322332						6 мотивов
151847321	1	1	rs9479130				24 ткани	NRSF, TCF12, SIN3, AK20	AP-1, ZBTB33
151847839	0,68	0,97	rs11968025						Pou2f2, Pou3f1, STAT
151849112	0,99	0,99	rs3853252						

Таблица 4
Регуляторный потенциал полиморфных локусов, сильно сцепленных ($r^2 \geq 0,6$)
с rs9340799 гена *ESR1*

Table 4
Regulatory potential of polymorphic loci strongly linked ($r^2 \geq 0.6$) to rs9340799
of the *ESR1* gene

Позиция сцеплен SNP	r^2	D'	Сцепленный SNP	Консер. регион	Промотор	Энхансер	Гиперчувствительность к ДНКазе	Регуляторные белки	Мотивы ДНК
151787904	0,72	0,89	rs1285058						KAP1, Pax-4
151788487	0,81	0,91	rs145387702						4 мотива
151809783	0,77	0,97	rs532010		4 ткани		Кожа, яичники		Sox
151818833	0,69	0,85	rs3853249						4 мотива
151834592	0,7	-0,86	rs827424						
151839621	0,94	1	rs3853251						10 мотивов
151839931	0,61	1	rs9397448						4 мотива
151841092	0,61	1	rs4870056						AFP1, ZEB1
151841182	0,94	1	rs9322331						
151842200	0,61	1	rs2234693						6 мотивов
151842246	1	1	rs9340799						Ets, Hand1
151843104	0,61	1	rs7774230			Жировая тк.	Мышцы, кожа		Gfi1b, TATA
151843413	0,61	1	rs7739085			Жировая тк.			6 мотивов
151845666	0,6	0,99	rs9322332						6 мотивов
151846176	0,94	1	rs3936674						4 мотива
151847311	0,94	1	rs62442056				29 тканей	NRSF, SIN3AK20, TCF12	5 мотивов
151847321	0,61	1	rs9479130				24 ткани	NRSF, TCF12, SIN3AK20	AP-1, ZBTB33
151849112	0,6	0,99	rs3853252						
151850763	0,8	0,92	rs4870057				Трофобл., кожа		AP-4, Rad21

С использованием данных проекта Genotype-Tissue Expression (GTEx) установлена связь полиморфизма rs2234693 и

16 SNPs, сильно сцепленных с с полиморфными локусами rs2234693 и rs9340799 гена *ESR1* с уровнем экспрессии гена *ESR1* в щитовидной железе (Табл. 5).

Таблица 5

Связь с экспрессией генов полиморфных локусов, сильно сцепленных ($r^2 \geq 0,6$) с rs2234693 и rs9340799 *ESR1*

Table 5

Correlation with gene expression of polymorphic loci strongly linked ($r^2 \geq 0.6$) to rs2234693 and rs9340799 of *ESR1*

Исследуемый SNP	Сцепленный SNP	r^2	D	Ген	p	β	Орган
rs2234693	rs3003926	0,77	-0,99	<i>ESR1</i>	0,000056	-0,13	Thyroid
rs2234693	rs3020312	0,76	-0,99	<i>ESR1</i>	0,000056	-0,13	Thyroid
rs2234693	rs827423	0,85	-0,98	<i>ESR1</i>	0,000056	-0,13	Thyroid
rs2234693	rs827422	0,85	-0,98	<i>ESR1</i>	0,000056	-0,13	Thyroid
rs2234693	rs827421	0,84	-0,98	<i>ESR1</i>	0,000053	-0,13	Thyroid
rs2234693	rs6902771	0,96	0,99	<i>ESR1</i>	0,000015	0,14	Thyroid
rs2234693	rs9383593	0,98	0,99	<i>ESR1</i>	0,000027	0,13	Thyroid
rs2234693	rs3853250	0,98	0,99	<i>ESR1</i>	0,000027	0,13	Thyroid
rs2234693	rs9397448	1	1	<i>ESR1</i>	0,00003	0,13	Thyroid
rs2234693	rs4870056	0,99	1	<i>ESR1</i>	0,000055	0,13	Thyroid
rs2234693	rs2234693	1	1	<i>ESR1</i>	0,000035	0,13	Thyroid
rs2234693	rs7774230	1	1	<i>ESR1</i>	0,000035	0,13	Thyroid
rs2234693	rs7739085	1	1	<i>ESR1</i>	0,000049	0,13	Thyroid
rs2234693	rs9322332	0,99	1	<i>ESR1</i>	0,000045	0,13	Thyroid
rs2234693	rs9479130	1	1	<i>ESR1</i>	0,000051	0,13	Thyroid
rs2234693	rs11968025	0,68	0,97	<i>ESR1</i>	0,000054	0,13	Thyroid
rs2234693	rs3853252	0,99	0,99	<i>ESR1</i>	0,000073	0,13	Thyroid
rs9340799	rs9397448	0,61	1	<i>ESR1</i>	0,000051	0,23	Thyroid
rs9340799	rs4870056	0,61	1	<i>ESR1</i>	0,000055	0,13	Thyroid
rs9340799	rs2234693	0,61	1	<i>ESR1</i>	0,000035	0,13	Thyroid
rs9340799	rs7774230	0,61	1	<i>ESR1</i>	0,000035	0,13	Thyroid
rs9340799	rs7739085	0,61	1	<i>ESR1</i>	0,000049	0,13	Thyroid
rs9340799	rs9322332	0,6	0,99	<i>ESR1</i>	0,000045	0,13	Thyroid
rs9340799	rs9479130	0,61	1	<i>ESR1</i>	0,000051	0,13	Thyroid
rs9340799	rs3853252	0,6	0,99	<i>ESR1</i>	0,000073	0,13	Thyroid

Общеизвестно, что ген *ESR1* кодирует рецепторы первого типа к эстрогенам, которые, с одной стороны, играют важную роль в потенцировании эффектов эстрогенов в организме, с другой стороны, служат важнейшим регулятором экспрессии множества различных генов (<http://www.genecards.org/>). Следует отметить, что эстрогены играют важную регуляторную роль в развитии и функционировании репродуктивной системы [28]. У мышей и крыс нарушение в функционировании *ESR1* вызывает

бесплодие как у самок, так и у самцов [29]. *ESR1* преимущественно экспрессируется в молочных железах, гипоталамусе, гипофизе, матке и клетках теки яичников [30]. Эстроген является главным регулятором гонадотропного релизинг гормона (ГнРГ). ГнРГ синтезируется в гипоталамусе и влияет на синтез лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов в гипофизе, которые являются ключевыми регуляторами каскада гормональных событий, необходимых для нормального полового созревания и репродуктивной

функции (<http://www.genecards.org/>).

Наряду с этим эстрогены стимулируют активацию рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1R) [30]. IGF1R опосредует эффекты инсулиноподобных факторов роста IGF-1 и IGF-2, тем самым способствуя росту плода и новорожденного, реагируя на материнские, фетальные и плацентарные сигналы, такие как кислород, гормоны и питательные вещества [31]. IGF-1 контролирует рост плода в ответ на доступность питательных веществ, в то время как IGF-2 стимулирует дифференцировку и рост плаценты [32]. Кроме того, IGF-1 и IGF-2 контролируют секрецию гормонов, транспорт субстратов и влияют на рост плода либо непосредственно, влияя на поглощение и транспорт питательных веществ плацентой, либо косвенно, влияя на доступность материнских субстратов [32]. Поглощение глюкозы и аминокислот стимулируется IGF-1, IGF-2 и трофобластами [33]. Как показано в ряде исследований ЗПП у человека может быть связано с хронической гипогликемией плода [34].

Рецепторы эстрогенов находятся и в плаценте. *ESR1* играет важную роль как в стимуляции терминальной дифференцировки моноклеарных клеток трофобласта в синцитиотрофобласт, так и в стимулировании функции плаценты [35]. Исследования, проведенные *in vivo*, показывают, что плацентарные стероидные гормоны могут играть важную роль в управлении изменениями метаболизма глюкозы и чувствительности матери к инсулину во время беременности (играют роль в регуляции гомеостаза глюкозы и инсулина, регуляции аппетита и регуляции липидов) [36].

В работе Molvares et al. сообщается о том, что гомозиготные носители гаплотипа ТА полиморфных локусов rs2234693 и rs9340799 гена *ESR1* имели повышенный риск развития тяжелой преэклампсии [37]. Эти данные полностью соответствуют полученным нами результатам, согласно которым комбинация генотипов AA-rs9340799 *ESR1*xTT-rs2234693 *ESR1*

оказывают рисковое влияние на развития ПЭ как изолированной ($\beta = 2,45$), так и в сочетании с ЗПП ($\beta = 2,38$). В то же время имеются литературные данные, которые отличаются от полученных нами результатов. Так, в мета-анализе, проведенном Zhao et al., показано, что генотип GG полиморфизма rs9340799 гена *ESR1* может быть генетическим фактором риска развития тяжелой преэклампсии [38]. Наличие этих противоречий указывает на необходимость продолжения исследований в области изучения роли полиморфных локусов гена *ESR1* в развитии осложнений беременности с учетом межэтнических и межпопуляционных различий, которые могут быть одной из причин неоднозначности в характере и направленности выявляемых ассоциаций.

Заключение. Риск развития осложнений беременности в значительной степени определяется генетической комбинацией трех полиморфных локусов rs2234693 *ESR1*, rs9340799 *ESR1*, rs6214 *IGF1*. Комбинация генотипов TT-rs2234693 *ESR1*xGA-rs6214 *IGF1* определяет подверженность к формированию изолированной ЗПП ($\beta = 1,86$), а комбинация генотипов AA-rs9340799 *ESR1*xTT-rs2234693 *ESR1* ассоциирована с возникновением изолированной ПЭ ($\beta = 2,45$) и сочетанием ПЭ и ЗПП ($\beta = 2,38$).

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. Сидорова ИС, Унанян АЛ, Никитина НА, и др. Современные возможности прогнозирования и ранней диагностики преэклампсии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2021;21(6):32-43. DOI: <https://doi.org/10.17116/rosakush20212106132>
2. Абрамова МЮ, Чурносков МИ. Современные представления об этиологии, патогенезе и факторах риска преэклампсии. Журнал акушерства и женских болезней. 2021;70(5):105-116. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD77046>
3. Overton E, Tobes D, Lee A. Preeclampsia diagnosis and management. Best Practice and Research in Clinical Anaesthesiology. 2022;36(1):107-121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2022.02.003>
4. Ходжаева ЗС, Ошхунова МС, Муминова КТ, и др. Прогнозирование и ранняя диагностика преэклампсии: научные перспективы и клинические возможности. Акушерство и гинекология. 2022;12:57-65. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.218>
5. Erez O, Romero R, Jung E, et al. Preeclampsia and eclampsia: the conceptual evolution of a syndrome. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2022;226(2S):S786-S803. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.12.001>
6. Roberts JM. Preeclampsia epidemiology(ies) and pathophysiology(ies). Best Practice and Research in Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2024;94:102480. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2024.102480>
7. Martins JG, Biggio JR, Abuhamad A, et al. Society for Maternal-Fetal Medicine Consult Series #52: Diagnosis and management of fetal growth restriction: (Replaces Clinical Guideline Number 3, April 2012). American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2020;223(4):B2-B17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.05.010>
8. Melamed N, Baschat A, Yinon Y, et al. FIGO (international Federation of Gynecology and obstetrics) initiative on fetal growth: best practice advice for screening, diagnosis, and management of fetal growth restriction. International Journal of Gynaecology and Obstetrics. 2021;152(Suppl 1):3-57. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijgo.13522>
9. Окладников СМ, Никитина СЮ, Александрова ГА, и др. редакторы. Здравоохранение в России. 2023: Стат.сб./Росстат. М.: Росстат; 2023.
10. Reshetnikov E, Churnosova M, Reshetnikova Y, et al. Maternal Age at Menarche Genes Determines Fetal Growth Restriction Risk. International Journal of Molecular Sciences. 2024;25(5):2647. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25052647>
11. Churnosov M, Abramova M, Reshetnikov E, et al. Polymorphisms of hypertension susceptibility genes as a risk factors of preeclampsia in the Caucasian population of central Russia. Placenta. 2022;129:51-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2022.09.010>
12. Абрамова МЮ, Чурносков МИ. Генетические исследования преэклампсии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2022;22(6):27-34. DOI: <https://doi.org/10.17116/rosakush20222206127>
13. Gray KJ, Kovacheva VP, Mirzakhani H, et al. Risk of pre-eclampsia in patients with a maternal genetic predisposition to common medical conditions: a case-control study. BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2021;128(1):55-65. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16441>
14. Steinhorsdottir V, McGinnis R, Williams NO, et al. Genetic predisposition to hypertension is associated with preeclampsia in European and Central Asian women. Nature Communications. 2020;11(1):5976. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19733-6>
15. Абрамова МЮ. Генетические маркеры тяжелого течения преэклампсии. Научные результаты биомедицинских исследований. 2022;8(3):305-316. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-3-0-4>
16. Головченко ОВ. Молекулярно-генетические детерминанты преэклампсии. Научные результаты биомедицинских исследований. 2019;5(4):139-149. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-11>
17. Peng C, Hu LP, Bu XF, et al. The genetics and clinical outcomes in 151 cases of fetal growth restriction: A Chinese single-center study. European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology. 2024;298:128-134. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2024.05.004>
18. Peng X, He D, Peng R, et al. Associations between IGFBP1 gene polymorphisms and the risk of preeclampsia and fetal growth restriction. Hypertension Research. 2023;46(9):2070-2084. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41440-023-01309-8>
19. Решетников ЕА. Поиск ассоциаций генов-кандидатов, дифференциально экспрес-

сирующихся в плаценте, с риском развития плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(3):338-349. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-3-0-5>

20. Решетникова ЮН, Пономаренко ИВ, Чурносков ВИ, и др. Генетический вариант rs11568818 матричной металлопротеиназы 7 ассоциирован с весом новорожденного у беременных с задержкой роста плода. Научные результаты биомедицинских исследований. 2024;10(2):222-233. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2024-10-2-0-4>

21. Пономаренко ИВ, Полоников АВ, Чурносков МИ. Ассоциация полиморфизма rs4986938 гена ESR2 с развитием гиперплазии эндометрия. Акушерство и гинекология. 2019;4:66-72. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.4.66-72>

22. Yarosh SL, Kokhtenko EV, Churnosov MI, et al. Joint effect of glutathione S-transferase genotypes and cigarette smoking on idiopathic male infertility. Andrologia. 2015;47(9):980-986. DOI: <https://doi.org/10.1111/and.12367>

23. Пономаренко ИВ. Использование метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2019;5(1):4-21. DOI: <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-1>

24. Головченко ОВ, Пономаренко ИВ, Чурносков МИ. Полиморфизм гена EGF материнского организма, связанный с развитием задержки роста плода. Гинекология. 2021;23(6):554-558. DOI: <https://doi.org/10.26442/20795696.2021.6.201232>

25. Golovchenko O, Abramova M, Ponomarenko I, et al. Functionally significant polymorphisms of ESR1 and PGR and risk of intrauterine growth restriction in population of Central Russia. European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology. 2020;253:52-57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.07.045>

26. Головченко ОВ, Абрамова МЮ, Пономаренко ИВ, и др. Анализ ассоциации полиморфных локусов гена PGR с развитием преэклампсии. Проблемы репродукции. 2022;28(1):29-35. DOI: <https://doi.org/10.17116/repro20222801129>

27. Головченко ОВ, Абрамова МЮ, Пономаренко ИВ, и др. Полиморфные локусы гена ESR1 ассоциированы с риском развития преэклампсии с задержкой роста плода. Акушерство, Гинекология и Репродукция. 2020;14(6):583-591. DOI: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.187>

28. Deroo BJ, Korach KS. Estrogen receptors and human disease. Journal of Clinical Investigation. 2006;116(3):561-570. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI27987>

29. Rumi MAK, Singh P, Roby KF, et al. Defining the Role of Estrogen Receptor β in the Regulation of Female Fertility. Endocrinology. 2017;158(7):2330-2343. DOI: <https://doi.org/10.1210/en.2016-1916>

30. Vasquez YM, DeMayo FJ. Role of nuclear receptors in blastocyst implantation. Seminars in Cell and Developmental Biology. 2013;24(10-12):724-735. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2013.08.004>

31. Zhang S, Regnault TRH, Barker PL, et al. Placental adaptations in growth restriction. Nutrients. 2015;7(1):360-389. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu7010360>

32. Sferruzzi-Perri AN, Owens JA, Pringle KG, et al. The neglected role of insulin-like growth factors in the maternal circulation regulating fetal growth. Journal of Physiology. 2011;589(1):7-20. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.198622>

33. Roos S, Lagerlöf O, Wennergren M, et al. Regulation of amino acid transporters by glucose and growth factors in cultured primary human trophoblast cells is mediated by mTOR signalling. American Journal of Physiology - Cell Physiology. 2009;297(3):723-731. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00191.2009>

34. Devaskar SU, Chu A. Intrauterine Growth Restriction: Hungry for an Answer. Physiology. 2016;31(2):131-146. DOI: <https://doi.org/10.1152/physiol.00033.2015>

35. Довжикова ИВ, Андриевская ИА. Рецепторы эстрогенов (обзор литературы). Часть 2. Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2019;(73):125-133. DOI: <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2019-73-125-133>

36. Napso T, Yong HEJ, Lopez-Tello J, et al. The Role of Placental Hormones in Mediating Maternal Adaptations to Support Pregnancy and Lactation. Frontiers in Physiology. 2018;9:1091. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01091>

37. Molvarec A, Ver A, Fekete A, et al. Association between estrogen receptor alpha (ESR1) gene polymorphisms and severe preeclampsia. *Hypertension Research*. 2007;30:205-211. DOI: <https://doi.org/10.1291/hypres.30.205>

38. Zhao G, Cai Y, Liu J, et al. Association between the estrogen receptor α gene polymorphisms rs2234693 and rs9340799 and severe and mild pre-eclampsia: a meta-analysis. *Bioscience Reports*. 2019;39(2):BSR20181548. DOI: <https://doi.org/10.1042/BSR20181548>

References

1. Sidorova IS, Unanyan AL, Nikitina NA, et al. Modern possibilities of prediction and early diagnosis of preeclampsia. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2021;21(6):32-43. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/rosakush20212106132>

2. Abramova MY, Churnosov MI. Modern concepts of etiology, pathogenesis and risk factors for preeclampsia. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2021;70(5):105-116. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD77046>

3. Overton E, Tobes D, Lee A. Preeclampsia diagnosis and management. *Best Practice and Research in Clinical Anaesthesiology*. 2022;36(1):107-121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2022.02.003>

4. Khodzhaeva ZS, Oshkhunova MS, Muminova KT, et al. Prediction and early diagnosis of preeclampsia: scientific perspectives and clinical opportunities. *Obstetrics and Gynecology*. 2022;12:57-65. Russian. DOI: <http://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.218>

5. Erez O, Romero R, Jung E, et al. Preeclampsia and eclampsia: the conceptual evolution of a syndrome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2022;226(2S):S786-S803. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.12.001>

6. Roberts JM. Preeclampsia epidemiology(ies) and pathophysiology(ies). *Best Practice and Research in Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2024;94:102480. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2024.102480>

7. Martins JG, Biggio JR, Abuhamad A, et al. Society for Maternal-Fetal Medicine Consult Series #52: Diagnosis and management of fetal growth restriction: (Replaces Clinical Guideline Number 3, April 2012). *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2020;223(4):B2-B17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.05.010>

8. Melamed N, Baschat A, Yinon Y, et al. FIGO (international Federation of Gynecology and

obstetrics) initiative on fetal growth: best practice advice for screening, diagnosis, and management of fetal growth restriction. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics*. 2021;152(Suppl 1):3-57. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijgo.13522>

9. Okladnikov SM, Nikitina SY, Aleksandrova GA, et al. editors. *Zdravookhranenie v Rossii*. 2023: Statistical Collection/Rosstat. Moscow: Rosstat; 2023. Russian.

10. Reshetnikov E, Churnosova M, Reshetnikova Y, et al. Maternal Age at Menarche Genes Determines Fetal Growth Restriction Risk. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(5):2647. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25052647>

11. Churnosov M, Abramova M, Reshetnikov E, et al. Polymorphisms of hypertension susceptibility genes as risk factors of preeclampsia in the Caucasian population of central Russia. *Placenta*. 2022;129:51-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2022.09.010>

12. Abramova MYu, Churnosov MI. Genetic studies of pre-eclampsia. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2022;22(6):27-34. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/rosakush20222206127>

13. Gray KJ, Kovacheva VP, Mirzakhani H, et al. Risk of pre-eclampsia in patients with a maternal genetic predisposition to common medical conditions: a case-control study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2021;128(1):55-65. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16441>

14. Steinthorsdottir V, McGinnis R, Williams NO, et al. Genetic predisposition to hypertension is associated with pre-eclampsia in European and Central Asian women. *Nature Communications*. 2020;11(1):5976. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19733-6>

15. Abramova MYu. Genetic markers of severe preeclampsia. *Research Results in Biomedicine*. 2022;8(3):305-316. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-3-0-4>

16. Golovchenko OV. Molecular genetic determinants of pre-eclampsia. *Research Results in Biomedicine*. 2019;5(4):139-149. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-11>

17. Peng C, Hu LP, Bu XF, et al. The genetics and clinical outcomes in 151 cases of fetal growth restriction: A Chinese single-center study. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*. 2024;298:128-134. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2024.05.004>

18. Peng X, He D, Peng R, et al. Associations between IGFBP1 gene polymorphisms and the risk of preeclampsia and fetal growth restriction. *Hypertension Research*. 2023;46(9):2070-2084. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41440-023-01309-8>
19. Reshetnikov EA. Study of associations of candidate genes differentially expressing in the placenta with the development of placental insufficiency with fetal growth restriction. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(3):338-349. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-3-0-5>
20. Reshetnikova YuN, Ponomarenko IV, Churnosov VI, et al. Genetic variant rs11568818 of matrix metalloproteinase MMP7 associated with newborn weight in pregnant women with fetal growth restriction. *Research Results in Biomedicine*. 2024;10(2):222-233. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2024-10-2-0-4>
21. Ponomarenko IV, Polonikov AV, Churnosov MI. Association of ESR2 rs4986938 polymorphism with the development of endometrial hyperplasia. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;4:66-72. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.4.66-72>
22. Yarosh SL, Kokhtenko EV, Churnosov MI, et al. Joint effect of glutathione S-transferase genotypes and cigarette smoking on idiopathic male infertility. *Andrologia*. 2015;47(9):980-986. DOI: <https://doi.org/10.1111/and.12367>
23. Ponomarenko IV. Using the method of Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) and its modifications for analysis of gene-gene and gene-environment interactions in genetic-epidemiological studies (review). *Research Results in Biomedicine*. 2019;5(1):4-21. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-1>
24. Golovchenko OV, Ponomarenko IV, Churnosov MI. Polymorphism of the maternal EGF gene is associated with the fetal growth retardation: a prospective comparative study. *Gynecology*. 2021;23(6):554-558. Russian. DOI: <https://doi.org/10.26442/20795696.2021.6.201232>
25. Golovchenko O, Abramova M, Ponomarenko I, et al. Functionally significant polymorphisms of ESR1 and PGR and risk of intrauterine growth restriction in population of Central Russia. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*. 2020;253:52-57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.07.045>
26. Golovchenko OV, Abramova MYu, Ponomarenko IV, et al. Analysis of associations of polymorphic loci of the PGR gene with the development of pre-eclampsia. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2022;28(1):29-35. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/repro20222801129>
27. Golovchenko OV, Abramova MYu, Ponomarenko IV, et al. Polymorphic loci of the ESR1 gene are associated with the risk of developing preeclampsia with fetal growth retardation. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2020;14(6):583-591. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.187>
28. Deroo BJ, Korach KS. Estrogen receptors and human disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2006;116(3):561-570. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI27987>
29. Rumi MAK, Singh P, Roby KF, et al. Defining the Role of Estrogen Receptor β in the Regulation of Female Fertility. *Endocrinology*. 2017;158(7):2330-2343. DOI: <https://doi.org/10.1210/en.2016-1916>
30. Vasquez YM, DeMayo FJ. Role of nuclear receptors in blastocyst implantation. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2013;24(10-12):724-735. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2013.08.004>
31. Zhang S, Regnault TRH, Barker PL, et al. Placental adaptations in growth restriction. *Nutrients*. 2015;7(1):360-389. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu7010360>
32. Sferruzzi-Perri AN, Owens JA, Pringle KG, et al. The neglected role of insulin-like growth factors in the maternal circulation regulating fetal growth. *Journal of Physiology*. 2011;589(1):7-20. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.198622>
33. Roos S, Lagerlöf O, Wennergren M, et al. Regulation of amino acid transporters by glucose and growth factors in cultured primary human trophoblast cells is mediated by mtor signalling. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*. 2009;297(3):723-731. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00191.2009>
34. Devaskar SU, Chu A. Intrauterine Growth Restriction: Hungry for an Answer. *Physiology*. 2016;31(2):131-146. DOI: <https://doi.org/10.1152/physiol.00033.2015>
35. Dovzhikova IV, Andrievskaya IV. Estrogen receptors (review). Part 2. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2019;(73):125-133. Russian. DOI: <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2019-73-125-133>
36. Napso T, Yong HEJ, Lopez-Tello J, et al. The Role of Placental Hormones in Mediating

Maternal Adaptations to Support Pregnancy and Lactation. *Frontiers in Physiology*. 2018;9:1091. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01091>

37. Molvarec A, Ver A, Fekete A, et al. Association between estrogen receptor alpha (ESR1) gene polymorphisms and severe preeclampsia. *Hypertension Research*. 2007;30:205-211. DOI: <https://doi.org/10.1291/hypres.30.205>

38. Zhao G, Cai Y, Liu J, et al. Association between the estrogen receptor α gene polymorphisms rs2234693 and rs9340799 and severe and mild pre-eclampsia: a meta-analysis. *Bioscience Reports*. 2019;39(2):BSR20181548. DOI: <https://doi.org/10.1042/BSR20181548>

Статья поступила в редакцию 25 мая 2024 г.
Поступила после доработки 30 августа 2024 г.
Принята к печати 20 сентября 2024 г.

Received 25 May 2024
Revised 30 August 2024
Accepted 20 September 2024

Информация об авторе

Олег Васильевич Головченко, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: gol.doc@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8473-2601>.

Information about the author

Oleg V. Golovchenko, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: gol.doc@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8473-2601>.

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ PHARMACOLOGY



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-5

УДК 615.2

Study on biological activities of herbs' decoction combining *Scutellaria barbata*, *Hedyotis diffusa* and *Ehretia asperula*

Hang N. Thi , Tai P. Anh , Dang T.D. Khanh , Tran B.N. Huyen ,
Duy D.N. Anh , Hien N. Thanh

Ho Chi Minh City University of Education,
280 An Duong Vuong St., Ward 4, District 5, Ho Chi Minh City, 30308, Vietnam
Corresponding author: Tai P. Anh (taiphung43@gmail.com)

Abstract

Background: Cancer is a leading cause of death worldwide. Nowadays, cancer is often treated with different methods, such as surgery, radiation therapy, and chemotherapy. However, these methods have lots of side effects for patients, so natural products are often combined with them to diminish those side effects. According to oriental medicine, there are many folk remedies to support cancer treatment. Each different type of cancer has corresponding remedies. In particular, to support the liver cancer treatment, some medicinal herbs were used, such as *Scutellaria barbata*, *Hedyotis diffusa*, *Ehretia asperula*. **The aim of the study:** Determining the biological activities of herbal decoctions combining *Scutellaria barbata*, *Hedyotis diffusa*, and *Ehretia asperula*, which were tested on two different weight ratio recipes (denoted R1 and R2). **Materials and methods:** Mixing *Scutellaria barbata*, *Hedyotis diffusa*, and *Ehretia asperula* into dry mixtures and then collecting the decoction. Testing antioxidant activity by the reducing power assay and the DPPH free radical scavenging assay. Evaluating antibacterial activity by the agar well diffusion assay and cytotoxic ability by the sulforhodamine B assay. **Results:** R1 decoction, which had a higher ratio of *E. asperula*, showed greater antioxidant, antibacterial, and cytotoxic capacity than R2 decoction. In the reducing power assay, R1 decoction's optical density value was 2.80, while the other was 2.23 at 0.7% concentration. In the DPPH free radical scavenging assay, the EC₅₀ values of R1 and R2 decoctions were 0.022% and 0.035%, respectively. Both R1 and R2 decoctions had antimicrobial activities against *Bacillus subtilis* at 100% concentration, as shown by the diameters of inhibition growth zones of 11.33 mm and 7.40 mm, respectively. In the Sulforhodamine B assay, R1 decoction's IC₅₀ was 0.47%, and R2 decoction's IC₅₀ was 0.66%. **Conclusion:** In the same condition, R1 decoction had better tested biological activities than R2 decoction.

Keywords: DPPH free radical scavenging; reducing power; cytotoxicity

For citation: Thi HN, Anh TP, Khanh DTD, et al. Study on biological activities of herbs' decoction combining *Scutellaria barbata*, *Hedyotis diffusa* and *Ehretia asperula* Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):553-562. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-5

Introduction. Nowadays, natural products are widely used in disease treatments all over the world for various reasons, such as solving side effects in chemotherapy, lowering medical service fees, and so on. Vietnam has had extremely rich sources of medicinal herbs for a long time. These herbs have been mixed into various remedies to cure diseases such as diabetes, diarrhea, and so on, especially cancer. This shows the potential of herbs in the pharmaceutical industry. *S. barbata* has been proven to have antioxidant capacity [1], anti-inflammatory activity [2], and cytotoxicity in four different cell lines [3]. Similarly, *H. diffusa* has also been shown to have antioxidant and hepatoprotective capacity against H₂O₂ toxicity [4], cytotoxicity on six different cell lines [5], and its ability to enhance the activity of CIK cells – natural anti-cancer cells [6]. In 2020, Chinese scientists demonstrated the ability of the combination of *S. barbata* and *H. diffusa* to inhibit the proliferation and migration of tumor cells [7]. *E. asperula* has received much attention from domestic researchers. Rosmarinic acid, an acid with antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, and anti-tumor capacities, has been extracted from this herb [8]. In addition, its stems also showed cytotoxicity on three test cell lines [9], and its leaves demonstrated cytotoxicity on three cell lines and antioxidant capacity [10]. The potency of oriental remedies comes not only from the active ingredients of each herb but also from their effects when combined with other herbs. For example, to treat cancer, a remedy combines a host herb that has cancer cytotoxic ability with an increasing immunity or antioxidant herb. In this study, *S. barbata*, *H. diffusa*, and *E. asperula* were mixed into remedies, and then their biological activities were determined. The results provide the basic data for later clinical trials.

Materials and methods

Decoction preparation.

Herbs were purchased at the Research Center for planting and processing medicinal plants, Saigon Medicinal Plants, 35/21B5 Tran Dinh Xu, District 1, Ho Chi Minh City. The decoctions were mixed based on two recipes with different weight ratios. The ratios of *S.*

barbata : *H. diffusa* : *E. asperula* were 2 : 2 : 5 (R1) and 2 : 3 : 4 (R2), respectively. 9 g of each recipe was cut into small pieces, then added to 500 mL of distilled water and boiled for 3 hours at 70-80 °C. This primary decoction was centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes, after which sediment was removed. Then, the decoction was boiled down at 50-60 °C until its volume reached 9 mL. The final concentration was 100%. It was diluted to various concentrations to conduct the biological activity assays.

Reducing power assay.

The principle of this assay is based on the antioxidants' capacity for reducing potassium hexacyanoferrate (III) to potassium hexacyanoferrate (II). The reaction of ferric chloride and potassium hexacyanoferrate (II) forms a colored complex. It was measured at 700 nm. The higher measured optical density value shows better antioxidant activity. The procedure was carried out according to the report by Oyaizu [11] and modified [12].

2.5 mL of phosphate buffer and 2.5 mL of potassium ferricyanide (1% w/v) were added to 1 mL of various concentrations of the decoction. This mixture was kept at 50 °C in a water bath for 20 minutes. Then, 2.5 mL of trichloroacetic acid (TCA) (10% w/v) was added and centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes if necessary. 2.5 mL of the upper layer of solution was mixed with 2.5 mL of distilled water and 0.5 mL of ferric chloride solution (0.1% w/v). The optical density value was measured at 700 nm. The higher the optical density (OD) value of the mixture, the higher the decoction's reducing power.

DPPH free radical scavenging assay.

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) is a stable free radical that shows maximum absorbance at 517 nm. The antioxidant activity of the decoction was determined by free radical scavenging capacity following the standard protocol of Brand-Williams [13] with some modifications [14].

5 mL of DPPH methanol solution (0.08 mM) was added to 1 mL of various concentrations of the decoction and kept in the dark for 30 minutes. Then, the absorbance was measured at 517 nm. The free radical scavenging capacity (EC%) was calculated by the following

equation: $EC\% = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})/A_{\text{control}} \times 100\%$. A_{control} : absorbance value of DPPH solution with distilled water; A_{sample} : absorbance value of DPPH solution with decoction. Finally, the linear correlation equation was built, and the EC_{50} value was determined. The lower the EC_{50} value, the higher the scavenging capacity.

Agar well diffusion assay.

Escherichia coli and *Bacillus subtilis* were supplied by the Microbiology and Biochemistry Laboratory, Biology Department, Ho Chi Minh City University of Education.

The antimicrobial activity of the decoction was determined following the standard protocol of Hadacek [15] with modifications [16]. The agar plate surface was inoculated by spreading 100 μL of microbial inoculum ($4\text{--}5 \times 10^8$ CFU/mL) over the entire agar surface. A 6 mm diameter hole was aseptically punched with a sterile cork borer and filled with 100 μL of various concentrations of the decoction. After 4 hours of keeping in a cool refrigerator compartment, the plates were incubated at 37 $^{\circ}\text{C}$ for 24 hours. Finally, the diameters of the growth inhibition zones were measured.

Sulforhodamine B (SRB) assay.

The principle of this method is based on the property of Sulforhodamine B (SRB) to bind cellular proteins under mild acidic conditions. Thus, colorimetric evaluation provides an estimate of total protein mass, which is related to the number of survival cells. The procedure was carried out according to the report of Monks [17] with some modifications [18].

190 μL of cell cultures were incubated with 10 μL of various concentrations of the decoction in 10% dimethylsulfoxide (DMSO) for 3 days on 96-well plates. In contrast, 190 μL of cell cultures were incubated with 10 μL of H_2O , DMSO, or medium as a negative control. Cells were fixed in 10% TCA for 30 minutes, then stained for 1 hour with SRB at 37 $^{\circ}\text{C}$. Then, the plates were washed three times with 5% acetic acid and dried at room temperature. Finally, the pellets were solubilized with 10 mM Tris base and shaken for 10 minutes. The

absorbance was measured at 490 nm. The cytotoxic capacity (IC%) was calculated by the following equation: $IC\% = 100\% - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})/(A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}) \times 100\%$. A_{control} : absorbance value of solution containing cells and medium. A_{sample} : absorbance value of solution containing cells and sample. A_{blank} : absorbance value of the solution containing only culture medium. Then, the correlation equation was built, and the IC_{50} was determined. The lower the IC_{50} , the higher the cytotoxic capacity.

Statistical analysis. The data of the study were analyzed in the GraphPad Prism 9 statistical program. The values were presented as means $\pm$ SD. The correlation equation was determined by the equation with a p-value < 0.05 .

Results

Result of antioxidant activity.

In this study, the antioxidant abilities of both R1 and R2 decoctions were determined through reducing power and DPPH free radical scavenging assays. Based on the measured optical density value of the samples, the ferrous ion reducing capacity of herbal decoction at 0.1% concentration was compared in Fig. 1. The absorbance of EA decoction at 700 nm (0.581 ± 0.039) was 3.2 times that of SB decoction (0.180 ± 0.009) as well as the positive control (0.180 ± 0.003), and 6 times that of HD decoction (0.096 ± 0.004). The ferrous ion reducing capacity of R1 and R2 decoctions increases with increasing concentration ($p < 0.04$) (Fig. 2). The optical density value of R1 decoction is always higher than that of R2 decoction, about 2 times higher, from 0.01% to 0.1% concentration. When the concentrations of R1 and R2 range from 0.5% to 0.7%, the OD value of R1 is 20% higher than that of R2. The positive control (ascorbic acid) regression equation is: $y = 0.0123x - 0.0001$ ($R^2 = 0.998$). At 0.7% concentration, the capacities of R1 and R2 decoctions are equivalent to 226.024 $\mu\text{g/mL}$ and 182.772 $\mu\text{g/mL}$ ascorbic acid, respectively. So R1 had a higher capacity in reducing power assay.

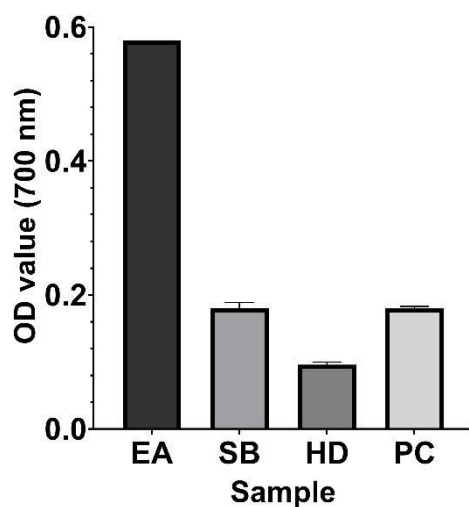


Fig. 1. Ferrous ion reducing power of herbal decoctions at 0.1% concentration

Note: *Ehretia asperula* decoction (EA); *Scutellaria barbata* decoction (SB); *Hedyotis diffusa* decoction (HD); positive control (PC) – 16 $\mu\text{g/mL}$ ascorbic acid

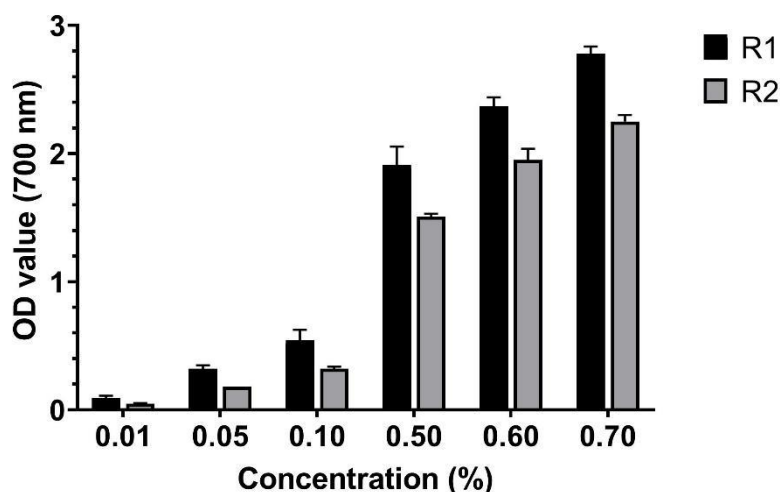


Fig. 2. Ferrous ion reducing power of R1 and R2 decoctions

Note: R1: recipe 1 decoction; R2: recipe 2 decoction

At 0.1% concentration, the DPPH free radical scavenging capacity of EA, SB, HD decoctions, and positive control was $88.02 \pm 1.366\%$, $49.52 \pm 1.049\%$, $11.27 \pm 0.368\%$, and $48.22 \pm 0.303\%$, respectively (Fig. 3). The correlation equations' graphs of herbal decoctions were described in Fig. 4. The slope of R1 decoction's graph is higher than that of R2 decoction.

From the correlation equations ($p < 0.0001$), the EC_{50} values of EA, SB, HD, R1, and R2 decoctions were calculated (Table 1). The correlation equation and EC_{50} value of the positive control (ascorbic acid) were estimated as $y = 3.1147x + 0.1909$ ($R^2 = 0.998$) and 16 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

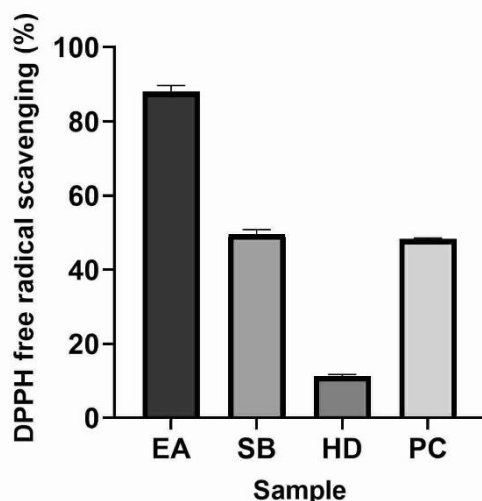


Fig. 3. Percentage of DPPH free radical scavenging of herbal decoctions at 0.1% concentration
Note: *Ehretia asperula* decoction (EA); *Scutellaria barbata* decoction (SB); *Hedyotis diffusa* decoction (HD); positive control (PC) – 16 µg/mL ascorbic acid

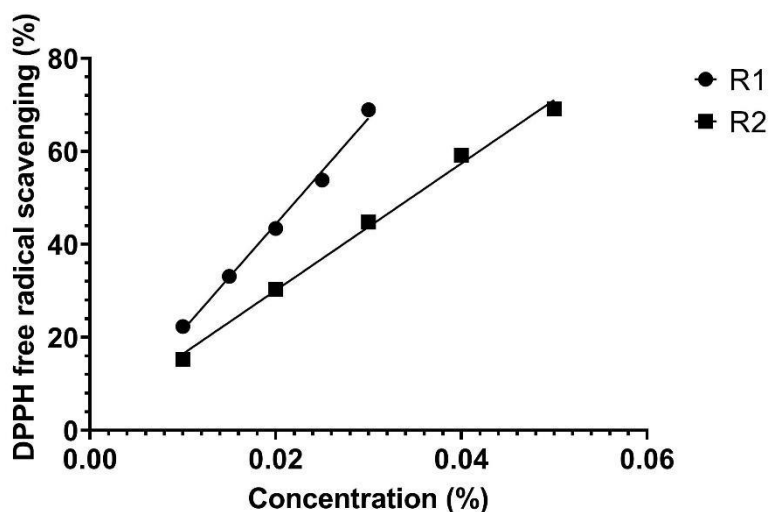


Fig. 4. Percentage of DPPH free radical scavenging of R1 and R2 decoctions
Note: recipe 1 decoction (R1); recipe 2 decoction (R2)

Table 1

Regression equations, R-squared, and EC₅₀ of decoctions in DPPH assay

Decoction	Regression equations	R-squared	EC ₅₀
EA	$Y = 3210 \cdot X + 9.823$	0.923	0,013%
SB	$Y = 460.1 \cdot X + 2.931$	0.984	0.102%
HD	$Y = 53.78 \cdot X + 25.38$	0.984	0.458%
R1	$Y = 2280 \cdot X - 1.270$	0.985	0.022%
R2	$Y = 1365 \cdot X + 2.775$	0.991	0.035%

Note: *Ehretia asperula* decoction (EA); *Scutellaria barbata* decoction (SB); *Hedyotis diffusa* decoction (HD); recipe 1 decoction (R1); recipe 2 decoction (R2)

Result of antibacterial activity.

Both recipes showed antibacterial capacity against *B. subtilis* at 100% concentration,

but incapacity against *E. coli* (Table 2). R1 decoction has a larger inhibition zone when compared to R2 decoction.

Table 2

Inhibition growth zones (mm) of R1 and R2 decoctions

Bacteria	Recipe 1			Recipe 2		
	1%	10%	100%	1%	10%	100%
<i>Escherichia coli</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	–	–	11.33 ± 1.76	–	–	7.40 ± 0.92

Result of cytotoxic activity.

The cytotoxic activity of both recipes decoctions at various concentrations was demonstrated through an SRB assay on a Hep-G2 cell line (Fig. 5). The correlation equation was

built, and the IC₅₀ values of R1 and R2 decoctions were calculated. The results were 0.47% and 0.66%, respectively (Table 3). The presented data show that the cytotoxic capacity of the R1 decoction was stronger than the other.

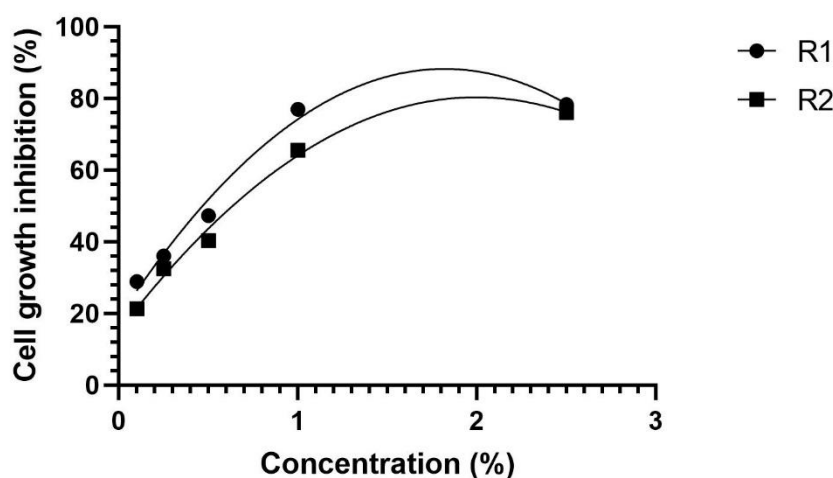


Fig. 5. Percentage of cell growth inhibition of R1 and R2 decoctions

Note: R1: recipe 1 decoction; R2: recipe 2 decoction

Table 3

Regression equations, R-squared, and IC₅₀ of decoctions in SRB assay

Decoction	Regression equations	R-squared	IC ₅₀
R1	$Y = 18.89 + 76.25 \cdot X - 20.96 \cdot X^2$	0.973	0.470%
R2	$Y = 15.02 + 65.44 \cdot X - 16.40 \cdot X^2$	0.958	0.661%

Note: R1: recipe 1 decoction; R2: recipe 2 decoction

Moreover, the morphological changes of HepG2 cells were illustrated in Fig. 7. HepG2 cells have an epithelial-like morphology. In negative controls, the cells that were treated with medium or H₂O (Fig. 6a and b), after 3 days, the growth extended outward from the adherent cell colonies. While in Fig. 6c and d, cells attached in small patches of cells or single cells, there were many round cells floating. In Fig. 7e, the cell colonies were smaller than in Fig. 7a and b, which meant the density of cells decreased.

Based on the morphology, the density of cells in R1 and R2 was lower than the positive control because in R1 and R2 there were many round cells floating in the medium, they were dead cells, and the colonies attached to the well surface were smaller than the positive control. While in positive control (0.07 µg/mL camptothecin), the cells growth extended wider than R1 and R2, which were alive cells. In suspension in the medium, there were little round cells floating. In conclusion, at 1% concentration, R1 and R2 had better inhibition capacities than the positive control.

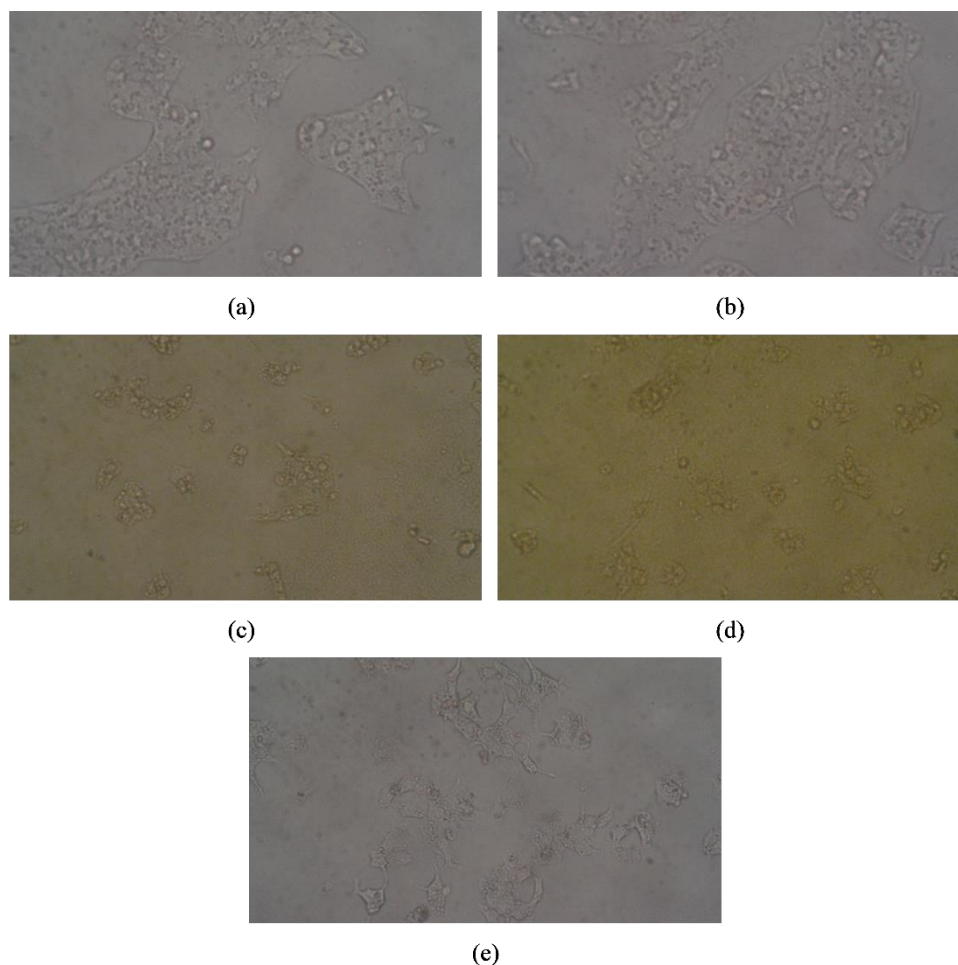


Fig. 6. HepG2 cells incubated with samples

Note: (a) no samples; (b) H₂O 5%; (c) 1% R1 decoction; (d) 1% R2 decoction; (e) 0.07 µg/mL camptothecin

Discussion. The antioxidant capacity of R1 and R2 decoctions was proven through ferrous ion reducing power and DPPH free radical scavenging capacity due to the antioxidant activity of each herb. In fact, *S. barbata* has been proven to contain polysaccharides, and these components have antioxidant capacity through the total antioxidant activity test and the 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) free radical scavenging assay. From the concentrations of 0.24 to 0.48 mg/mL, it had similar effects as the positive control in the total antioxidant activity test. In the ABTS assay, its effects increased and reached the positive control's value at a concentration of 1.2 mg/mL [1]. In 2015, Xin Gao et al. demonstrated *H. diffusa* water extract's antioxidant capacity by DPPH assay with a calculated EC₅₀ value of 0.15 mg/mL [4]. *E. as-*

perula total extract (ethanol 90%) and ethyl acetate extract's antioxidant activity was determined through the DPPH free radical scavenging assay with EC₅₀ values of 48.5 µg/mL and 46.9 µg/mL respectively [9]. The R1 and R2 decoction's EC₅₀ values in the DPPH assay and OD values at 0.1% concentration in the reducing power assay were compared to the determined component herbs' values in the same assay and condition (Fig. 1 and Table 1). From these data, it could be concluded that the antioxidant capacity was ranked in ascending order: *H. diffusa*, *S. barbata*, R2, R1, and *E. asperula*. This could be due to the ratio of EA in these decoctions: R1 decoction (the ratio of SA:HD:EA was 2:2:5, w/w/w) and R2 decoction (the ratio of SA:HD:EA was 2:3:4, w/w/w). According to the oriental medicine formulation, *E. asperula* can be considered the main herb in this remedy, while *H. diffusa* and

S. barbata can be considered adjuvant herbs with side functions.

In the antibacterial activity test, in the same condition, R1 decoction showed better antibacterial capacity than R2 decoction against *B. subtilis* (11.33 mm and 7.40 mm, respectively). *B. subtilis* grows in the digestive tract of humans and many animals, especially ruminants. It's beneficial to humans, so they are also called probiotic bacteria [19]. Which means this decoction is safe for users' digestive tracts if they use it in moderation; if not, some unexpected digestive problems may appear. According to the formulation of oriental medicine, the remedy needs one or more additional herbs in the recipe to support the digestive tract.

In comparison between R1 and R2 decoction's HepG2 cytotoxicity activity, R1 decoction has an IC₅₀ value lower than R2 decoction (0.47% < 0.66%). This means that the cytotoxic capacity of R1 decoction on HepG2 cells was better than that of R2. This can be explained by the higher ratio of *E. asperula* in recipe 1. *E. asperula* was demonstrated to have strong cytotoxicity capacity on HepG2 cells, with an IC₅₀ value of n-hexane extract of 28.30 µg/mL through the SRB assay [9]. The concentration of *H. diffusa* inhibiting 50% cell growth (IC₅₀) was estimated to be 4.62 mg/mL. This led to the R2 decoction (which has a higher rate of HD in the recipe) not being as effective as R1. However, the water extract of this herb was proven to have the capacity to enhance the antitumor activities of cytokine-induced killer cells (natural anti-cancer cells) [6] as well as normal liver cells protection ability [4]. These are reasons to consider *H. diffusa* as an adjuvant herb.

There is a close relationship between oxidative stress and liver cancer. When free radical content increases, cancer can form [20]. This remedy has strong free radical scavenging activity, so it can be used as a cancer prevention remedy. In addition, the ability to cause cytotoxicity in liver cancer cells was also strong. Thus, the remedy in this study can be used as a preventive, curable liver cancer treatment. Moreover, further studies need to be car-

ried out to demonstrate the molecular mechanism of hepatocellular cytotoxicity as well as its non-toxicity on normal cells to be able to apply it in medicine.

Conclusion. Based on the data and results obtained above, the remedy decoction combining *Scutellaria barbata*, *Hedyotis diffusa*, and *Ehretia asperula* (two different recipes in weight ratio), in which *E. asperula* accounts for the most proportion, showed outstanding biological activities such as antioxidant activity, cytotoxicity activity against HepG2, and antibacterial activity against *B. subtilis*. The R1 decoction (the ratio of SA:HD:EA was 2:2:5, w/w/w) has better biological activities than the R2 decoction (the ratio of SA:HD:EA was 2:3:4, w/w/w).

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Gao JY, Yang X, Liu P, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Scutellaria barbata* and determination of their anticancer and antioxidant activities. International Journal of Pharmacology. 2016;12(7):754-759. DOI: <https://doi.org/10.3923/ijp.2016.754.759>
2. Liu HL, Kao TH, Shiao CY, et al. Functional components in *Scutellaria barbata* D. Don with anti-inflammatory activity on RAW 264.7 cells. Journal of Food and Drug Analysis. 2017;26(1):31-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.022>
3. Wang M, Ma C, Chen Y, et al. Cytotoxic neo-clerodane diterpenoids from *Scutellaria barbata* D. Don. Chemistry and Biodiversity. 2019;16(2):e1800499. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800499>
4. Gao X, Li C, Tang YL, et al. Effect of *Hedyotis diffusa* water extract on protecting human hepatocyte cells (LO₂) from H₂O₂ - induced cytotoxicity. Pharmaceutical Biology. 2015;54(7):1148-1155. DOI: <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1056310>

5. Wang C, Zhou X, Wang Y, et al. The antitumor constituents from *Hedyotis diffusa* Willd. *Molecules*. 2017;22(12):2101. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22122101>
 6. Ma C, Wei Y, Liu Q, et al. Polysaccharides from *Hedyotis diffusa* enhance the antitumor activities of cytokine-induced killer cells. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2019;117:109167. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109167>
 7. Ma TT, Zhang GL, Dai CF, et al. *Scutellaria barbata* and *Hedyotis diffusa* herb pair for breast cancer treatment: Potential mechanism based on network pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;259:112929. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112929>
 8. Ly NT. Separation process of rosmarinic acid and their derivatives from *Celestrus hindsii* Benth leaves. *Vietnam Journal of Science and Technology*. 2018;54(2C):380-387. DOI: <https://doi.org/10.15625/2525-2518/54/2C/11865>
 9. Nguyet VT, Dat NT, Ha TTH, et al. Evaluating cytotoxic effect of the extracted compounds from *Ehretia asperula* Zoll. & Mor. stem on several cancer cell lines. *Academia Journal of Biology*. 2018;40(2):145-152. DOI: <https://doi.org/10.15625/0866-7160/v40n2.12955>
 10. Bui TTD, Vu MH, Bui TT. Cytotoxicity and antioxidant effects of *Celastrus hindsii* Benth. leaf extract. *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*. 2020;36(1):39-45. DOI: <https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4203>
 11. Oyaizu M. Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*. 1986;44(6):307-315. DOI: <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
 12. Zhou J, Yang Q, Zhu X, et al. Antioxidant activities of *Clerodendrum cyrtophyllum* Turcz leaf extracts and their major components. *PLoS ONE*. 2020;15(6):e0234435. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234435>
 13. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*. 1995;28(1):25-30. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
 14. Adjimani JP, Asare P. Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. *Toxicology Reports*. 2015;2:721-728. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.04.005>
 15. Hadacek F, Greger H. Testing of anti-fungal natural products: Methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochemical Analysis*. 2000;11(3):137-147. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1565\(200005/06\)11:3<137::AID-PCA514>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1565(200005/06)11:3<137::AID-PCA514>3.0.CO;2-I)
 16. Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016;6(2):71-79. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
 17. Monks A, Scudiero D, Skehan P, et al. Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines. *Journal of the National Cancer Institute*. 1991;83(11):757-766. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/83.11.757>
 18. Nguyen VT, Vu KT, Nguyen XN, et al. Oleanane-type saponins from *Glochidion hirsutum* and their cytotoxic activities. *Chemistry and Biodiversity*. 2017;14(5):e1600445. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600445>
 19. Nguyen LD, Nguyen DQ, Pham VT. *Microbiology*. Ha Noi: Education Publisher; 2012. Vietnamese.
 20. Wang Z, Li Z, Ye Y, Xie L, Li W. Oxidative stress and liver cancer: Etiologi and therapeutic targets. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016:7891574. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/7891574>
- Received 3 July 2023
Revised 13 September 2023
Accepted 19 October 2023
- Information about the authors**
Hang N. Thi, MSc, Laboratory Manager of the Genetics and Evolution, Biology Department, Ho Chi Minh City University of Education, Ho Chi Minh City, Vietnam, E-mail: hangnt@hcmue.edu.vn, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3334-3291>.
Tai P. Anh, Student at the Laboratory of Genetics and Evolution, Biology Department, Ho Chi Minh City University of Education, Ho Chi Minh City, Vietnam, E-mail: 4301301048@student.hcmue.edu.vn, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6254-1537>.
Dang T.D. Khanh, Student at the Laboratory of Genetics and Evolution, Biology Department, Ho Chi Minh City University of Education, Ho Chi Minh City, Vietnam, E-mail: 4501301007@hcmue.edu.vn, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-2530-3710>.
Tran B.N. Huyen, Student at the Laboratory of Genetics and Evolution, Biology Department, Ho

Chi Minh City University of Education, Ho Chi Minh City, Vietnam, E-mail: 4501301058@hcmue.edu.vn, ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-1353-9906>.

Duy D.N. Anh, Student at the Laboratory of Genetics and Evolution, Biology Department, Ho Chi Minh city University of Education, Ho Chi Minh City, Vietnam, E-mail:

4301301010@student.hcmue.edu.vn, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3809-0115>.

Hien N. Thanh, Student at the Laboratory of Genetics and Evolution, Biology Department, Ho Chi Minh City University of Education, Ho Chi Minh City, Vietnam, E-mail: 4301301014@student.hcmue.edu.vn, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2695-8922>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-6

УДК 616.348-002.44-085.243-092.9

Влияние даларгина на содержание матричных металлопротеиназ и тканевого ингибитора металлопротеиназ в толстом кишечнике мышей с экспериментальным язвенным колитом

А.Ю. Ляшев , Г.С. Маль , Е.Б. Артющкова , М.А. Баланина

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

Резюме

Актуальность: Язвенный колит – хроническое, мультифакториальное заболевание, развитие которого определяется нарушениями микробиоты толстого кишечника, неправильным питанием, неадекватным иммунным ответом на патогенную и комменсальную микрофлору на фоне генетической предрасположенности, имеющее важное социальное значение. Показано повышение содержания матричных металлопротеиназ в плазме и ткани ободочной кишки при язвенном колите. Важное значение в развитии воспаления в толстом кишечнике имеют матричные металлопротеиназы-2, 9 и тканевой ингибитор металлопротеиназ-2. Существующие методы лечения язвенного колита недостаточно эффективны. Даларгин обладает уникальной совокупностью свойств, что делает перспективным его применение при лечении язвенного колита. **Цель исследования:** Изучение влияния даларгина на концентрацию матричной металлопротеиназы-2, матричной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора металлопротеиназ-2 в медиальном отделе ободочной кишки мышей с экспериментальным язвенным колитом. **Материалы и методы:** Язвенный колит у мышей Balb/C моделировали заменой питьевой воды 5% раствором декстрана сульфата натрия в кипяченой воде на 5 суток. На 5, 7 и 28 сутки эксперимента в гомогенате медиального отдела ободочной кишки определяли содержание матричных металлопротеиназ-2 и 9, тканевого ингибитора металлопротеиназ-2. Даларгин вводили подкожно в дозе 100 мкг/кг в течение 7 суток. **Результаты:** Установлено повышение содержания матричных металлопротеиназ-2 и 9, а также тканевого ингибитора металлопротеиназ-2 в стенке толстого кишечника мышей с язвенным колитом на 5 и 7 сутки эксперимента. При хроническом язвенном колите только концентрация тканевого ингибитора металлопротеиназ-2 была достоверно выше, чем у интактных мышей. Применение даларгина приводило к снижению концентрации матричных металлопротеиназ-2 и 9, тканевого ингибитора металлопротеиназ-2 в острый период болезни. При хроническом язвенном колите введение даларгина уменьшало концентрацию тканевого ингибитора металлопротеиназ-2 в стенке медиального отдела ободочной кишки. **Заключение:** Даларгин снижал содержание

матриксных металлопротеиназ-2 и 9, тканевого ингибитора металлопротеиназ-2 в стенке толстого кишечника мышей с язвенным колитом на 5 и 7 сутки эксперимента. Указанный эффект был выше, чем у сульфасалазина, широко применяемого при лечении язвенного колита.

Ключевые слова: язвенный колит; даларгин; матриксная металлопротеиназа-2; матриксная металлопротеиназа-9; тканевой ингибитор металлопротеиназ-2

Для цитирования: Ляшев АЮ, Маль ГС, Артюшкова ЕБ, и др. Влияние даларгина на содержание матриксных металлопротеиназ и тканевого ингибитора металлопротеиназ в толстом кишечнике мышей с экспериментальным язвенным колитом. Научные результаты биомедицинских исследований. 2024;10(4):563-577. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-6

Effect of dalargin on the content of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in the colon of mice with experimental ulcerative colitis

Andrei Yu. Liashev , Galina S. Mal , Elena B. Artyushkova ,
Mariya A. Balanina 

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

Corresponding author: Andrei Yu. Liashev (andr.liashev@yandex.ru)

Abstract

Background: Ulcerative colitis is a chronic, multifactorial disease, the development of which is stimulated by disturbances in the microbiota of the colon, poor nutrition, an inadequate immune response to pathogenic and commensal microflora, against a background of genetic predisposition, and has important social implications. Increased levels of matrix metalloproteinases in plasma and colon tissue has been shown in ulcerative colitis. Matrix metalloproteinases-2, 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 are important in the development of inflammation in the colon. Existing methods of treating ulcerative colitis are not effective enough. Dalargin has a unique combination of effects, that's why its administration is promising in the treatment of ulcerative colitis. **The aim of the study:** To investigate dalargin effect on the concentrations of matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 in the medial colon of mice with experimental ulcerative colitis. **Materials and methods:** Ulcerative colitis in Balb/C mice was simulated by replacing drinking water with a 5% solution of dextran sodium sulfate in boiled water for 5 days. On the 5th, 7th and 28th days of the experiment, the content of matrix metalloproteinases-2 and 9, tissue inhibitor of metalloproteinases-2, was measured in the homogenate of the medial section of the colon. Dalargin was administered subcutaneously at a dose of 100 mcg/kg for 7 days. **Results:** An increase in the content of matrix metalloproteinases-2 and 9, as well as tissue inhibitor of metalloproteinases-2, was established in the colon wall of mice with ulcerative colitis on the 5th and 7th days of the experiment. In chronic ulcerative colitis, only tissue inhibitor of metalloproteinases-2 levels were significantly higher than in naive mice. The administration of dalargin caused a decrease in the concentration of matrix metalloproteinases-2 and 9, a tissue inhibitor of metalloproteinases-2, during the acute period of the disease. In chronic ulcerative colitis, administration of dalargin decreased the concentration of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 in the wall of the medial section of the colon.

Conclusion: Dalargin reduced the content of matrix metalloproteinase-2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 in the colon wall of mice with ulcerative colitis on the 5th and 7th days of the experiment. This effect was higher than sulfasalazine one, which is widely used in the ulcerative colitis treatment.

Keywords: ulcerative colitis; dalargin; matrix metalloproteinase-2; matrix metalloproteinase-9; tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-2

For citation: Liashev AY, Mal GS, Artyushkova EB, et al. Effect of dalargin on the content of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in the colon of mice with experimental ulcerative colitis. Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):563-577. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-6

Введение. Язвенный колит (ЯК) – хроническое, рецидивирующее, мультифакториальное заболевание, возникновение и развитие которого определяются нарушениями микробиоты толстого кишечника, неправильным питанием, неадекватным иммунным ответом на патогенную и комменсальную микрофлору на фоне генетической предрасположенности [1, 2, 3]. В 2023 году в мире было установлено 5 миллионов случаев развития ЯК, и отмечается стойкая тенденция увеличения распространенности этого заболевания, особенно в странах Восточной Европы, включая Россию, и Юго-Восточной Азии [4]. Высокая социальная значимость ЯК определяется следующими особенностями развития заболевания: 1) первый пик заболеваемости наблюдается у молодых людей в возрасте 20-40 лет; 2) прогрессирование ЯК сопровождается высокой вероятностью развития тяжелых осложнений и инвалидизации пациентов; 3) до настоящего времени отсутствуют эффективные методы терапии ЯК, позволяющие добиться стойкой ремиссии заболевания [3]. Несмотря на значительное количество исследований, посвященных изучению различных аспектов этого заболевания, этиология и патогенетические механизмы ЯК, остаются недостаточно выясненными.

В последние годы расширились представления о роли микробиоты кишечника в развитии воспалительных заболеваний кишечника. Показано, что персистирующие возбудители при нарушении защитных свойств слизистой кишечника и повышении ее проницаемости способны проникать

из просвета кишечника в кровеносные и лимфатические сосуды, вызывая нарушение иммунного ответа с формированием хронического воспалительного процесса [5]. Необходимо подчеркнуть, что в настоящее время ни один из микроорганизмов не идентифицирован как возбудитель ЯК [3]. Развитие ЯК объясняют воздействием комплекса средовых и генетических факторов, вызывающих нарушение барьерной функции слизистой оболочки толстого кишечника, что приводит к пенетрации патогенной и комменсальной микрофлоры из просвета кишечника в его слизистую оболочку и подслизистый слой [1, 2]. Бактериальные антигены вызывают активацию нейтрофилов, макрофагов, дендритных клеток, лимфоцитов, прежде всего, CD8+IL-17+ клеток, что приводит к развитию хронического воспаления, сопровождающегося формированием язв и разрушением крипт слизистой оболочки толстого кишечника [1, 2].

В настоящее время общепризнано, что отсутствуют надежные критерии, позволяющие диагностировать заболевание на ранних стадиях, а существующие методы лечения ЯК недостаточно эффективны. Как показывают многочисленные исследования, одним из возможных информативных маркеров развития воспаления в стенке толстого кишечника являются матриксные металлопротеиназы (ММП) [6].

ММП представляют собой семейство, включающее более 20 цинк-зависимых эндопротеаз, основными функциями которых являются участие в регуляции дифференцировки, пролиферации клеток, апоптозе и

ангиогенезе [7]. ММП выступают как внутри- и внеклеточные биологически активные молекулы, контролирующие ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса путем разрушения его основных компонентов: коллагена, эластина, фибронектина, а также регулирование активности репаративных процессов [7]. Активность ММП контролируется специальными белками – тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП). В настоящее время установлено 4 ТИМП: 1, 2, 3, 4, при этом действие их в отношении различных ММП неспецифично [6, 7]. Известно, что ММП играют важную роль в развитии сердечно-сосудистой и акушерской патологии, опухолей, воспалительных заболеваний [6, 8, 9]. Усиление экспрессии ММП и ТИМП наблюдается при развитии таких воспалительных заболеваний, как ревматоидный артрит, остеоартрит, псориаз и хроническая обструктивная болезнь легких. На клеточном уровне транскрипция ММП и ТИМП регулируется факторами роста, цитокинами, взаимодействием клеток и внеклеточного матрикса [10]. Повышение содержания ММП и ТИМП индуцирует активацию сигнальных путей, включая фосфоинозитид-3-киназу/протеинкиназу В, митоген-активируемая протеинкиназа (МАРК), ядерный фактор κ B, усилитель легкой каппа-цепи активированных В-клеток (NF- κ B), протоонкоген *jun* – протоонкоген/*fos* белок-активатор 1 (Jun-Fos/AP-1) [10].

В толстом кишечнике в условиях физиологического покоя концентрация ММП низкая, но при развитии острого воспаления она значительно повышается, что приводит к нарушению барьерной функции слизистой толстого кишечника вследствие разрушения межклеточного вещества, включая муцины и клаудины [7]. Установлено увеличение концентрации различных ММП в стенке толстого кишечника, как в экспериментальных исследованиях [7], так и у пациентов с ЯК [10]. Особый интерес исследователей вызывают ММП-2 и ММП-9 [11, 12]. ММП-2 и ММП-9 – желатиназы, регулирующие различные звенья патогене-

неза ЯК [6]. Показано, что ММП-2 участвует в ремоделировании коллагеновых структур, предупреждает развитие нейтрофильной инфильтрации и фиброза в ткани толстого кишечника [7]. ММП-9 помимо участия в ремоделировании экстрацеллюлярного матрикса, стимулирует развитие нейтрофильной инфильтрации при воспалении, нарушает репаративные процессы в эпителии, увеличивает проницаемость сосудистой стенки, вызывает активацию цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-8, трансформирующего фактора роста- β) [7]. Некоторые авторы подчеркивают ключевую роль ММП-9 в прогрессировании ЯК [12]. Также показано, что увеличение концентрации ММП-9 в плазме крови коррелирует с тяжестью ЯК [11, 12]. ТИМП-2 оказывает ингибирующее действие на активность ММП-2, ММП-9 и ММП-14 [10].

Учитывая важную роль ММП в развитии ЯК, изучение влияния фармакологических препаратов, применяемых для лечения ЯК, на активность ММП при воспалении толстого кишечника, представляет несомненный интерес.

Даларгин был предложен как противовоспалительный препарат, но в настоящее время используется в лечении панкреатита [13]. Ранее показано, что он обладает антиоксидантным, иммуномодулирующим действием, оказывает стимулирующее влияние на репаративные процессы при повреждении. Противовоспалительное действие даларгина связывают с его эффектом на макрофаги, фибробласты, что приводит к усилению синтеза коллагена и ДНК в эпителии [13]. Ранее нами показан корректирующий эффект даларгина на течение экспериментального ЯК у мышей, что проявлялось снижением индекса активности болезни, уменьшением распространенности язв и воспалительных инфильтратов в дистальном отделе ободочной кишки [14]. В связи с этим представляет интерес изучение влияния даларгина на содержание ММП в стенке толстого кишечника при экспериментальном ЯК.

Цель исследования. Изучение влияния даларгина на концентрацию ММП-2,

ММП-9 и ТИМП-2 в медиальном отделе ободочной кишки мышей с экспериментальным ЯК.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 67 мышах-самцах линии Balb/C весом 20-23 г. из филиала "Столбовая" Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства".

Животных разделили на следующие группы: 1) интактные (n=4); 2) контрольная (n=21) – ЯК+физраствор; 3) опытная №1 (n=21) – ЯК+даларгин; 4) опытная №2 (n=21) – ЯК+сульфасалазин.

Животным контрольной и опытных групп ЯК моделировали заменой питьевой воды 5% раствором декстрана сульфата натрия (ДСН) (Mr=40000, PanReas-AppliChem, ФРГ) в кипяченой воде на 5 суток [15]. Развитие ЯК у животных после потребления 5% раствора ДСН подтверждено морфологическими исследованиями. Мышей выводили из эксперимента на 5, 7 суток (острый колит) и на 28 суток (хронический колит) цервикальной дислокацией под хлоралгидратным наркозом.

Даларгин (Тир-D-Ала-Гли-Фен-Лей-Арг) (НПО «Микроген», Россия) растворяли в 0,9% растворе хлорида натрия, применяли подкожно в объеме 0,1 мл ежедневно в дозе 100 мкг/кг массы тела 1 раз в сутки в течение 7 дней с начала моделирования ЯК. По данным литературы исследованный пептид проявляет высокую фармакологическую активность при его использовании в указанной дозе [16].

Сульфасалазин (компания «КРКА», Словения) применяли в качестве препарата сравнения и вводили мышам внутрижелудочно в виде суспензии в физиологическом растворе в дозе 200 мг/кг массы тела в объеме 0,3 мл в течение 7 суток с начала моделирования ЯК [16]. Ранее показано, что применение сульфасалазина в дозе 200 мг/кг внутрижелудочно вызывало уменьшение площади язвенных дефектов и кровоизлияний в прямой кишке, снижение концентрации индуцированной NO-синтазы,

ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α в гомогенате прямой кишки у крыс с экспериментальным ЯК [17].

Контрольная группа животных с ЯК состояла из 21 особи, 12 из которых физраствор вводили подкожно, 9 – внутрижелудочно. На 5, 7 и 28 сутки эксперимента из опыта выводили по 7 мышей: 4 получали физраствор подкожно и 3 внутрижелудочно. Ранее установлено отсутствие клинических и морфологических различий между мышами Balb/C с экспериментальным ЯК, получавших физраствор указанными способами, на всех сроках эксперимента [14]. Физраствор вводили 1 раз в сутки в течение 7 дней с начала моделирования ЯК в объеме 0,1 мл подкожно или 0,3 мл внутрижелудочно.

У животных, выведенных из эксперимента, извлекали ободочную кишку, выделяли медиальный отдел, вскрывали его продольным разрезом по краю прикрепления брыжейки, промывали фосфатно-солевым буфером (pH=7,4, 0,01M) и ткань (70 мг) гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера-Эльвегейма в течение 10 минут. Гомогенат центрифугировали на центрифуге SL-16R («Thermo Fisher Scientific», Германия) в течение 10 минут при 3000 об/мин. Полученный супернатант замораживали при t=-40°C и хранили не более 2 месяцев. Содержание ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 определяли в гомогенате медиального отдела ободочной кишки методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью стандартных наборов фирмы Cloud-Clone Corp. (США) на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Лазурит» (Dyplex Technologies, США) согласно стандартной инструкции.

Работа выполнена в лаборатории доклинических исследований лекарственных средств НИИ экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета с соблюдением принципов гуманного отношения к лабораторным животным [18, 19], положений Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к лабораторным животным (2000 г.), директивы Европейского сообщества (86/609EC) и

Правил надлежащей лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ №199н от 01.04.2016 г.). Проведение экспериментов по теме исследования было одобрено Региональным этическим комитетом (РЭК) (протокол заседания секции доклинических исследований РЭК №1 от 03.04.2023).

При статистической обработке полученных результатов нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка, а гомогенность дисперсий по критерию Левена. Проверку статистических гипотез проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Применение непараметрической статистики было связано с небольшим размером выборок, разным характером распределения в вариационных рядах и неравенством дисперсий при сравнении групп. Материал представлен как медиана (Me) нижний (Q1) и верхний (Q3) квартили. В ходе проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при $p \leq 0,05$. Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica версия 10.

Результаты и их обсуждение. Моделирование ЯК у мышей линии Balb/C приводило к повышению содержания ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 в гомогенате медиального отдела ободочной кишки на 5 сутки эксперимента в 16,1, 21,8 и 20,7 раз соответственно ($P=0,0107$) по сравнению с интактными животными (Рис. 1, 2, 3). На 7 сутки отмечено снижение концентраций ММП-2 и ТИМП-2 на 37,9% и 20,0% соответственно по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Напротив, содержание ММП-9 увеличилось на 11,5%. На 28 сутки при хроническом ЯК концентрации ММП-

2, ММП-9, ТИМП-2 значительно снижались, при этом содержание ММП-2 и ММП-9 не отличалось значимо от аналогичных значений у животных интактной группы, а концентрации ТИМП-2 оставались достоверно выше (в 7,9 раза, $P=0,0107$).

Применение даларгина у мышей Balb/C с ЯК вызывало значимое снижение содержания ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 на 5 и 7 сутки эксперимента. Так, при введении даларгина концентрация ММП-2 уменьшилась в 6,3 и 3,9 раза, ММП-9 – в 4,1 и 5,6 раза, ТИМП-2 – на 46,7% и 35,4% соответственно на 5 и 7 сутки после начала моделирования ЯК по сравнению с контрольной группой ($P=0,0022$). Не установлено значимых отличий концентраций ММП-2 и ММП-9 на 28 сутки (хронический колит) у мышей с ЯК, получавших даларгин, по сравнению с контрольной группой ($P>0,05$). Содержание ТИМП-2 было в 3,7 раза ниже при применении даларгина ($P=0,0022$).

Применение сульфасалазина у мышей с ЯК приводило к снижению содержания ММП-2 и ТИМП-2 в гомогенате медиального отдела ободочной кишки в 3,1 раза ($P=0,0022$) и на 28,3% ($P=0,0022$) соответственно на 5 сутки эксперимента по сравнению с животными контрольной группы. Не установлено изменений концентрации ММП-9 в этот период. На 7 сутки содержание ММП-2 было в 2,1 раза ($P=0,0049$), ММП-9 в 3,0 раза ($P=0,0022$), ТИМП-2 на 41,7% ($P=0,0022$) ниже, чем в контрольной группе. На 28 сутки (хронический колит) только концентрация ТИМП-2 была ниже на 39,1% ($P=0,0409$), чем у мышей контрольной группы.

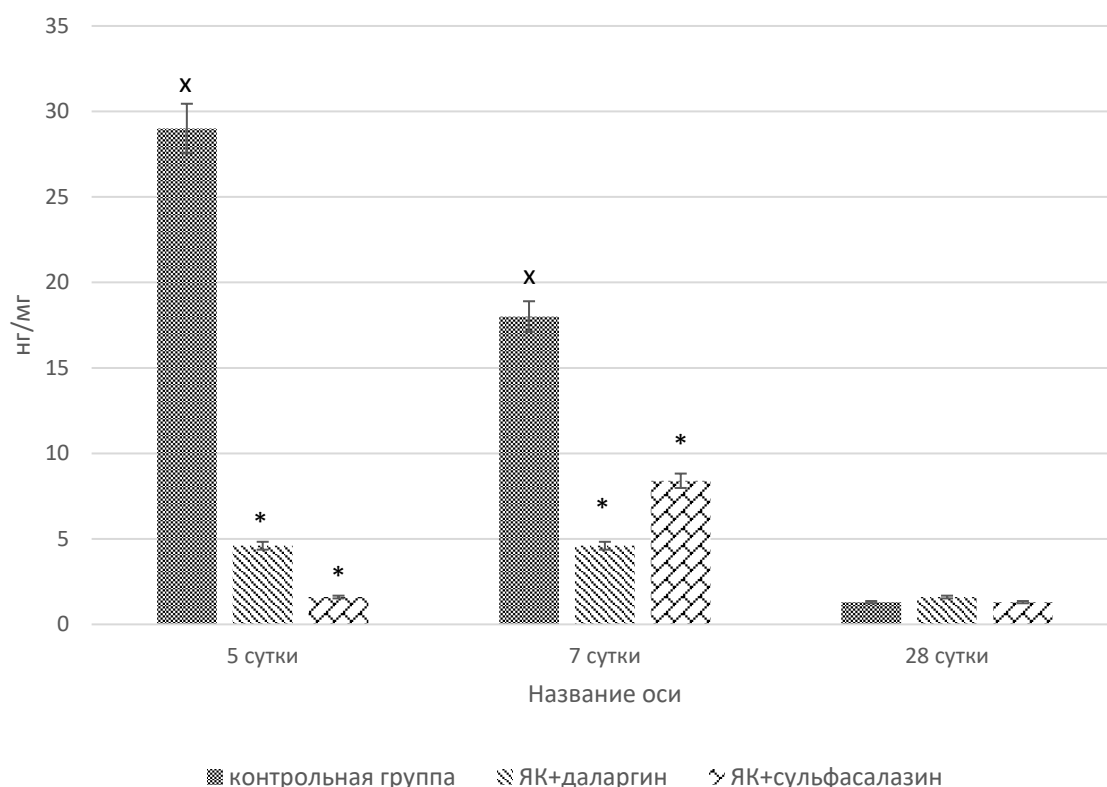


Рис. 1. Влияние даларгина на содержание матричной металлопротеиназы-2 в гомогенате медиального отдела ободочной кишки мышей с язвенным колитом.

Примечание: ^x – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой, ^{*} – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Fig. 2. Effect of dalargin on the content of matrix metalloproteinase-2 in the homogenate of the medial colon of mice with ulcerative colitis.

Note: ^x – $p < 0.05$ compared to naïve group, ^{*} – $p < 0.05$ compared to control group.

При сравнении влияния даларгина и сульфасалазина на концентрацию ММП и ТИМП у мышей с ЯК установлено, что эффекты даларгина значимо выше по сравнению с действием сульфасалазина на 5 и 7 сутки развития заболевания. Так, на 5 сутки содержание в гомогенате медиального отдела ободочной кишки ММП-2 в 2,0 раза ниже у мышей, получавших даларгин, по сравнению с группой ЯК+сульфасалазин ($P=0,0022$). На 7 сутки также установлено снижение концентрации ММП-2 в группах ЯК+даларгин на 45,2% по сравнению с животными, получавшими сульфасалазин ($P=0,0022$). Содержание ММП-9 на 5 и 7 сутки у мышей, которым применяли даларгин, было значимо ниже, чем в группе ЯК+сульфасалазин: на 5 сутки в 3,8 раза ($P=0,0022$), на 7 сутки на 46,9% ($P=0,0033$).

Более низкие значения концентрации ТИМП-2 у крыс, получавших даларгин, отмечались только на 5 сутки эксперимента (на 25,6% ($P=0,0022$)).

У мышей с хроническим ЯК, которым применяли даларгин, показано снижение содержания ТИМП-2 на 28 сутки в 2,2 раза ($P=0,0181$) по сравнению с животными, которым вводили сульфасалазин.

Таким образом, в наших экспериментах установлено корректирующее влияние даларгина и сульфасалазина на концентрации ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 в гомогенате медиального отдела ободочной кишки, что подтверждает их противовоспалительное действие у мышей с ЯК. При этом максимальный эффект наблюдался при применении даларгина.

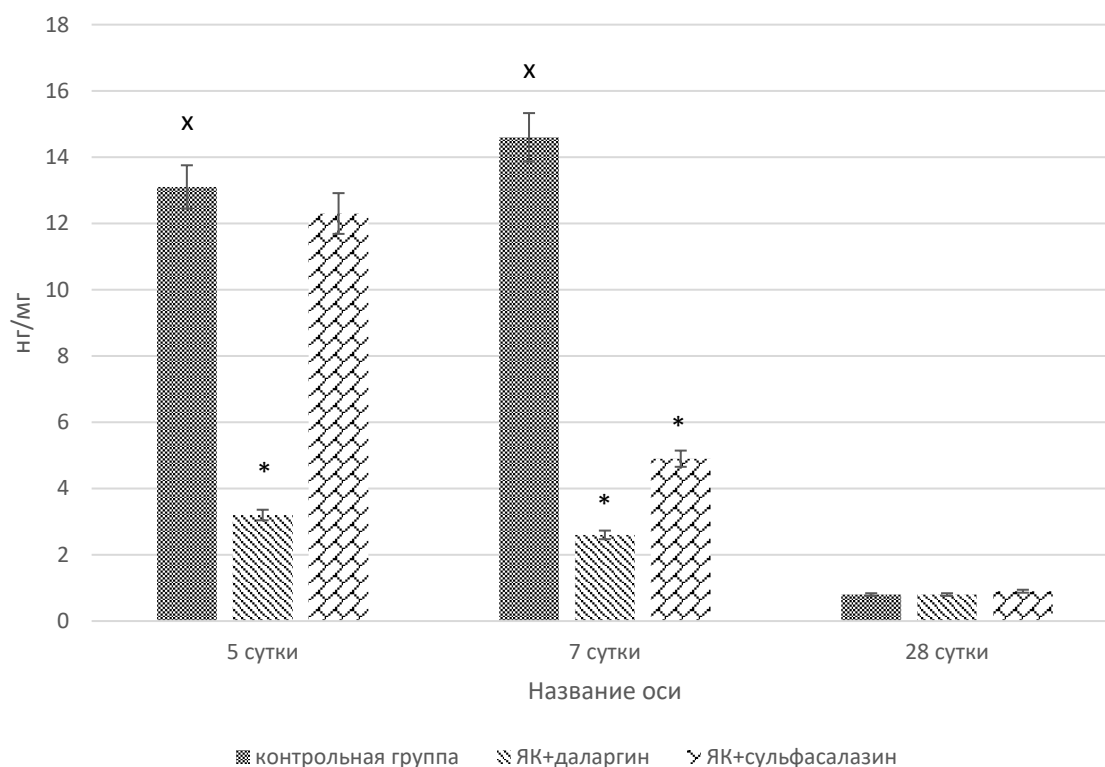


Рис. 2. Влияние даларгина на содержание матриксной металлопротеиназы-9 в гомогенате медиального отдела ободочной кишки мышей с язвенным колитом.

Примечание: ^x – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой, ^{*} – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Fig. 2. Effect of dalargin on the content of matrix metalloproteinases-9 in the homogenate of medial section of the colon in mice with ulcerative colitis.

Note: ^x – $p < 0.05$ compared to naïve group, ^{*} – $p < 0.05$ compared to control group.

Полученные в работе результаты подтверждают данные литературы о повышении содержания ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 при развитии ЯК, как у лабораторных животных, так и у пациентов [6, 20]. Однако динамика концентрации измеряемых параметров была различной: если содержание ММП-2 и ТИМП-2 оказалось максимальным на 5 сутки эксперимента, то концентрация ММП-9 на 7. Ранее показано, что тяжесть экспериментального ЯК у лабораторных мышей нарастает от 5 суток к 7 [14, 20]. Полученные в работе данные подтверждают ранее полученные результаты о том, что динамика ММП-9 при ЯК прямо пропорциональна тяжести заболевания, а изменения концентрации ММП-2 и ТИМП-2 обратно пропорциональны [20]. У мышей с хроническим ЯК содержание всех исследованных показателей существенно снижается, а концентрация ММП не отличается

достоверно от аналогичных значений у интактных мышей. Указанные изменения объясняются, по-видимому, изменением популяции лейкоцитов в очаге воспаления и преобладанием В-лимфоцитов [21]. Ранее показано, что концентрация ММП-9 в сыворотке крови пациентов с острым ЯК значимо выше, чем у больных с неактивной формой заболевания или у здоровых добровольцев, что указывает на возможность использования концентрации ММП-9 как маркера активности воспалительного процесса в толстом кишечнике и эффективности проводимой терапии [22].

При воспалении отмечается повышение концентрации ТИМП, что является защитным механизмом при значительном увеличении активности ММП [23]. Однако, как показано в большинстве исследований, повышение уровня ТИМП обычно не способно предупредить активацию ММП [23].

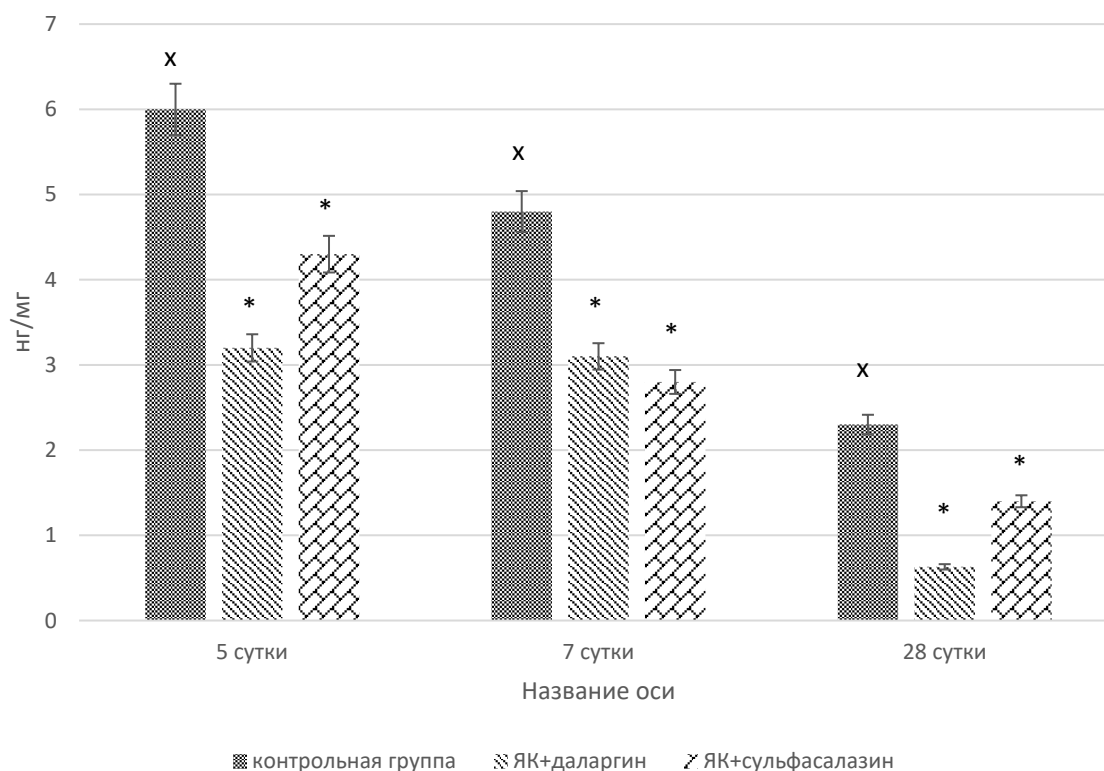


Рис. 3. Влияние даларгина на содержание тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-2 в гомогенате медиального отдела ободочной кишки мышей с язвенным колитом.

Примечание: x – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой, * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Fig. 3. Effect of dalargin on the content of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-2 in the homogenate of medial section of the colon in mice with ulcerative colitis.

Note: x – $p < 0.05$ compared to naïve group, * – $p < 0.05$ compared to control group.

Известно, что основными продуцентами ММП при воспалении являются макрофаги и

нейтрофилы [7]. Общеизвестно, что опиоидные рецепторы, преимущественно μ -типа присутствуют на нейтрофилах, макрофагах, дендритных клетках, Т- и В-лимфоцитах в стенке толстого кишечника [24]. Установлено усиление экспрессии мРНК опиоидных μ -рецепторов в острый период развития болезни. При хроническом течении ЯК наблюдалась нормальная экспрессия мРНК опиоидных μ -рецепторов [25]. Эти данные указывают на вовлеченность опиоидных μ -рецепторов в регуляцию воспаления в толстом кишечнике.

Опиоидные δ -рецепторы также присутствуют в толстом кишечнике, главным образом на нейронах нервного сплетения,

регулирующих перистальтику [26]. У мышей с экспериментальным ЯК отмечается увеличение количества опиоидных δ -рецепторов, стимуляция которых угнетает сократительную активность мышц толстого кишечника [26].

Даларгин – аналог лей-энкефалина, имеющий высокую устойчивость к действию эндопептидаз, что связано с замещением аминокислоты глицина на D-аланин во втором положении и присоединением остатка аргинина к С-концу молекулы, проявляющий высокую селективность в отношении опиоидных δ - и μ -рецепторов [13]. Установленный в нашем исследовании фармакологический эффект даларгина на содержание ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 у мышей с ЯК связан, по-видимому с активацией опиоидных μ -рецепторов на моно- и

полинуклеарах в стенке толстого кишечника, что приводит к снижению их функциональной активности, уменьшению продукции ММП макрофагами, лимфоцитами и нейтрофилами. Связывание даларгина с опиоидными δ -рецепторами на клетках нервного сплетения, количество которых увеличивается при ДСН-индуцированном ЯК, вызывает снижение перистальтики, что может опосредованно приводить к уменьшению интенсивности воспаления в толстом кишечнике.

Ранее показано, что применение природного ингибитора энкефалиназы опиорфина при экспериментальном ЯК у мышей вызывает падение концентрации провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α) и увеличение содержания противовоспалительного ИЛ-10, как в стенке толстого кишечника, так и в плазме крови [21]. Указанные биохимические изменения сопровождалось уменьшением клинических проявлений ЯК, таких как индекс активности болезни и длина толстого кишечника, а также выраженности гистологических изменений в толстом кишечнике при воспалении [21]. Авторы связывают противовоспалительное действие опиорфина с подавлением активности ядерного фактора κB p65, толл-подобного рецептора-4 (TLR-4), индуцированной NO-синтазы, циклооксигеназы 2 типа. Кроме того, применение опиорфина приводило к угнетению активности нейтральной эндопептидазы и аминопептидазы N – ферментов, участвующих в разрушении эндогенных энкефалинов. Таким образом, применение опиорфина приводило не только к повышению содержания лей-и мет-энкефалинов в сыворотке крови, но и к увеличению экспрессии опиоидных μ - и δ -рецепторов [21]. Такое действие исследованного ингибитора энкефалиназы, по мнению авторов, связано с активацией периферических μ -рецепторов, поскольку применение налоксона гидрохлорида, блокирующего преимущественно периферические μ -рецепторы и имеющего меньшее сродство к опиоидным δ -рецепторам, устраняло корригирующий эффект опиорфина на течение ЯК [21]. Ранее показано, что применение

селективных антагонистов опиоидных δ -рецепторов налтриндола и 7-бензилиден-налтрексона не оказывало существенного влияния на течение экспериментального ЯК у мышей, что позволило авторам сделать вывод о том, что опиоидные δ -рецепторы не вовлекаются в корригирующий эффект опиоидов при ЯК [27].

Установлено ингибирующее влияние агонистов опиоидных рецепторов на ММП-9 [28]. Показано, что эндогенный агонист опиоидных μ -рецепторов эндоморфин-2 оказывает ингибирующее действие на ММП-9, а синтетические опиоиды MML617, MML717 и MML1017 угнетали активность ММП-2 и ММП-9 [28]. У больных раком пищевода установлено снижение активности опиоидных κ -рецепторов, что приводило к повышению активности ММП-2 и прогрессированию злокачественной опухоли [29].

Заключение. В работе установлено, что развитие экспериментального ЯК у мышей Balb/C сопровождается повышением концентрации ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 в гомогенате медиального отдела ободочной кишки на 5 и 7 сутки эксперимента (острый ЯК), что указывает на развитие острого воспаления в толстом кишечнике. При хроническом язвенном колите содержание исследованных ММП не отличается значимо от аналогичных значений у интактных животных, а концентрация ТИМП-2 остается повышенной, что подтверждает ранее полученные литературные данные [23]. Увеличение концентрации ММП и ТИМП связано с активацией макрофагов, нейтрофилов и лимфоцитов, количество которых значительно увеличивается в стенке толстого кишечника при воспалении, являющихся основными продуцентами ММП.

Применение даларгина у мышей Balb/C с экспериментальным ЯК вызывает снижение концентрации ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 на 5, 7 и 28 сутки эксперимента по сравнению с группой ЯК+физраствор, что указывает на снижение тяжести воспалительного процесса у животных. Фармакологический эффект даларгина объясняется,

по-видимому, активацией опиоидных μ -рецепторов, количество которых значительно увеличивается на макрофагах, нейтрофилах, Т- и В-лимфоцитах при остром ЯК. Стимуляция агонистами опиоидных μ -рецепторов приводит к угнетению ядерного фактора κB p65, TLR-4, индуцированной NO-синтазы, циклооксигеназы 2 типа [20]. При сравнении корригирующего действия даларгина и сульфасалазина на содержание ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 в гомогенате медиального отдела ободочной кишки мышей с экспериментальным ЯК установлено, что фармакологический эффект даларгина значимо выше ($p < 0,05$), что проявлялось снижением концентрации ММП-2 и ММП-9 на 5 и 7 сутки эксперимента, а ТИМП-2 на 5 и 28 сутки.

Учитывая важную роль ММП и ТИМП в развитии воспалительных процессов в различных тканях, использование ингибиторов ММП представляется перспективным направлением терапии таких заболеваний.

Таким образом, полученные результаты открывают перспективы использования даларгина как средства фармакологической коррекции ЯК, особенно при его использовании в комбинации с другими лекарственными препаратами.

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. Du L, Ha C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2020;49(4):643-654. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2020.07.005>
2. Smillie CS, Biton M, Ordovas-Montanes J, et al. Intra- and inter-cellular rewiring of the human colon during ulcerative colitis. *Cell*. 2019;178(3):714-730. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.06.029>
3. Шельгин ЮА, Ивашкин ВТ, Белосова ЕА, и др. Язвенный колит (K51), взрослые. *Колопроктология*. 2023;22(1):10-44. DOI: <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2023-22-1-10-44>
4. Le Berre C, Honap S, Peyrin-Biroulet L. Ulcerative colitis. *The Lancet*. 2023;402(10401):571-584. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)00966-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)00966-2)
5. Акиншина АИ, Смирнова ДВ, Загайнова АВ, и др. Перспективы использования методов коррекции микробиоты при терапии воспалительных заболеваний кишечника. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2019;29(2):12-21. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-2-12-22>
6. de Almeida LGN, Thode H, Eslambolchi Y, et al. Matrix Metalloproteases: from molecular mechanisms to Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacology Review*. 2022;4(3):712-768. DOI: <http://doi.org/10.1124/pharmrev.121.000349>
7. Maronek M, Marafini I, Gardlik R, et al. Metalloproteinases in Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Inflammation Research*. 2021;14:1029-1041. DOI: <http://doi.org/10.2147/JIR.S288280>
8. Ефремова ОА. Изучение роли межлокусных взаимодействий генов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ в формировании задержки роста плода. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2022;8(1):36-55. DOI: <http://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-3>
9. Ремнёва ОВ, Кореновский ЮВ, Ховалыг НМ, и др. Индуцированные преждевременные роды: оценка оксидативного статуса, матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в амниотической жидкости. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2021;7(1):86-95. DOI: <http://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-9>
10. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *International Journal of Molecular Science*. 2020;21(24):9739. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms21249739>

11. Eiro N, Barreiro-Alonso E, Fraile M, et al. Expression of MMP-2, MMP-7, MMP-9, and TIMP-1 by Inflamed Mucosa in the Initial Diagnosis of Ulcerative Colitis as a Response Marker for Conventional Medical Treatment. *Pathobiology*. 2023;90(2):81-93. DOI: <http://doi.org/10.1159/000524978>
12. Lin X, Li J, Zhao Q, et al. WGCNA Reveals Key Roles of IL8 and MMP-9 in Progression of Involvement Area in Colon of Patients with Ulcerative Colitis. *Current Medical Science*. 2018;38(2):252-258. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11596-018-1873-6>
13. Булгаков СА. Пептидные лекарства в панкреатологии: состояние проблемы и перспективы. *Доказательная гастроэнтерология*. 2018;7(4):30-34. DOI: <http://doi.org/10.17116/dokgastro2018704130>
14. Ляшев АЮ, Маль ГС, Солин АВ. Изучение эффективности даларгина при экспериментальном язвенном колите. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2023;86(9):7-11. DOI: <http://doi.org/10.30906/0869-2092-2023-86-9-7-11>
15. Хомякова ТИ, Золотова НА, Хочанский ДН, и др. Моделирование острого и хронического колита у мышей. Лечение и профилактика. 2013;7(3):148-159.
16. Лишманов ЮБ, Маслов ЛН, Нарыжная НВ, и др. Эндогенная опиоидная система как звено срочной и долговременной адаптации организма к экстремальным воздействиям. Перспективы клинического применения опиоидных пептидов. *Вестник РАМН*. 2012;67(6):73-82.
17. Мотов ВС, Быкова АВ, Быков ВВ, и др. Протективное действие производного аминокислоты на модели язвенного колита у крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(5):6-10. DOI: <http://doi.org/10.30906/0869-2092-2021-84-5-6-10>
18. Липатов ВА, Крюков АА, Северинов ДА, и др. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований in vivo. Часть I. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2019;27(1):80-92. DOI: <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ201927180-92>
19. Липатов ВА, Крюков АА, Северинов ДА, и др. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований in vivo. Часть II. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2019;27(2):245-257. DOI: <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2019272245-257>
20. Derkacz A, Olczyk P, Olczyk K, et al. The role of extracellular matrix components in inflammatory bowel diseases. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(5):1122. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm10051122>
21. Luo P, Li X, Gao Y, et al. Central administration of human opiorphin alleviates dextran sodium sulfate-induced colitis in mice through activation of the endogenous opioid system. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:904926. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.904926>
22. Fan L, Qi Y, Qu S, et al. B. adolescentis ameliorates chronic colitis by regulating Treg/Th2 response and gut microbiota remodeling. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1-17. DOI: <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1826746>
23. Shamsheya AM, Hussein WM, Elnely DA, et al. Serum matrix metalloproteinase-9 concentration as a marker of disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2021;31(Suppl.1):e803-e809. DOI: <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000002264>
24. Raeeszadeh-Sarmazdeh M, Do LD, Hritz BG. Metalloproteinases and their inhibitors: potential for the development of new therapeutics. *Cell*. 2020;9(5):1313. DOI: <https://doi.org/10.3390/cell9051313>
25. Lashgari N-A, Roudsari NM, Zandi N, et al. Current overview of opioids in progression of inflammatory bowel disease; pharmacological and clinical considerations. *Molecular Biology Reports*. 2021;48(1):855-874. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-020-06095-x>
26. DiCello JJ, Saito A, Rajasekhar P, et al. Inflammation-associated changes in DOR expression and function in the mouse colon. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2018;315(4):G544-559. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00025.2018>
27. Bobo TR, Fitzpatrick LR, Whitcomb TC, et al. Role of the δ -Opioid Receptor in 2 Murine Models of Colitis. *Comparative Medicine*. 2020;70(1):25-34. DOI: <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-19-00002>
28. Ronsisvalle S, Spadaro A, Tomasello B, et al. Molecular modeling and biological studies show that some μ -opioid receptor agonists might elicit analgesia acting as MMP-9 inhibitors. *Future*

Medicinal Chemistry. 2019;11(11):1245-1258. DOI: <https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0535>

29. Huang H-M, He X-H, Huang X-Y, et al. Down-regulation of kappa opioid receptor promotes ESCC proliferation, invasion and metastasis via the PDK1-AKT signaling pathway. *Cell Communication and Signaling*. 2022;20(1):35. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12964-022-00833-3>

References

1. Du L, Ha C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2020;49(4):643-654. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2020.07.005>

2. Smillie CS, Biton M, Ordovas-Montanes J, et al. Intra- and inter-cellular rewiring of the human colon during ulcerative colitis. *Cell*. 2019;178(3):714-730. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.06.029>

3. Shelygin YuA, Ivashkin VT, Belousova EA, et al. Ulcerative colitis (K51), adults. *Koloproktologia*. 2023;22(1):10-44. Russian. DOI: <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2023-22-1-10-44>

4. Le Berre C, Honap S, Peyrin-Biroulet L. Ulcerative colitis. *The Lancet*. 2023;402(10401):571-584. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)00966-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)00966-2)

5. Akinshina AI, Smirnova DV, Zagai-nova AV, et al. Prospects of Using Microbiota Correction Methods in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2019;29(2):12-22. Russian. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-2-12-22>

6. de Almeida LGN, Thode H, Eslambolchi Y, et al. Matrix Metalloproteases: from molecular mechanisms to Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacology Review*. 2022;4(3):712-768. DOI: <http://doi.org/10.1124/pharmrev.121.000349>

7. Maronek M, Marafini I, Gardlik R, et al. Metalloproteinases in Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Inflammation Research*. 2021;14:1029-1041. DOI: <http://doi.org/10.2147/JIR.S288280>

8. Efremova OA. Studying the role of interlocus interactions of folate cycle genes and matrix metalloproteinases in the formation of fetal growth retardation. *Research Results in Biomedicine*. 2022;8(1):36-55. Russian. DOI: <http://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-3>

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

10. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *International Journal of Molecular Science*. 2020;21(24):9739. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms21249739>

11. Eiro N, Barreiro-Alonso E, Fraile M, et al. Expression of MMP-2, MMP-7, MMP-9, and TIMP-1 by Inflamed Mucosa in the Initial Diagnosis of Ulcerative Colitis as a Response Marker for Conventional Medical Treatment. *Pathobiology*. 2023;90(2):81-93. DOI: <http://doi.org/10.1159/000524978>

12. Lin X, Li J, Zhao Q, et al. WGCNA Reveals Key Roles of IL8 and MMP-9 in Progression of Involvement Area in Colon of Patients with Ulcerative Colitis. *Current Medical Science*. 2018;38(2):252-258. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11596-018-1873-6>

13. Bulgakov SA. Peptide therapeutics in pancreatology. *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2018;7(4):30-34. Russian. DOI: <http://doi.org/10.17116/dokgastro2018704130>

14. Liashev AYU, Mal GS, Solin AV. Investigation of dalargin effectiveness in experimental ulcerative colitis. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2023;86(9):7-11. Russian. DOI: <http://doi.org/10.30906/0869-2092-2023-86-9-7-11>

15. Khomyakova TI, Zolotova NA, Khochanskiy DN, et al. The modelling of acute and chronic colitis in mice. *Treatment and Prophylaxis*. 2013;7 (3):148-159. Russian.

16. Lishmanov YuB, Maslov LN, Naryzhnaya NV, et al. Endogenous opioid system as a mediator of acute and long-term adaptation to stress. Prospects for clinical use of opioid peptides. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012;67(6):73-82. Russian.

17. Motov VS, Bykova AV, Bykov VV, et al. Protective activity of aminoguanidine derivate on the model of ulcerative colitis in rats. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2021;84(5):6-10. Russian. DOI: <http://doi.org/10.30906/0869-2092-2021-84-5-6-10>

18. Lipatov VA, Severinov DA, Kryukov AA, et al. Ethical and legal aspects of in vivo experimental biomedical research. Part I. I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald. 2019;27(1):80-92. Russian. DOI: <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ201927180-92>

19. Lipatov VA, Severinov DA, Kryukov AA, et al. Ethical and legal aspects of in vivo experimental biomedical research. Part II. I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald. 2019;27(2):245-257. Russian. DOI: <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2019272245-257>

20. Derkacz A, Olczyk P, Olczyk K, et al. The role of extracellular matrix components in inflammatory bowel diseases. Journal of Clinical Medicine. 2021;10(5):1122. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm10051122>

21. Luo P, Li X, Gao Y, et al. Central administration of human opiorphin alleviates dextran sodium sulfate-induced colitis in mice through activation of the endogenous opioid system. Frontiers in Pharmacology. 2022;13:904926. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.904926>

22. Fan L, Qi Y, Qu S, et al. *B. adolescentis* ameliorates chronic colitis by regulating Treg/Th2 response and gut microbiota remodeling. Gut Microbes. 2021;13(1):1-17. DOI: <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1826746>

23. Shamsheya AM, Hussein WM, Elnely DA, et al. Serum matrix metalloproteinase-9 concentration as a marker of disease activity in patients with inflammatory bowel disease. European Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2021;31(Suppl.1):e803-e809. DOI: <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000002264>

24. Raeeszadeh-Sarmazdeh M, Do LD, Hritz BG. Metalloproteinases and their inhibitors: potential for the development of new therapeutics. Cell. 2020;9(5):1313. DOI: <https://doi.org/10.3390/cell9051313>

25. Lashgari N-A, Roudsari NM, Zandi N, et al. Current overview of opioids in progression of inflammatory bowel disease; pharmacological and clinical considerations. Molecular Biology Reports. 2021;48(1):855-874. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-020-06095-x>

26. DiCello JJ, Saito A, Rajasekhar P, et al. Inflammation-associated changes in DOR expression and function in the mouse colon. American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology. 2018;315(4):G544-559. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00025.2018>

27. Bobo TR, Fitzpatrick LR, Whitcomb TC, et al. Role of the δ -Opioid Receptor in 2 Murine Models of Colitis. Comparative Medicine. 2020;70(1):25-34. DOI: <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-19-00002>

28. Ronsisvalle S, Spadaro A, Tomasello B, et al. Molecular modeling and biological studies show that some μ -opioid receptor agonists might elicit analgesia acting as MMP-9 inhibitors. Future Medicinal Chemistry. 2019;11(11):1245-1258. DOI: <https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0535>

29. Huang H-M, He X-H, Huang X-Y, et al. Down-regulation of kappa opioid receptor promotes ESCC proliferation, invasion and metastasis via the PDK1-AKT signaling pathway. Cell Communication and Signaling. 2022;20(1):35. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12964-022-00833-3>

Статья поступила в редакцию 9 февраля 2024 г.
Поступила после доработки 20 апреля 2024 г.
Принята к печати 14 мая 2024 г.

Received 9 February 2024
Revised 20 April 2024
Accepted 14 May 2024

Информация об авторах

Андрей Юрьевич Ляшев, младший научный сотрудник лаборатории доклинических исследований лекарственных средств НИИ экспериментальной медицины ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: liashhev@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7170-0416>.

Галина Сергеевна Маль, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: malgs@kursksmu.net, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2723-781X>.

Елена Борисовна Артюшкова, доктор биологических наук, доцент, директор НИИ экспериментальной медицины ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: eartyushkova@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3777-6622>.

Мария Алексеевна Баланина, студент ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: balanina99@list.ru, ORCID: <http://orcid.org/0009-0005-2046-7622>.

Information about the authors

Andrei Yu. Liashev, Junior Researcher at the Laboratory of Preclinical Drug Research, Research Institute of Experimental Medicine, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: andr.liashev@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7170-0416>.

Galina S. Mal, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Pharmacology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: malgs@kursksmu.net, ORCID: [http://](http://orcid.org/0000-0003-2723-781X)

orcid.org/0000-0003-2723-781X.

Elena B. Artyushkova, Doct. Sci. (Biology), Associate Professor, Director, Research Institute of Experimental Medicine, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: eartyushkova@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3777-6622>.

Mariya A. Balanina, Student, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: balanina99@list.ru, ORCID: <http://orcid.org/0009-0005-2046-7622>.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА
MEDICINE



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-7

УДК 612.391.4; 612.391.6

Eating disorders: neuroendocrine changes and potential treatments (review)

Pavel I. Letyagin¹ , Ludmila N. Stankevich² , Taisiia A. Ulianova³

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences,
6 Makarov Emb., Saint-Petersburg, 199034, Russia

² Saint-Petersburg State University,
7-9 University Emb., Saint-Petersburg, 199034, Russia

³ Potsdam University,
10 Am Neuen Palais, Potsdam, 14469, Germany

Corresponding author: Pavel I. Letyagin (letyagin.ps@gmail.com)

Abstract

Background: Eating disorders (EDs) are a group of conditions with an unknown etiology, which is why a comprehensive therapy program is not yet available. The high prevalence and mortality rates underline the interest and necessity of studying this disorder. Recently, accumulating data suggests potential options for hormonal therapy, both conducted on animals and humans. **The aim of the study:** The exploration of potential hormonal therapy for the treatment of EDs, analysis and synthesis of current approaches to treating hormonal and psychophysiological disturbances in EDs, as well as a review of research conducted on model objects. **Materials and methods:** In this study a comprehensive literature review to gather relevant articles and research papers was conducted. Various bibliographic databases, including Google Scholar, Web of Science, Scopus and etc. were utilized. The search was performed using a combination of key words related to the topic of EDs: eating disorders, hormonal disturbances in EDs, model organisms for studying EDs, and specific queries related to hormones, receptors, and animal models. **Results:** Current study presents the main hormonal disturbances involved in the development and maintenance of EDs. Various animal models of EDs are presented, along with the use of agonists of key hormones in animal subjects. Additionally, investigations of the medications *relamorelin* and *metreleptin* in humans were also included. **Conclusion:** The effectiveness of hormonal therapy in humans indicates significant improvement in overall condition within relatively short periods. However, such studies are conducted on insufficient sample sizes for representativeness and require comprehensive double-blind placebo-controlled trials to confirm the efficacy and safety of this therapy.

Keywords: eating disorders (EDs); activity-based anorexia (ABA); ghrelin; leptin; anorexia

For citation: Letyagin PI, Stankevich LN, Ulianova TA. Eating disorders: neuroendocrine changes and potential treatments (review). Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):578-588. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-7

Introduction. The problem of nervous anorexia has become increasingly relevant in recent years due to the rise in the number of cases among children and adolescents, as well as the insufficient effectiveness of treatment measures. Eating disorders (EDs) are spreading due to the higher socioeconomic status across all layers of the population in developed and developing countries. Available epidemiological data indicate a low likelihood of full recovery in EDs, as individuals with this disorder continue to hold distorted perceptions of their own body, experience disordered eating patterns, and exhibit associated psychological and psychiatric problems. For example, body dysmorphic disorder, dysthymia, dependence on drugs used in psychopharmacotherapy such as neuroleptics, tranquilizers, and antidepressants. It is also worth considering that EDs can be components of other mental disorders. In the EU countries, approximately 1 trillion euros are spent annually on the treatment of EDs [1]. The estimated prevalence of EDs among school children is 13%, with girls being 10 times more likely to be affected than boys. The average age of onset for these disorders is 12.5 years [2] In conjunction with the high percentage of fatalities, this trend underscores the need to establish the pathogenesis and nosology of this disorder. Interest among researchers from various fields in EDs is increasing each year. However, specific biological and psychological causes for the onset and development of this disorder have not yet been established, and as a result, comprehensive rehabilitation programs are lacking. Approximately 46% of patients with anorexia nervosa are capable of achieving full recovery, around one-third experience partial recovery, and approximately 20% progress to a chronic form with persistent cycles of remission and relapse [3]. The outlook for treating anorexia nervosa relies on the timely identification of the disorder and its related complications, the appropriate decisions made by healthcare professionals, and the patient's willingness to engage in therapy and actively pursue recovery. Moreover, data suggests that the duration of anorexia nervosa directly correlates with an increased risk of patient mortality [4]. Generally, death

occurs as a result of comorbidities or suicide. It is also important to understand that EDs are not isolated conditions; for certain diseases, the likelihood of developing an ED increases, such as in type 1 diabetes where EDs are more prevalent [5].

The aim of the study. The exploration of potential hormonal therapy for the treatment of EDs, analysis and synthesis of current approaches to treating hormonal and psychophysiological disturbances in EDs, as well as a review of research conducted on model objects.

Materials and methods. The study used and analyzed a total of 54 articles, including 3 Russian-language and 51 English-language publications. The selection of literature sources was conducted using the bibliographic databases, such as Google Scholar, Web of Science, Scopus, DBLP, Medline, PubMed, Elibrary, ResearchGate and etc. by combination of key words. The keywords included: eating disorders, hormonal disturbances in EDs, model organisms for studying EDs, and specific queries related to hormones, receptors, and animal models. The study considered works conducted solely in the fields of physiology or psychiatry, as well as those carried out with an interdisciplinary approach, which held the greatest interest. This review encompasses physiological, biochemical, psychiatric, and psychological indicators of the effectiveness of ED therapy methods. It also includes a synthesis of anorexia nervosa models in experimental subjects and provides a brief characterization of their advantages and limitations.

Regulatory peptides in the pathogenesis of anorexia nervosa. While investigating the secretion patterns of ghrelin, leptin, and neuropeptide Y, substantial evidence was discovered, supporting the existence of feedback mechanisms that play a crucial role in regulating eating behavior. There is a hypothesis suggesting that the concentration of leptin in the bloodstream is not only responsible for regulating daily energy intake but also plays a role in the circadian rhythms of ghrelin and neuropeptide Y secretion [6]. Other hormones, such as amylin, brain-derived neurotrophic factor, and others, are also involved in the regulation

of eating behavior. These hormones have an impact on maintaining EDs and contribute to the development of various psychological disturbances, which will be discussed further.

Ghrelin. Ghrelin, a 28-amino acid peptide, functions as the natural ligand for the growth hormone secretagogue receptor-1a, which, in turn, stimulates the secretion of growth hormone [7]. Ghrelin plays an important role in several physiological processes, including increasing appetite by stimulating the production of orexigenic neurons such as neuropeptide Y and agouti-related protein (AgRP). Furthermore, studies have revealed that individuals suffering from anorexia nervosa exhibit notably elevated levels of ghrelin in their plasma compared to those without the disorder [8, 9]. However, the effects of ghrelin go beyond appetite control and food intake; they also include modulation of reward-related behavior through the mesocorticolimbic dopaminergic system [10]. Patients with anorexia nervosa exhibit altered reward processing, including abnormal brain responses to food. Moreover, it has been shown that changes in leptin and ghrelin occurring during the acute phase of anorexia nervosa may sustain aberrant behavior [11]. Additionally, it has been found that patients with anorexia have significantly higher levels of ghrelin in their plasma compared to patients without anorexia. However, despite the elevated ghrelin levels, patients are unable to increase their food intake. Clinical trials involving ghrelin and ghrelin agonists have demonstrated encouraging outcomes in enhancing appetite, increasing food intake, promoting lean body mass, and improving the overall quality of life in patients affected by cancer cachexia [12]. However, in two recent substantial randomized double-blind phase III trials, significant effects on physical functioning and survival were not demonstrated [13]. The impact of ghrelin on appetite regulation has been associated with active ghrelin, although the primary form of ghrelin found in the bloodstream is des-acyl ghrelin. In a study conducted by Garcia et al. [14], it was observed that subjects experiencing cancer-induced cachexia displayed notably higher levels of active ghrelin and a higher ratio of active ghrelin

to total ghrelin compared to both cancer patients without cachexia and a control group unrelated to cancer. However, there is increasing evidence that des-acyl ghrelin (DAG) is also closely associated with food intake and gastrointestinal motility. Specifically, patients with anorexia nervosa have higher levels of ghrelin in their plasma [15]. It is essential to acknowledge that the absolute concentrations of ghrelin detected in plasma can vary depending on the analytical method employed. Therefore, caution must be exercised when comparing absolute values obtained in a study with previously reported literature data on ghrelin levels, using different methods. In the case of anorexia nervosa, data may vary due to small sample sizes. In an analytical review, it was shown that exogenous ghrelin or ghrelin receptor agonists may improve the course of anorexia nervosa by stimulating appetite and reducing gastric discomfort, leading to increased energy intake and body weight. However, since these findings were obtained from small pilot studies, these effects need to be confirmed or refuted in larger clinical studies [16]. The inability of anorexia nervosa patients to respond to increased ghrelin levels may be related to decreased expression, sensitivity, or function of the ghrelin receptor GHS-R1. However, the exact cause of disrupted ghrelin signaling in anorexia nervosa has not been elucidated to date. Thus, several studies have provided data suggesting that elevated ghrelin levels in the acute phase of anorexia nervosa may be an ineffective compensatory mechanism during chronic starvation. However, recent research on underweight anorexia nervosa patients has shown that certain ghrelin agonists (e.g., relamorelin) can help restore ghrelin sensitivity, increase hunger sensation, and lead to weight gain after a short treatment period [17]. Currently, relamorelin is actively being developed in phase I and II clinical trials for the treatment of diabetic gastroparesis [18]. Over the past years, accumulating data indicating the development of gastroparesis in patients who have been taking opioid medications for an extended period [19]. Therefore, research on relamorelin as a potential therapy for anorexia

nervosa not only contributes to the development of new treatment methods for anorexia nervosa but also opens up possibilities for potential combination therapy in opioid therapy programs for agitation.

Leptin. Leptin is a peptide hormone primarily synthesized by white and brown adipose tissue cells. It is important to note that leptin concentration positively correlates with the amount of adipose tissue, thereby transmitting information to the brain about the level of fat stores in the body [20]. Leptin acts as an afferent signal in a negative feedback loop that maintains homeostatic control of adipose tissue mass and links changes in energy stores to a set of adaptive physiological responses. Leptin receptors (LepR) have several isoforms in humans, but it is through the LepRb isoform that intracellular signaling occurs. Leptin regulates the activity of key neural populations in the arcuate nucleus of the hypothalamus, where it inhibits orexigenic neuropeptide Y (NPY)/agouti-related peptide (AGRP) neurons while simultaneously stimulating anorexigenic pro-opiomelanocortin (POMC) neurons [21]. The loss of adipose tissue in individuals with anorexia nervosa leads to a decrease in circulating leptin levels derived from adipocytes. Subsequent hypoleptinemia represents a key endocrine feature of this ED and serves as a major signal for adaptation to starvation [22]. Amenorrhea, hematological changes, depressed mood, cognitive rigidity, and repetitive thoughts about food are clinically significant examples of starvation-related symptoms that may be caused or exacerbated by hypoleptinemia [23]. There is evidence linking weight loss in individuals with EDs, including anorexia nervosa, to the duration of the illness mediated by decreased leptin levels [24]. For example, in a study by Keel [25], significant associations were found between more pronounced weight suppression and lower leptin concentrations in a sample of 53 women with bulimia nervosa and purging disorder, indicating that leptin mediated the relationship between weight suppression and illness duration. Leptin tends to decrease the motivation for food seeking by modulating the activity of the mesolimbic dopamine system in response to

food cues or odors. A large population of dopaminergic neurons in the nucleus accumbens (NAc) is innervated by GABAergic neurons in the adjacent nucleus, which express LepRb receptors in the ventral tegmental area. Leptin enhances the activity of these GABAergic neurons, thereby inhibiting dopaminergic neurons in the adjacent nucleus. Additionally, in a study on transgenic mice [26], it was found that leptin inhibits neurons in the hypothalamus that express LepR and project to the ventral tegmental area (VTA). However, activation of LepR-expressing neurons in the lateral hypothalamus increases motivation for food reward only when mice are in a positive energy balance state. In anorexia nervosa, hyperactivity is observed, which is also evident in animal models [27]. In relation to this, research studies are emerging with the aim of potential treatment for EDs using metreleptin. Metreleptin is a recombinant analog of human leptin that is used for the treatment of metabolic disorders in congenital or acquired generalized lipodystrophy, as well as in patients with congenital leptin deficiency. It has been shown to rapidly reduce hunger and induce significant weight loss over time, as well as normalize metabolic and hormonal functions. In a study by Milos et al. [28], involving three individuals with anorexia nervosa, the authors reported results indicating a decrease in repetitive thoughts about food, internal restlessness, and fear of weight in two patients. The manifestation of depression decreased in all patients, and no serious adverse events occurred. Furthermore, there is information about a clinical case of a male adolescent treated with metreleptin [29]. The authors noted that during the observation period, the target weight was achieved, mood did not worsen, and hyperactivity ceased. The findings of these studies are of interest for further research on larger sample sizes. Hebebrand's work [23] provides a list of the most common side effects during treatment with metreleptin: development of antibodies to metreleptin, headache, nausea, hypoglycemia, weight loss and increased risk of infections. At the same time, attention is paid to the fact that the initiation of treatment with metreleptin will be ac-

accompanied by an increase in food consumption, which complicates therapy in individuals with EDs.

Amylin. Amylin is synthesized in the beta cells of the pancreas and in the lateral part of the hypothalamus, which is involved in metabolic control. The function of amylin is to serve as a satiety signal – chronic administration of amylin has been shown to reduce food intake and consequently decrease body weight [30]. The following brain structures are involved in the effect of amylin on food intake: the area postrema and the nucleus of the solitary tract [31]. Control of food intake is regulated by two pathways – the hedonic pathway, which acts through the reward system, and the homeostatic pathway, which involves the hypothalamus. Reward in the control of food behavior can be interpreted as the "desire" for specific foods, and this behavioral response is mediated by the modulation of the mesolimbic dopamine system – by altering dopamine synthesis levels in the ventral tegmental area, whose neurons project to the nucleus accumbens. The study on a sample of women with bulimia nervosa and women with purging disorder, which involves behaviors such as self-induced vomiting, suggests that individuals with bulimia nervosa experience reduced satiety after eating, potentially contributing to a propensity for consuming large amounts of food during binge eating episodes [32]. In contrast, purging disorder is characterized by excessive fullness and urges to vomit after consuming a normal amount of food [33]. Amanda et al.'s study [34] aimed to investigate the relationship between food intake and the release of insulin or amylin with changes in eating behavior in individuals with bulimia nervosa or purging disorder. Participants were offered a meal (900 kcal), after which they completed questionnaires to provide subjective reports of hunger, satiety, nausea, stomach pain, binge urges, and vomiting urges. Blood samples were also collected twice: before the meal and after it, for further analysis. After the test breakfast, vomiting urges increased and then gradually decreased. Insulin was significantly and positively associated with vomiting urges. However, no significant statistical differences were

found between the group of 19 women with bulimia nervosa and the control group of 14 women without EDs regarding the role of amylin in the manifestation of purging behaviors. The authors of this study suggest that increased sensitivity to the effects of insulin on subjective experiences may be associated with destructive behaviors, while differences in the release of insulin and amylin may contribute to differences in the amount of food preceding purging in purging disorder compared to bulimia nervosa. Recently, abnormalities in central and peripheral regulatory peptides have been a topic of discussion regarding the development of anorexia nervosa [35]. These regulatory proteins play a vital role in monitoring food intake, primarily in the hypothalamus, where they influence the homeostatic control of feeding. Additionally, their receptors in the cortico-limbic system can also impact the consumption of non-homeostatic food. Higher-order brain structures associated with emotions, motivation, physical activity, and reward evaluation are also essential in regulating food intake and contribute to the etiology of anorexia nervosa.

Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and oxytocin. BDNF and oxytocin are neuropeptides with important roles in regulating various physiological processes, including food intake and metabolism. These neuropeptides have also been linked to affective and cognitive symptoms in different psychiatric disorders. In a study [36], researchers aimed to measure the serum levels of BDNF, its receptor (TrkB), and oxytocin in underweight patients with anorexia nervosa (AN) and after partial weight restoration. The findings showed significant negative correlations between BDNF levels and the severity of EDs symptoms. However, there were no significant correlations observed between the levels of these neuropeptides and depressive or obsessive-compulsive symptoms in either underweight or partially weight-restored patients with anorexia nervosa. It was found that OXY levels in the serum of underweight anorexia nervosa patients increased the levels of BDNF did not return to normal even after partial

weight restoration, supporting previous hypotheses regarding its involvement in the development of anorexia nervosa. This suggests that BDNF might be linked to abnormal eating behavior in individuals with anorexia nervosa. It is worth noting that the study in question investigated the roles of OXY, BDNF, and TrkB in adult patients with anorexia nervosa. However, it remains uncertain whether the mechanisms involved in the regulation of food intake in developing adolescents are the same as those observed in adults. Nevertheless, studying groups of adolescents may provide insights into different regulatory mechanisms, including neuroplastic changes resulting from prolonged illness duration.

Animal models mimicking anorexia nervosa. The main mechanism and pathogenesis of anorexia nervosa are still not fully understood. Treatment options remain limited, primarily consisting of nutritional support, psychotherapy, and pharmacotherapy, with a high frequency of relapse. To better understand the underlying pathophysiology of anorexia nervosa and investigate potential treatment approaches, various animal models resembling the characteristics of anorexia nervosa have been created. These models offer valuable insights into the condition and serve as valuable tools for further research. Researchers frequently endeavor to create animal models of diseases as a means to comprehend the fundamental neurobiological mechanisms that underlie these conditions, providing a conceptual understanding of the subject under investigation. Various animal models resembling anorexia nervosa have been employed to better understand the underlying pathophysiology of EDs and to investigate potential treatment approaches [37]. The activity-based anorexia model is the most widely utilized animal model, with 75 studies employing it. In this model, young rodents are typically exposed to time-restricted access to food (limited hours per day) while having unrestricted access to a running wheel. Additionally, the "anxious" mouse model, among the genetically modified animal models, holds particular significance and is a subject of special interest in research

[38]. Study using animal models has contributed significantly to understanding hunger and satiety mechanisms, physical activity and cognition in a state of reduced body weight, and other mechanisms related to anorexia nervosa in humans. A systematic review of animal models for anorexia nervosa [38] examined various animal species. In these studies, eighteen different animal models of anorexia nervosa were utilized. For example, in the calorie restriction model, calorie restriction was used as a means to investigate the cognitive and behavioral effects of body weight loss in animals. In one study [39], caloric intake in mice was reduced to 60% and 40% of their original calorie consumption. In another study, the mice's caloric intake was reduced to 40% of the food intake of control animals [40]. In other studies, a time-restricted access to food model was employed. Weight loss in mice was achieved by reducing the time of access to food to 2.5 hours per day [41] or gradually reducing it to 2 hours per day [42]. Many studies evaluating animal models of anorexia nervosa have assessed various parameters, including changes in body weight, food intake, physical activity, cessation of estrous cycle in female animals, behavioral alterations, and metabolic and hormonal changes.

Multiple animal models of anorexia nervosa have been developed, representing different approaches to defining the nosology of EDs. In the mentioned review, 18 different animal models were identified and described. Among genetic animal models, the anxiety/distress model is particularly intriguing. In this model, researchers have made fascinating discoveries regarding the impact of hunger/satiety regulatory peptides like neuropeptide Y and agouti-related peptide. One advantage of this model is that the animals have unrestricted access to food but still experience weight loss, effectively mimicking one of the symptoms of anorexia nervosa. However, a limitation of the model is that the animals display numerous other neurological changes along with reduced food intake, and they generally have a short survival time [38]. Consequently, numerous researchers have reached the conclusion that

the genetic expression profile and phenotype exhibited in these animal models bear a closer resemblance to cachexia syndromes observed in conditions like cancer or chronic diseases rather than anorexia nervosa [43]. The activity-based anorexia (ABA) model is the most frequently employed animal model for investigating anorexia nervosa. This model replicates several aspects of the disorder, such as body weight loss, heightened physical activity, cessation of the estrous cycle in females, and changes in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis [38]. However, two factors that have not been adequately represented in this model are genetic predisposition, which increases the risk of developing anorexia nervosa, and the psychosocial factor, which plays a crucial role in patients with the disorder both at onset and throughout its development. In the ABA model, specific neurocognitive and behavioral changes have been observed, including anxiety-like behavior, where estrogen reduction can further exacerbate anxiety [44]. Additionally, individual rats' level of anxiety-like behavior can correlate with their physical activity during running. Neuroendocrine alterations observed in the ABA model encompass an up-regulation of $\alpha 4$ GABA receptors in the hippocampus and amygdala [45, 46], as well as modifications leading to reduced cell proliferation in the hippocampus, as well as decreased astrocyte density and reduced volume of the cerebral cortex and amygdala [47]; all of which can be fully reversible upon refeeding [48]. Several studies have investigated the effects of various compounds on ABA, including chlorpromazine [49], fluoxetine [50], olanzapine [51], amisulpride, and cis-flupenthixol [52], which have been shown to reduce ABA symptoms, suggesting potential directions for future research on pharmacological interventions in the treatment of anorexia nervosa.

Results. The medication relamorelin has shown promise in restoring sensitivity to ghrelin and enhancing feelings of hunger, resulting in weight gain after a short period of treatment. Metreleptin has also shown improvements in the somatic and psychological state of patients. The effects observed with

these therapeutic approaches indicate significant improvement in patients' condition within a short timeframe.

Discussion. Patients with anorexia nervosa experience a multitude of hormonal disturbances that contribute to the maintenance of the disorder and future relapses. These hormonal imbalances need to be considered when selecting treatment approaches. Several studies have already explored the use of different medications in animal models, most of which are neuroleptics such as fluoxetine, olanzapine, amisulpride, and cis-flupenthixol. These drugs have shown efficacy in treating and alleviating symptoms in animal models of EDs. However, it should be noted that findings from animal models may not directly translate to humans, as these models have certain assumptions and limitations that only approximate the symptomatology of anorexia nervosa. Nonetheless, this field holds great potential for development as the demand for anorexia nervosa therapy continues to rise each year and is expected to increase further. Currently, it is impossible to fully meet this demand due to the lack of a comprehensive therapeutic approach that includes both psychopharmacotherapy and psychotherapy in sufficient quantity and quality. Additionally, there are studies investigating the use of hormone agonists in the treatment of anorexia nervosa. These studies have been conducted on a limited sample size, ranging from 1 to 3 individuals, and represent an exploration of potential treatment methods. Potentially, fundamentally new opportunities for the treatment of EDs can be achieved through the development of ghrelin antagonists. It is possible that the hopes placed on these antagonists will be justified. The existing knowledge about the effects of ghrelin provides insights into various aspects of metabolic and appetite regulation. Considering the orexigenic effect of ghrelin, appetite agonists or antagonists could be utilized as novel therapeutic agents for EDs. As stated earlier, AN is characterized by various hormonal imbalances, however, this aspect is well researched in women, but virtually unreported among men and other gender minorities [53], since these groups are the least represented in the clinical picture of EDs.

Resolving the complex genesis of EDs requires the collaboration of medicine and other specialists, particularly psychologists and psychotherapists, who work on addressing the causes that initiate and sustain disordered eating behaviors.

Conclusion. In conclusion, this study aimed to investigate the potential of hormonal therapy in the treatment of EDs. The current strategies for managing hormonal and psychophysiological disruptions in EDs, as well as a review of research involving model organisms were combined and analyzed. The positive outcomes of hormonal therapy in humans suggest substantial enhancements in overall well-being over a relatively short timeframe.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Schmidt U, Adan R, Bohm I, et al. Eating disorders: the big issue. *The Lancet Psychiatry*. 2016;3:313-315. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00081-X](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00081-X)
2. Musatova LA, Krasnova LI, Borisova AM, et al. Features of eating disorders prevalence among adolescents in Penza. University proceedings. Volga region. Medical sciences. 2023;1:49-58. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21685/2072-3032-2023-1-5>
3. Arcelus J, Mitchell AJ, Wales J, et al. Mortality rates in patients with anorexia nervosa and other eating disorders a meta-analysis of 36 studies. *Archives of General Psychiatry*. 2011;68(7):724-731. DOI: <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.74>
4. Zakharova LI. Anorexia nervosa: prevalence, diagnostic criteria and psychosomatic relations (review). *Research Results in Biomedicine*. 2019;5(1):108-121. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-8>
5. Pursey KM, Hart M, Jenkins L, et al. Screening and identification of disordered eating in people with type 1 diabetes: a systematic review. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2020;34(4):107522. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2020.107522>
6. Dube MG, Beretta E, Dhillon H, et al. Central leptin gene therapy blocks high fat diet-induced weight gain, hyperleptinemia and hyperinsulinemia: effects on serum ghrelin levels. *Diabetes*. 2002;51(6):1729-1736. DOI: <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.6.1729>
7. Kojima M, Hosoda H, Matsuo H, et al. Ghrelin: a growth hormone-releasing acylated peptide from the stomach. *Nature*. 1999;402(6762):656-660. DOI: <https://doi.org/10.1038/45230>
8. Rossi E, Cassioli E, Gironi V, et al. Ghrelin as a possible biomarker and maintaining factor in patients with eating disorders reporting childhood traumatic experiences. *European Eating Disorders Review*. 2021;29(4):588-599. DOI: <https://doi.org/10.1002/erv.2831>
9. Seidel M, Markmann SJ, Healy D, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis Finds Increased Blood Levels of All Forms of Ghrelin in Both Restricting and Binge-Eating/Purging Subtypes of Anorexia Nervosa. *Nutrients*. 2021;13(2):709. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13020709>
10. Müller TD, Nogueiras R, Andermann ML, et al. Ghrelin. *Molecular Metabolism*. 2015;4(6):437-460. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.03.005>
11. Monteleone AM, Castellini G, Volpe U, et al. Neuroendocrinology and brain imaging of reward in eating disorders: A possible key to the treatment of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2018;80(Part B):132-142. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.02.020>
12. Blauwhoff-Buskermolen S, Langius JAE, Heijboer AC, et al. Plasma ghrelin levels are associated with anorexia but not cachexia in patients with NSCLC. *Frontiers in Physiology*. 2017;8:119. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00119>
13. Temel JS, Abernethy P, Currow DC, et al. Anamorelin in patients with non-small-cell lung cancer and cachexia (ROMANA 1 and ROMANA 2): results from two randomised, double-blind, phase 3 trials. *The Lancet Oncology*. 2016;17(4):519-531. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00558-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00558-6)
14. Garcia JM, Garcia-Touza M, Hijazi RA, et al. Active ghrelin levels and active to total ghrelin ratio in cancer-induced cachexia. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*.

- 2005;90(5):2920-2926. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2004-1788>
15. Chen CY, Asakawa A, Fujimiya M, et al. Ghrelin gene products and the regulation of food intake and gut motility. *Pharmacological Reviews*. 2009;61(4):430-481. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.109.001958>
16. Schalla MA, Stengel A. The Role of Ghrelin in Anorexia Nervosa. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(7):2117. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19072117>
17. Fazeli PK, Lawson EA, Faje AT, et al. Treatment with a ghrelin agonist in outpatient women with anorexia nervosa: A randomized clinical trial. *Journal of Clinical Psychiatry*. 2018;79(1):1-16.
18. Ahmedov VA. Motor disorders of the digestive tract: therapy with prokinetics. *Russian Medical Inquiry*. 2022;6(5):252-257. Russian. DOI: <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2022-6-5-252-258>
19. Hasler WL, Wilson LA, Nguyen LA, et al. Opioid Use and Potency Are Associated With Clinical Features, Quality of Life, and Use of Resources in Patients With Gastroparesis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2019;17(7):1285-1294. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.10.013>
20. Smith PM, Brzezinska P, Hubert F, et al. Leptin influences the excitability of area postrema neurons. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. 2016;310(5):440-448. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00326.2015>
21. Friedman JM. Leptin and the endocrine control of energy balance. *Nature Metabolism*. 2019;1(8):754-764. DOI: <https://doi.org/10.1038/s42255-019-0095-y>
22. Friedman J. The long road to leptin. *Journal of Clinical Investigation*. 2016;126(12):4727-4734. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI91578>
23. Hebebrand J, Milos G, Wabitsch M, et al. Clinical trials required to assess potential benefits and side effects of treatment of patients with anorexia nervosa with recombinant human leptin. *Frontiers in Psychology*. 2019;10:769. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00769>
24. Lee DJ, Elias GJB, Lozano AM. Neuro-modulation for the treatment of eating disorders and obesity. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*. 2018;8(2):73-92. DOI: <https://doi.org/10.1177/2045125317743435>
25. Keel PK, Bodell LP, Haedt-Matt AA, et al. Weight suppression and bulimic syndrome maintenance: Preliminary findings for the mediating role of leptin. *International Journal of Eating Disorders*. 2017;50(12):1432-1436. DOI: <https://doi.org/10.1002/eat.22788>
26. de Vrind VAJ, Rozeboom A, Wolterink-Donselaar IG, et al. Effects of GABA and Leptin Receptor-Expressing Neurons in the Lateral Hypothalamus on Feeding, Locomotion, and Thermogenesis. *Obesity*. 2019;27(7):1123-1132. DOI: <https://doi.org/10.1002/oby.22495>
27. Barrios-Correa AA, Estrada JA, Contreras I. Leptin signaling in the control of metabolism and appetite: lessons from animal models. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2018;66:390-402. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12031-018-1185-0>
28. Milos G, Antel J, Kaufmann LK, et al. Short-term metreleptin treatment of patients with anorexia nervosa: rapid on-set of beneficial cognitive, emotional, and behavioral effects. *Translational Psychiatry*. 2020;10(1):303. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-020-00977-1>
29. Antel J, Tan S, Grabler M, et al. Rapid amelioration of anorexia nervosa in a male adolescent during metreleptin treatment including recovery from hypogonadotropic hypogonadism. *European Child and Adolescent Psychiatry*. 2022;31:1573-1579. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00787-021-01778-7>
30. Lutz TA. Control of energy homeostasis by amylin. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2012;69(12):1947-1965. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0905-1>
31. Potes CS, Lutz TA. Brainstem mechanisms of amylin-induced anorexia. *Physiology and Behavior*. 2010;100(5):511-518. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.03.001>
32. Keel PK, Haedt-Matt AA, Hildebrandt B, et al. Satiety deficits and binge eating: Probing differences between bulimia nervosa and purging disorder using an ad lib test meal. *Appetite*. 2018;127:119-125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.appet.2018.04.009>
33. Keel PK, Eckel LA, Hildebrandt BA, et al. Disturbance of gut satiety peptide in purging disorder. *International Journal of Eating Disorders*. 2018;51(1):53-61. DOI: <https://doi.org/10.1002/eat.22806>
34. Dossat AM, Bodell LP, Williams DL, et al. Preliminary examination of glucagon-like peptide-1 levels in women with purging disorder and bulimia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*. 2015;48(2):199-205. DOI: <https://doi.org/10.1002/eat.22264>

35. Duriez P, Ramoz N, Gorwood P, et al. A metabolic perspective on reward abnormalities in anorexia nervosa. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2019;30(12):915-928. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.08.004>
36. Tyszkiewicz-Nwafor M, Rybakowski F, Dmizak-Weglarz, et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor and Oxytocin Signaling in Association With Clinical Symptoms in Adolescent Inpatients With Anorexia Nervosa - A Longitudinal Study. *Frontiers in Psychiatry*. 2020;10:1032. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.01032>
37. Mequinion M, Chauveau C, Viltart O. The use of animal models to decipher physiological and neurobiological alterations of anorexia nervosa patients. *Frontiers in Endocrinology*. 2015;6:68. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00068>
38. Scharner S, Stengel A. Animal Models for Anorexia Nervosa - A Systematic Review. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2021;14:596381. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.596381>
39. Avraham Y, Bonne O, Berry EM. Behavioral and neurochemical alterations caused by diet restriction - the effect of tyrosine administration in mice. *Brain Research*. 1996;732(1-2):133-144. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00514-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00514-8)
40. Campos GV, de Noronha SR, de Souza AA, et al. Estrogen receptor beta activation within dorsal raphe nucleus reverses anxiety-like behavior induced by food restriction in female rats. *Behavioural Brain Research*. 2019;357-358:57-64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.03.029>
41. Avraham Y, Paturski I, Magen I, et al. 2-Arachidonoylglycerol as a possible treatment for anorexia nervosa in animal model in mice. *Brain Research*. 2017;1670:185-190. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.06.003>
42. Mequinion M, Le Thuc O, Zgheib S, et al. Long-term energy deficit in mice causes long-lasting hypothalamic alterations after recovery. *Neuroendocrinology*. 2017;105(4):372-383. DOI: <https://doi.org/10.1159/000455048>
43. Mercader JM, Saus E, Agüera Z, et al. Association of NTRK3 and its interaction with NGF suggest an altered cross-regulation of the neurotrophin signaling pathway in eating disorders. *Human Molecular Genetics*. 2008;17(9):1234-1244. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn013>
44. Kinzig KP, Hargrave SL. Adolescent activity-based anorexia increases anxiety-like behavior in adulthood. *Physiology and Behavior*. 2010;101(2):269-276. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.05.010>
45. Aoki C, Sabaliauskas N, Chowdhury T, et al. Adolescent female rats exhibiting activity-based anorexia express elevated levels of GABA A receptor $\alpha 4$ and δ subunits at the plasma membrane of hippocampal CA1 spines. *Synapse*. 2012;66(5):391-407. DOI: <https://doi.org/10.1002/syn.21528>
46. Wable GS, Barbarich-Marsteller NC, Chowdhury TG, et al. Excitatory synapses on dendritic shafts of the caudal basal amygdala exhibit elevated levels of GABA A receptor $\alpha 4$ subunits following the induction of activity-based anorexia. *Synapse*. 2014;68(1):1-15. DOI: <https://doi.org/10.1002/syn.21690>
47. Frintrop L, Liesbrock J, Paulukat L, et al. Reduced astrocyte density underlying brain volume reduction in activity-based anorexia rats. *World Journal of Biological Psychiatry*. 2018;19(3):225-235. DOI: <https://doi.org/10.1080/15622975.2016.1273552>
48. Frintrop L, Trinh S, Liesbrock J, et al. The reduction of astrocytes and brain volume loss in anorexia nervosa - the impact of starvation and refeeding in a rodent model. *Translational Psychiatry*. 2019;9(1):159. DOI: <https://www.nature.com/articles/s41398-019-0493-7>
49. Adams KL, Parfeniuk GG, Eikelboom R. Chlorpromazine specifically prevents the wheel-induced feeding suppression in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2009;93(4):470-473. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2009.06.010>
50. Karth MD, Baugher BJ, Pallichia SA, et al. Brain serotonin deficiency and fluoxetine lead to sex-specific effects on binge-like food consumption in mice. *Psychopharmacology*. 2022;239(9):2975-2984. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00213-022-06181-x>
51. Kooij KL, Luijendijk MCM, Drost L, et al. Intranasal administration of olanzapine has a beneficial outcome in a rat activity-based anorexia model. *European Neuropsychopharmacology*. 2023;71:65-74. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2023.03.008>
52. Schalla MA, Stengel A. Activity-based anorexia as an animal model for anorexia nervosa – a systematic review. *Frontiers in Nutrition*. 2019;6:69. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00069>
53. Haines MS. Endocrine complications of anorexia nervosa. *Journal of Eating Disorders*.

2023;11:24. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40337-023-00744-9>

Received 18 July 2023

Revised 3 October 2023

Accepted 19 October 2023

Information about the authors

Pavel. I. Letyagin, Junior Researcher at the Laboratory of Physiology of Hearing, Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia, E-mail: letyagin.ps@gmail.com, ORCID: [https://](https://orcid.org/0000-0003-0138-4459)

orcid.org/0000-0003-0138-4459.

Ludmila N. Stankevich, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor at the Department of Physiology of Higher Nervous Activity and Psychophysiology, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia, E-mail: l.stankevich@spbu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6197-3266>.

Taisiia A. Ulianova, Research Assistant at the Potsdam Embodied Cognition Group, Potsdam University, Potsdam, Germany, E-mail: taisiiia.ulianova@uni-potsdam.de, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9561-5811>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-8

УДК 618.36-004

Возможности ранней диагностики поражений ЦНС плода в антенатальном периоде (обзор)

Т.Е. Белокриницкая , А.Г. Сидоркина , В.А. Мудров

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия»,
ул. Горького, д. 39а, г. Чита, 672000, Российская Федерация
Автор для переписки: В.А. Мудров (mudrov_viktor@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Поражение головного мозга плода во время беременности – это одна из основных причин смерти и инвалидности у детей раннего возраста, а также детского церебрального паралича. У детей с детским церебральным параличом наблюдаются двигательные нарушения различной степени выраженности, которые оказываются вторичными по отношению к поражениям или аномалиям головного мозга, возникающим в антенатальном периоде. **Цель исследования:** Анализ современных методов ранней диагностики поражений ЦНС плода в антенатальном периоде. **Материалы и методы:** Поиск в информационных базах по заданным ключевым словам: «плацентарная недостаточность», «магнитно-резонансная томография», «нейросонография плода», «ультразвуковая доплерография», «поражения головного мозга плода» выявил 1473 статьи, посвященные проблемам диагностики поражений ЦНС плода в антенатальном периоде. После исключения дублирующих публикаций (852) и публикаций давностью выхода более 10 лет (574) анализу подлежали 47 литературных источников. В исследовании использованы информационные базы: PubMed, PubMed Central, Scopus, MEDLINE, ScienceDirect, Cochrane Library, eLibrary за период с 2014 г. до ноября 2023 г. **Результаты:** Магнитно-резонансная томография (МРТ) позволяет определить у плода наличие врожденных аномалий развития ЦНС, аномалий белого вещества, количество дезоксигемоглобина в нервной ткани; а также выявить плацентарные нарушения. Нейросонография является методом пренатальной диагностики, который визуализирует внутримозговые кровоизлияния, структуру коры головного мозга, силвиевой борозды и мозолистого тела. Последовательное применение данных методов диагностики у пациенток группы риска способствует персонализации тактики ведения и родоразрешения, что в перспективе позволит снизить частоту неблагоприятных перинатальных исходов и потерь. **Заключение:** При помощи МРТ возможно провести не только оценку состояния ЦНС плода, но и получить представление о состоянии плаценты. Данный метод исследования позволит по-новому взглянуть на проблему хронической плацентарной недостаточности и более качественно оценить степень влияния плацентарных нарушений на состояние плода. Нейросонография, в свою очередь, является более доступным методом диагностики патологических состояний ЦНС плода, который тоже имеет высокую чувствительность в рамках выявления ишемически-гипоксического повреждения головного мозга в антенатальном периоде.

Ключевые слова: плацентарная недостаточность; гипоксически-ишемическое поражение головного мозга; магнитно-резонансная томография; нейросонография; ультразвуковая доплерография

Для цитирования: Белокриницкая ТЕ, Сидоркина АГ, Мудров ВА. Возможности ранней диагностики поражений ЦНС плода в антенатальном периоде (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2024;10(4):589-605. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-8

Possibilities for early diagnosis of fetal central nervous system lesions in the antenatal period (review)

Tatiana E. Belokrinskaya , Anastasia G. Sidorkina , Victor A. Mudrov 

Chita State Medical Academy,
39a Gorky St., Chita, 672000, Russia

Corresponding author: Victor A. Mudrov (mudrov_viktor@mail.ru)

Abstract

Background: Fetal brain damage during pregnancy is a major cause of neonatal death and disability, as well as infantile cerebral palsy. Infants with cerebral palsy experience motor impairments of varying severity that appear to be secondary to brain lesions or abnormalities that occur during the perinatal period. **The aim of the study:** To analyse modern methods for early diagnosis of fetal central nervous system lesions in the antenatal period. **Materials and methods:** A search in information databases using the given keywords: “placental insufficiency”, “magnetic resonance imaging”, “fetal neurosonography”, “ultrasound Dopplerography”, “fetal brain lesions” has revealed 1473 articles devoted to the problems of diagnosing fetal central nervous system lesions in the antenatal period. After excluding duplicate publications (852) and publications more than 10 years old (574), 47 literature sources were analysed. The study used the following data bases: PubMed, PubMed Central, Scopus, MEDLINE, ScienceDirect, Cochrane Library, eLibrary for the period from 2014 to November 2023. **Results:** Magnetic resonance imaging (MRI) can determine the presence of congenital abnormalities of CNS, white matter abnormalities, and the amount of deoxyhemoglobin in the nervous tissue in the fetus; and also identify placental disorders. Neurosonography is a prenatal diagnostic method that visualizes intracerebral hemorrhages, the structure of the cerebral cortex, Sylvian fissure and corpus callosum. The consistent use of these diagnostic methods in patients at risk contributes to the personalization of management and delivery tactics, which in the future will reduce the incidence of adverse perinatal outcomes and losses. **Conclusion:** MRI not only makes it possible to assess the fetal central nervous system, but also allows the placenta to be assessed. This method will allow us to take a fresh look at the problem of chronic placental insufficiency and more qualitatively assess the degree of influence of placental disorders on the fetus. Neurosonography, in turn, is a more accessible method for diagnosing the pathological state of the fetal central nervous system, which also has high sensitivity in the prenatal detection of ischemic-hypoxic brain damage.

Keywords: placental insufficiency; hypoxic-ischemic brain damage; magnetic resonance imaging; neurosonography; ultrasound Dopplerography

For citation: Belokrinitskaya TE, Sidorkina AG, Mudrov VA. Possibilities of early diagnosis of fetal central nervous system lesions in the antenatal period (review). Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):589-605. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-8

Введение. В настоящее время плацентарная недостаточность — это распространённое осложнение беременности, которое является основной причиной задержки роста плода (ЗРП). В результате хронической плацентарной недостаточности (ХПН) плод испытывает гипоксию и дефицит питательных веществ.

Неонатальная заболеваемость, обусловленная ХПН, зависит от сроков развития плацентарной дисфункции, а также от своевременности родоразрешения. Состояние сердечно-сосудистой системы и недостаточное развитие других органов и систем плода при ЗРП на момент родоразрешения — это основной фактор, способствующий неблагоприятным постнатальным последствиям [1, 2, 3].

Перинатальное повреждение головного мозга считается одной из основных причин смерти и инвалидности у детей раннего возраста. Отсутствие достаточного количества кислорода и питательных веществ при плацентарной недостаточности может привести не только к задержке роста, но и гипоксии плода. Гипоксия же, в свою очередь, сопровождается повреждением клеток мозга и нарушением его развития. Следствием этого могут стать такие осложнения, как перинатальная асфиксия, церебральный паралич и т.д. Кроме того, среди выживших новорожденных отмечается увеличение распространенности неврологических, поведенческих и психиатрических проблем в более позднем возрасте. Недавние достижения в области акушерства, репродуктивной медицины и интенсивной терапии новорожденных привели к значительному повышению показателей выживаемости недоношенных детей, а также новорожденных, перенесших асфиксию. Акцент исследований в настоящее время сместился с изучения факторов, вызывающих последствия для функционирования мозга в постнатальном

периоде, на изучение возможностей диагностики и профилактики данных осложнений. Этиология повреждения головного мозга плода является многофакторной, поражение ЦНС может развиваться не только вследствие плацентарной недостаточности, но и внутриутробной инфекции. Определенную роль играют и генетические факторы, являющиеся важными предикторами неблагоприятного неврологического исхода [4, 5].

Детский церебральный паралич (ДЦП) — термин, объединяющий группу хронических непрогрессирующих симптомокомплексов двигательных нарушений, вторичных по отношению к поражениям или аномалиям головного мозга, возникающим в перинатальном периоде. Согласно европейским данным, средняя частота ДЦП составляет 2,08 на 1000 живорожденных, показатель которой в группе детей, родившихся с низкой массой тела, в 70 раз выше, чем у детей с нормальной массой тела при рождении. Считается, что значительная часть ДЦП связана с осложнениями антенатального периода. Аномалии пуповины и плаценты сопровождаются увеличением риска неблагоприятных исходов для новорожденных. Однако в настоящее время остается невыясненным, несут ли эти состояния повышенный риск развития ДЦП [6, 7]. Повреждение развивающегося мозга до, во время или сразу после родов влияет как на неврологическую, так и на опорно-двигательную системы организма, вызывая аномальное сокращение мышц, постуральные изменения, ограничение движений и активности, которые сопровождаются сенсорными нарушениями наряду с расстройствами восприятия, когнитивными проблемами, неспособностью общаться, поведенческими проблемами, эпилепсией и вторичными проблемами опорно-двигательного аппарата [8, 9].

На данном этапе не существует методов лечения ХПН, которые имеют доказательную базу. В связи с этим ЗРП сопряжена с риском преждевременных родов, что, в свою очередь, ухудшает перинатальные исходы, поскольку недоношенность сопровождается функциональной незрелостью всех органов и систем. Частота неблагоприятных исходов, в том числе и патологии развития нервной системы, обратно пропорциональна сроку, на котором потребовалось родоразрешение [10, 11].

Цель исследования. Анализ современных методов ранней диагностики поражений ЦНС плода в антенатальном периоде.

Материалы и методы исследования. В исследовании использованы информационные базы: PubMed, PubMed Central, Scopus, MEDLINE, ScienceDirect, Cochrane Library, eLibrary за период с 2014 г. до ноября 2023 г. по указанным ключевым словам: «плацентарная недостаточность»/«placental insufficiency», «магнитно-резонансная томография»/«magnetic resonance imaging», «нейросонография плода»/«neurosonography», «ультразвуковая доплерография»/«ultrasound dopplerometry», «поражения головного мозга плода»/«brain damage» в поисковых системах обнаружено 1473 статьи, посвященные проблемам диагностики поражений ЦНС плода в антенатальном периоде. После исключения дублирующей информации (852) и литературных источников, датированных ранее 2014 года (574), заявленной проблеме соответствовало 47 публикаций.

Возможности магнитно-резонансной томографии в ранней диагностике поражений ЦНС плода в антенатальном периоде

Магнитно-резонансная томография (МРТ), которая впервые проведена в 1983 году, всё чаще используется в мире для диагностики врождённых аномалий развития у плода и особенно ЦНС. Данный способ исследования основан на измерении

электромагнитного отклика атомных ядер, находящихся в сильном постоянном магнитном поле, в ответ на возбуждение их определённым сочетанием электромагнитных волн. В МРТ такими ядрами являются ядра атомов водорода, присутствующие в огромном количестве в человеческом теле в составе воды и других веществ [12]. Достоинствами МРТ считается безопасность, в том числе и для плода, возможность многоплоскостного сканирования, высокое качество изображения мягких тканей. Отрицательная сторона МРТ – это невозможность проведения исследования при наличии металлических магнитных имплантов в теле пациента [13, 14].

В настоящее время цель МРТ во время беременности – уточнение результатов экспертного ультразвукового исследования, а также получение некоторого объема дополнительной информации. Следует отметить, что МРТ не используется в качестве инструмента первичного скрининга в антенатальном периоде, хотя стандартизированная оценка анатомии плода возможна. Тем не менее, в отдельных случаях (например, при наличии аномалий головного мозга у родственников первой степени родства) МРТ плода может рассматриваться в качестве основного метода, позволяющего своевременно выявить патологию, несмотря на нормальную ультразвуковую картину, предшествовавшую проведению МРТ [15, 16].

МРТ плода может быть выполнена при напряженности поля 1,5 Тл и 3,0 Тл, которые отражают мощность томографа. Мощность МРТ томографа – величина постоянного магнитного поля, измеряемая в Теслах (Тл) согласно Международной системе. Чем выше напряженность магнитного поля, тем более четкое изображение получается на выходе. Таким образом, визуализация головного мозга плода при 3,0 Тл может обеспечить более высокое разрешение и лучшее качество визуализации при одновременном снижении поглощения электромагнитной энергии человеческим телом и может служить

эффективным средством визуализации мозга, тела и сосудов плода [17].

Известно, что хроническая гипоксия может быть следствием аномального развития нервной системы плода и предиктором когнитивных нарушений, развивающихся впоследствии. Уровень оксигенации крови головного мозга плода представляет собой важный физиологический параметр, позволяющий выявить группу риска повреждения головного мозга. В недавних работах, посвященных изучению возможностей количественной МРТ в измерении уровня оксигенации крови у плода, использовали оценку скорости поперечной релаксации (T_2), а также исследование парамагнитной природы дезоксигемоглобина (dHb) с помощью магнитно-резонансной (МР) спектроскопии. Скорость поперечной релаксации (T_2) – это время релаксации после 90° радиочастотного импульса. С помощью специальных приборов можно зарегистрировать сигналы (резонансное излучение) от релаксирующих протонов, и на их анализе построить представление об исследуемом объекте. МР-спектроскопия – это методика проведения исследования на магнитно-резонансном томографе, которая дает возможность определять биохимические изменения тканей при развитии различных заболеваний. Первый метод был успешно применен в магистральных сосудах сердца плодов в III триместре беременности. Он был восприимчив к неоднородностям радиочастотного поля, особенно при напряженности поля равной 3,0 Тл. МР-спектроскопия измеряет магнитную восприимчивость крови, которая связана с количеством присутствующего дезоксигемоглобина [18, 19]. Следовательно, на основании МР-спектроскопии, позволяющей оценить уровень оксигенации крови, можно спрогнозировать развитие гипоксически-ишемической энцефалопатии у плода. В условиях длительной гипоксии происходит перераспределение кровотока в церебральных артериях в сторону его уменьшения в корковых областях головного мозга. Формируется

так называемый «гипоксический стресс» с выбросом адреналина и норадреналина, а также других соответствующих гормонов и нейромедиаторов, что приводит к более выраженному перераспределению кровотока в сторону жизненно важных органов со значительным повышением сопротивления в периферических органах и системах [20].

Исследования Westby A. и Miller L. (2021) продемонстрировали уменьшение окружности головы (ОГ) плода в сочетании со снижением объема серого вещества его головного мозга, которое в дальнейшем приводит к снижению процессов восприятия, познания, способности к концентрации внимания и ухудшению памяти у детей. Имеются данные и о том, что у новорожденных с ЗРП наблюдаются снижение миелинизации и уменьшение объема белого вещества задних отделов головного мозга, подтвержденное МРТ-исследованиями. Примечательно, как дефицит общего объема мозга и, в частности, белого вещества лежит в основе снижения *intelligence quotient* (IQ) и когнитивных нарушений у детей с задержкой развития [21, 22].

В свою очередь, Neumane S. et al. (2022) утверждают, что возможно широкое применение МРТ для оценки влияния преждевременных родов на развитие головного мозга. Как известно, ХПН сопряжена с риском преждевременных родов, в том числе и спонтанных. Даже при отсутствии очаговых поражений головного мозга недоношенность сопровождается нарушениями роста мозга. В частности, белое вещество головного мозга недоношенных новорожденных в эквивалентном доношенному сроку возрасте имеет более «незрелый» микроструктурный профиль по сравнению с доношенными новорожденными, что согласуется с задержкой или нарушением развития и созревания белого вещества. Степень выраженности ранних аномалий белого вещества (даже при отсутствии явного поражения головного мозга) напрямую связана с худшим исходом развития нервной системы. Недоношенные

дети также подвержены более высокому риску нарушения нейромоторной функции, что может проявляться в недостаточном развитии навыков мелкой и крупной моторики по сравнению с детьми, рожденными в срок [23].

Несмотря на то, что МРТ во время беременности долгое время использовалась для диагностики патологии со стороны плода, в последние годы её применение для визуализации плаценты значительно возросло. В дополнение к возможностям оценки функции, МРТ с широким полем зрения и высоким контрастным разрешением позволяет охарактеризовать анатомию плаценты [24]. Развитие плаценты и головного мозга плода тесно связаны между собой. Плацентарная недостаточность сопряжена с неблагоприятными неонатальными исходами и влияет на развитие нервной системы. Т2-взвешенная МРТ характеризует намагничивание тканей поперек статического магнитного поля и является простым, но полезным методом оценки функции плаценты [25]. Исследования Hutter J. et al. (2023) показали, что снижение плацентарного T2 (время релаксации плаценты после 90° радиочастотного импульса.) характерно для беременности, осложнённой преэклампсией и ранней ЗРП. Полученные результаты ученых дали основания предположить, что значения плацентарного T2 имеют прогностическую ценность в рамках оценки вероятности низкой массы тела плода при рождении в сравнении с оценкой пульсационного индекса маточных артерий [26].

Авторы другого современного исследования, Hansen D.N. et al. (2022), также доказали чувствительность метода Т2-взвешенной МРТ в диагностике изменений морфологии плаценты и уровня оксигенации, свидетельствующего о развитии ХПН. Т2-взвешенная МРТ – это метод образования изображений с использованием МРТ, при котором сигнал от тканей с различной скоростью релаксации по Т2 взвешивается, чтобы создать изображение с лучшим контрастом

между различными типами тканей. Предыдущие работы этих авторов продемонстрировали, что плацента при ЗРП и преэклампсии характеризуется низкими значениями плацентарного T2-звена (времени релаксации плаценты после 90° радиочастотного импульса.), что свидетельствует о низкой плотности протонов, как при кальцинозе или фиброзе плаценты [27].

Таким образом, результаты исследований значительного числа ученых доказали перспективность использования МРТ в клинической практике и необходимость усовершенствования существующих методов измерения [28]. Белое вещество и проводящие пути головного мозга плода развиваются во втором-третьем триместре беременности в быстром, но отчетливом иерархическом порядке. Структура и целостность этих связей белого вещества играют неотъемлемую роль в поддержании эффективности и координации функциональных сетей. Современное понимание этих процессов в значительной степени опирается на посмертные данные. В настоящее время МРТ плода может зафиксировать развитие всего мозга в его живом функционирующем состоянии, тем самым предоставляя важную дополнительную информацию об интенсивности его роста [29]. Несмотря на высокую стоимость данного метода исследования, существует необходимость его внедрения с целью выявления патологических состояний плаценты и ЦНС плода у пациенток группы риска с целью улучшения перинатальных исходов. Своевременное выявление при помощи МРТ аномалий плаценты и головного мозга плода способствуют правильной маршрутизации беременной и привлечению необходимых узких специалистов для оказания квалифицированной медицинской помощи.

Возможности нейросонографии в ранней диагностике поражений ЦНС плода в антенатальном периоде

Нейросонография (НСГ) считается перспективным методом пренатальной диагностики, позволяющим путем

ультразвуковой визуализации оценить состояние нервной системы плода. Головной мозг является трехмерной структурой, поэтому наблюдение за его морфологией в трех основных плоскостях (сагиттальной, фронтальной и осевой) обязательно. Передний родничок и сагиттальный шов могут служить акустическими ультразвуковыми окнами при трансвагинальном сканировании головного мозга, позволяя получать изображения внутримозговых структур с высоким разрешением. В свою очередь, 3D-доплерография позволяет визуализировать внутримозговую васкуляризацию, что дает возможность получить более точную информацию о церебральной перфузии головного мозга плода [30, 31].

НСГ повышает точность диагностики врожденных аномалий развития головного мозга, оценивает динамику ишемических и травматических внутримозговых повреждений у плодов и новорожденных. Кроме того, в современной НСГ применяется 22-многоплоскостная методика осмотра головного мозга. Для сканирования используется ряд различных плоскостей, применение которых варьирует в зависимости от особенностей расположения плода [32].

Длительное течение гипоксии вызывает кислородное голодание, что связано с нарушением функции нейронов головного мозга. Ишемия – общее или очаговое ограничение кровоснабжения тканей, которое вызывает некроз, и значит является гораздо более сложным событием, чем гипоксия, поскольку она сопровождается снижением объема циркулирующей крови и ограничением интенсивности выведения продуктов метаболизма головного мозга [33, 34]. Морфологические изменения, связанные с гипоксически-ишемическим поражением мозга плода, могут проявляться: множественными кровоизлияниями в различные отделы головного мозга, отеком, повреждением эндотелия, некрозами серого и белого вещества, инфарктами,

глиозом белого вещества, атрофией, кистами различной локализации, задержкой миелинизации, вентрикуломегалией, гидроцефалией и врожденными пороками развития [35].

Исследования Abdelkader M.A. et al. (2017) наглядно продемонстрировали, что, благодаря пренатальному проведению НСГ в группе риска по развитию внутримозгового кровоизлияния у плода, у 21 плода было диагностировано внутримозговое кровоизлияние, у 2 – экстрацеребральное (субдуральное) кровоизлияние, у 16 – внутримозговое (внутрижелудочковое) кровоизлияние, у 3 – комбинированное кровоизлияние. Средний гестационный возраст, в котором им был поставлен диагноз, составлял $29,8 \pm 5,2$ недели. Обращает внимание, что в 76% случаев не имелось идентифицируемых факторов риска. ЗРП при этом была ассоциирована с 57,9% внутримозговых кровоизлияний, что составило больше половины от всех случаев [35, 36].

На данном этапе перинатальные и ранние постнатальные исходы внутримозгового кровоизлияния, диагностированного у плода, изучены недостаточно. Авторы Gupta V. et al. (2023) провели исследование, согласно которому живорождением закончились 75% случаев внутримозгового кровоизлияния, выявленного внутриутробно, прерыванием беременности по медицинским показаниям – 14%, антенатальной гибелью плода – 11%. Обращает на себя внимание, что наличие обширных кровоизлияний сопровождается снижением частоты живорождений до 33%. Проспективное клиническое наблюдение до двухлетнего возраста 37 младенцев, у которых внутриутробно было диагностировано внутримозговое кровоизлияние, показало, что у 57% наблюдалось нормальное развитие нервной системы, у 24% – легкие отклонения от нормы, у 14% – умеренные отклонения, у 5% – выраженные нарушения развития нервной системы [37].

В настоящее время появляется всё больше доказательств того, что

преэклампсия приводит к нарушениям развития нервной системы у плода, которые впоследствии проявляются умственной отсталостью, синдромом дефицита внимания и гиперактивности, аутизмом, эпилепсией и другими когнитивными нарушениями. У плодов с ЗРП также наблюдаются изменения в развитии коры головного мозга, мозолистого тела, размера ствола мозга и мозжечка, а также метаболизма мозга, которые в дальнейшем связаны с аномальным развитием нервной системы. Исследования Basso A. et al. (2022) продемонстрировали, что при ЗРП наблюдаются значительные различия в развитии коры головного мозга в сравнении с нормой по результатам НСГ у плода, проведённой на сроке 31-35 недель гестации, которые проявляются уменьшением глубины силвиевой борозды и увеличением глубины островковой доли. Интересно, что аналогичная картина развития коры головного мозга наблюдалась при беременности, осложнённой преэклампсией: отмечается уменьшение глубины силвиевой борозды и увеличение глубины островковой доли. Существенных различий в глубине теменно-затылочной борозды, поясной извилины или пяточной борозды в указанных группах выявлено не было [38, 39].

При оценке особенностей развития ЦНС у маловесных плодов для срока гестации и плодов с ЗРП в сравнении с группой контроля (с учетом поправки на

бипариетальный размер) отмечаются: увеличение глубины островков, линейная тенденция к уменьшению глубины силвиевой борозды. Обращает на себя внимание тот факт, что данные показатели не отличались статистически значимо между маловесными плодами для срока гестации и плодами с ЗРП. Единственным параметром, позволяющим с высокой долей достоверности идентифицировать маловесный плод от плода с задержкой роста, оказалась длина мозолистого тела, которая была значительно ниже при ЗРП в сравнении как с группой контроля, так и со случаями маловесности плода. Длина мозолистого тела у маловесных плодов была сопоставима с группой контроля. Различий в глубине теменно-затылочной борозды между тремя исследуемыми группами выявлено не было [40, 41, 42]. Приведенные сведения позволяют заключить, что указанные параметры могут быть использованы в качестве дополнительных критериев диагностики не только ЗРП, но и плацентарной недостаточности. Кроме того, следует рассмотреть возможность применения комплексного анализа вышеуказанных характеристик для прогнозирования неблагоприятных антенатальных исходов.

Таким образом, можно сделать вывод, что МРТ и НСГ – это взаимодополняющие методы диагностики. Как показано на рисунке 1, совместное применение НСГ и МРТ поможет оптимизировать диагностику антенатальных повреждений ЦНС и тактику ведения таких пациенток.

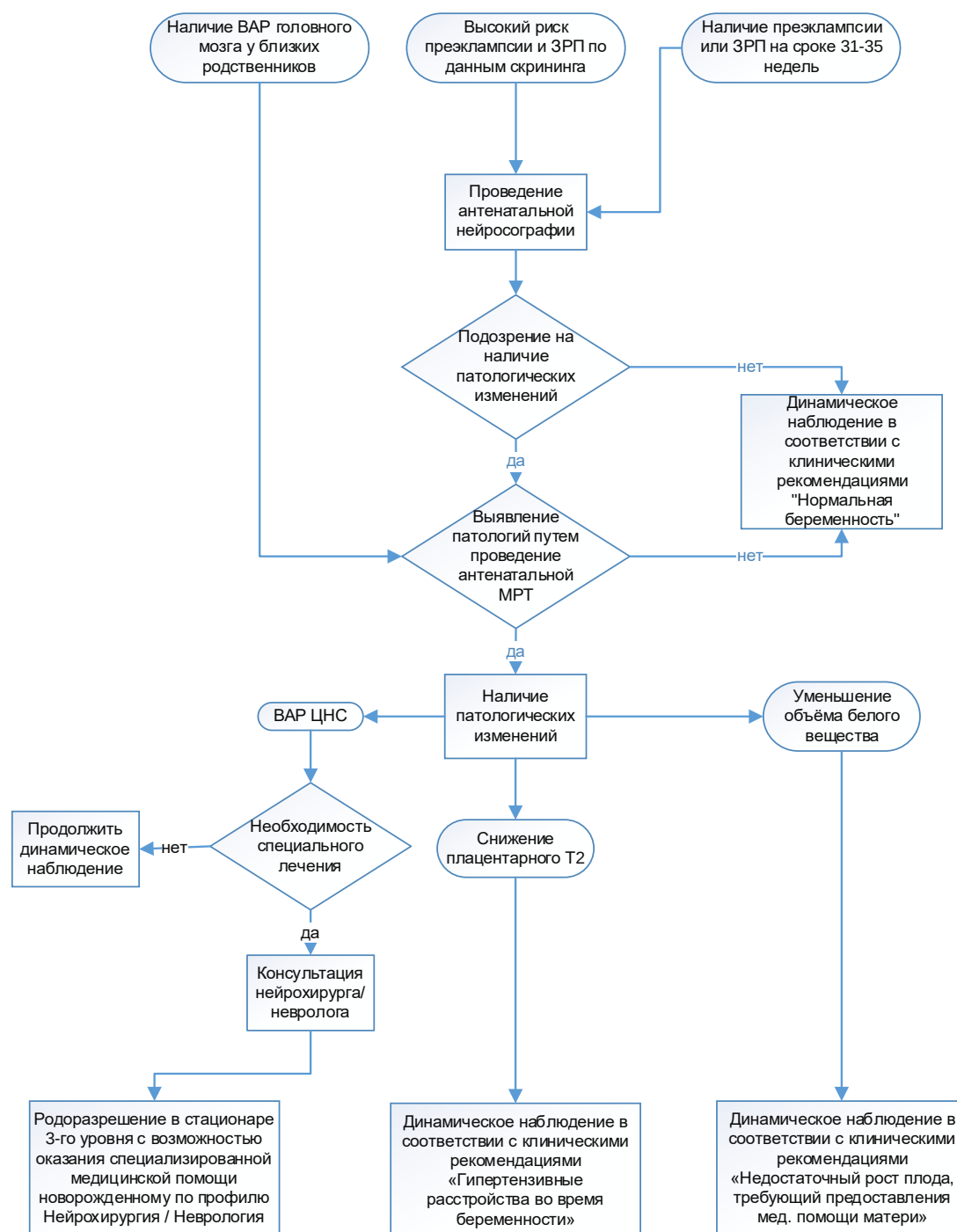


Рис. 1. Алгоритм ведения пациенток высокой степени риска по развитию поражений ЦНС плода в антенатальном периоде

Fig. 1. Algorithm for the management of patients at high risk for the development of fetal central nervous system lesions in the antenatal period

Возможности ультразвуковой доплерографии в ранней диагностике поражений ЦНС плода в антенатальном периоде

Ультразвуковая доплерография (УЗДГ) широко применяется в акушерстве с целью оценки маточно-плацентарного и

плодово-плацентарного кровотока. Исследования Sirico A. et al. (2018) продемонстрировали, что показатели церебро-плацентарного отношения (ЦПО), т.е. отношения индекса резистентности в средней мозговой артерии к индексу резистентности в артерии пуповины, в

значительной степени коррелируют с патологическим типом кардиотокографии (КТГ) и оценкой состояния новорожденного по шкале Апгар на 5 минуте жизни менее 7 баллов. Также в данном исследовании было показано, что более низкие значения ЦПО наблюдались у плодов с ЗРП в сравнении с маловесными плодами и плодами, размеры которых соответствуют гестационному возрасту [43]. В свою очередь Ismail A. et al. (2022) определили, что значения ЦПО относительно постоянны в течение последних 10 недель течения нормальной беременности. В данном исследовании было установлено, что значение ЦПО ниже 1,08 считается аномальным и сопряжено с неблагоприятными перинатальными исходами (экстренное кесарево сечение, госпитализация новорожденного в отделение реанимации и интенсивной терапии). Первостепенное значение имеет правильное определение значений пульсационного индекса (PI) средней мозговой артерии (СМА) и PI маточных артерий как нормальных, так и патологических, поскольку эти параметры отражают наличие плацентарной недостаточности [44].

Беременность, протекающая на фоне ЗРП, сопряжена с высоким риском краткосрочных и долгосрочных осложнений для новорожденного. Исследования ряда авторов продемонстрировали, что PI маточных артерий был выше в группе беременных с ЗРП, в то время как PI СМА и ЦПО были ниже, что является статистически значимым результатом. В свою очередь, низкие показатели ЦПО (менее 10-го перцентиля) ассоциировались с повышенным риском неблагоприятного перинатального исхода, наличием маркеров перинатальной гипоксии (рН пуповинной артериальной или венозной пуповинной крови ≤ 7 и $\leq 7,1$ соответственно, оценка по шкале Апгар менее 7 баллов на пятой минуте жизни или госпитализация в отделение интенсивной терапии новорожденных на период времени более 24 часов), кесаревым сечением при предполагаемом ухудшении

состояния плода и рождением новорожденных с массой тела менее третьего перцентиля. Многофакторный регрессионный анализ показал, что PI маточных артерий ($p = 0,04$) и ЦПО ($p = 0,002$) коррелируют с вероятностью развития неблагоприятного перинатального исхода. Однако следует особо отметить низкую диагностическую значимость указанных параметров, что напрямую указывает на необходимость комплексной оценки состояния плода у матерей с хронической плацентарной недостаточностью [45, 46]. Между тем, показатели кровотока в маточных артериях соотносятся с плацентарной функцией, поэтому плацентарная недостаточность, даже субклиническая, может быть заподозрена достаточно рано. Патология развития плаценты, характерная для преэклампсии и ЗРП, определяет наличие недостаточности маточно-плацентарного кровотока вследствие отсутствия трансформации спиральных артерий. Исследования, проведенные в последние десятилетия, подтвердили повышение сопротивления кровотока в маточных артериях у пациенток, у которых впоследствии развилась преэклампсия или ЗРП. PI маточных артерий более 95 перцентиля коррелирует с вероятностью развития преэклампсии и ЗРП как во втором, так и в третьем триместре [47]. Как известно, преэклампсия может стать причиной тяжёлых осложнений не только у плода, но и у матери. Своевременное выявление преэклампсии и ЗРП поможет впоследствии избежать неблагоприятных исходов как для матери, так и для плода.

Заключение. С позиций реализации потребностей современной перинатальной медицины магнитно-резонансная томография имеет перспективы для активного внедрения в клиническую практику, несмотря на экономическую затратность метода. При помощи МРТ возможно провести не только оценку состояния ЦНС плода, но и получить представления о состоянии плаценты.

Данный метод исследования позволит по-новому взглянуть на проблему хронической плацентарной недостаточности и более качественно оценить степень влияния плацентарных нарушений на плод. Нейросонография, в свою очередь, является более доступным методом диагностики патологии ЦНС плода, который тоже имеет высокую чувствительность в рамках внутриутробной диагностики ишемически-гипоксического повреждения головного мозга. Следовательно, НСГ в перспективе может стать скрининговым методом. Внедрение совместного применения МРТ и НСГ, на наш взгляд, позволит не только своевременно диагностировать хроническую плацентарную недостаточность, но и повысить точность прогноза перинатальных поражений ЦНС у детей от матерей с плацентарными нарушениями [48]. Оценка показателей УЗДГ, в свою очередь, отличается низкой диагностической ценностью в прогнозировании неблагоприятных перинатальных исходов. Следовательно, доплерография зачастую используется в качестве метода, позволяющего выделить группу риска угрожаемых по развитию перинатального поражения ЦНС.

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. Преждевременные роды. Клинические рекомендации [Электронный ресурс] [дата обращения 30.11.2023]. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/331_1
2. Malhotra A, Allison BJ, Castillo-Melendez M, et al. Neonatal morbidities of fetal growth restriction: pathophysiology and impact. *Frontiers in Endocrinology*. 2019;10:55. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00055>
3. Calek E, Binder J, Palmrich P, et al. Effects of Intrauterine growth restriction (IUGR) on growth and body composition compared to constitutionally small infants. *Nutrients*. 2023;15(19):4158. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu15194158>
4. Bendix I, Hadamitzky M, Herz J, et al. Adverse neuropsychiatric development following perinatal brain injury: from a preclinical perspective. *Pediatric Research*. 2019;85(2):198-215. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41390-018-0222-6>
5. Felderhoff-Muser U, Hüning B. Biomarkers and neuromonitoring for prognosis of development after perinatal brain damage. *Monatsschrift Kinderheilkunde*. 2022;170(8):688-703. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00112-022-01542-4>
6. Ebbing C, Rasmussen S, Kessler J, et al. Association of placental and umbilical cord characteristics with cerebral palsy: national cohort study. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2023;61(2):224-230. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.26047>
7. Sadowska M, Sarecka-Hujar B, Kopyta I. Cerebral palsy: current opinions on definition, epidemiology, risk factors, classification and treatment options. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2020;16:1505-1518. DOI: <https://doi.org/10.2147/NDT.S235165>
8. Paul S, Nahar A, Bhagawati M, et al. A review on recent advances of cerebral palsy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022;2022:2622310. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/2622310>
9. Feng Y. Recent research on the long-term neurodevelopmental outcomes of very preterm infants. *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*. 2023;25(10):1066-1071. Chinese. DOI: <https://doi.org/10.7499/j.issn.1008-8830.2305072>
10. Barfield WD. Public health implications of very preterm birth. *Clinics in Perinatology*. 2018;45(3):565-577. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clp.2018.05.007>
11. Besiri K, Begou O, Deda O, et al. A cohort study of gastric fluid and urine metabolomics for the prediction of survival in severe prematurity. *Metabolites*. 2023;13(6):708. DOI: <https://doi.org/10.3390/metabo13060708>
12. Linh LT, Duc NM, Nhung NH, et al. Detecting fetal central nervous system anomalies

using magnetic resonance imaging and ultrasound. *Medical Archives*. 2021;75(1):45-49. DOI: <https://doi.org/10.5455/medarh.2021.75.45-49>

13. Aertsen M. Fetal MRI for dummies: what the fetal medicine specialist should know about acquisitions and sequences. *Prenatal Diagnosis*. 2020;40(1):6-17. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.5579>

14. Flenady V, Wojcieszek AM, Ellwood D, et al. Classification of causes and associated conditions for stillbirths and neonatal deaths. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 2017;22(3):176-185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.siny.2017.02.009>

15. Prayer D, Malingier G, De Catte L, et al. ISUOG practice guidelines (updated): performance of fetal magnetic resonance imaging. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2023;61(2):278-287. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.26129>

16. Manganaro L, Capuani S, Gennarini M, et al. Fetal MRI: what's new? A short review. *European Radiology Experimental*. 2023;7(1):41. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41747-023-00358-5>

17. Krishnamurthy U, Neelavalli J, Mody S, et al. MR imaging of the fetal brain at 1.5 T and 3.0 T field strengths: comparing specific absorption rate (SAR) and image quality. *Journal of Perinatal Medicine*. 2015;43(2):209-220. DOI: <https://doi.org/10.1515/jpm-2014-0268>

18. Uzianbaeva L, Yan Y, Joshi T, et al. Methods for monitoring risk of hypoxic damage in fetal and neonatal brains: a review. *Fetal Diagnosis and Therapy*. 2022;49(1-2):1-24. DOI: <https://doi.org/10.1159/000520987>

19. Jaros R, Barnova K, Vilimkova Kahankova R, et al. Independent component analysis algorithms for non-invasive fetal electrocardiography. *PLoS ONE*. 2023;18(6):e0286858. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286858>

20. Volpe JJ. Placental assessment provides insight into mechanisms and timing of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*. 2019;12(2):113-116. DOI: <https://doi.org/10.3233/npm-190270>

21. Westby A, Miller L. Fetal Growth Restriction Before and After Birth. *American Family Physician*. 2021;104(5):486-492.

22. Knight MJ, Smith-Collins A, Newell S, et al. Cerebral white matter maturation patterns in preterm infants: an MRI T2 relaxation anisotropy and diffusion tensor imaging study.

Journal of Neuroimaging. 2018;28(1):86-94. DOI: <https://doi.org/10.1111/jon.12486>

23. Neumane S, Gondova A, Leprince Y, et al. Early structural connectivity within the sensorimotor network: deviations related to prematurity and association to neurodevelopmental outcome. *Frontiers in Neuroscience*. 2022;16:932386. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.932386>

24. Arthuis C, Millischer AE, Bussieres L, et al. MRI based morphological examination of the placenta. *Placenta*. 2021;115:20-26. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.08.056>

25. Sinding M, Peters DA, Frokjaer JB, et al. Placental magnetic resonance imaging T2* measurements in normal pregnancies and in those complicated by fetal growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2016;47(6):748-54. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.14917>

26. Hutter J, Ayman ALW, Kyriakopoulou V, et al. Exploring the role of a time-efficient MRI assessment of the placenta and fetal brain in uncomplicated pregnancies and these complicated by placental insufficiency. *Placenta*. 2023;139:25-33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2023.05.014>

27. Hansen DN, Sinding M, Petersen A, et al. T2*-weighted placental magnetic resonance imaging: a biomarker of placental dysfunction in small-for-gestational-age pregnancies. *American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM*. 2022;4(3):100578. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2022>

28. Arthurs OJ, Rega A, Guimiot F, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging of the fetal brain in intrauterine growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2017;50(1):79-87. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.17318>

29. Wilson S, Pietsch M, Cordero-Grande L, et al. Development of human white matter pathways in utero over the second and third trimester. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2021;118(20):e2023598118. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2023598118>

30. Lipa M, Pooh RK, Wielgos M. Three-dimensional neurosonography - a novel field in fetal medicine. *Ginekologia Polska*. 2017;88(4):215-221. DOI: <https://doi.org/10.5603/GP.a2017.0041>

31. Yi F, Zhang C, Zou Y, et al. Three-Dimensional Crystal Vue Imaging technology assessment of Sylvian fissures at 20-32+6 weeks'

normal gestation. *European Radiology*. 2023;33(4):2358-2366. DOI:

<https://doi.org/10.1007/s00330-022-09253-w>

32. Yagel S. ISUOG Practice Guidelines (updated): sonographic examination of the fetal central nervous system. Part 1: performance of screening examination and indications for targeted neurosonography. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2021;57(1):173-174. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.23559>

33. Gilles F, Gressens P, Dammann O, et al. Hypoxia-ischemia is not an antecedent of most preterm brain damage: the illusion of validity. *Developmental Medicine and Child Neurology*. 2018;60(2):120-125. DOI: <https://doi.org/10.1111/dmcn.13483>

34. Levison SW, Rocha-Ferreira E, Kim BH, et al. Mechanisms of tertiary neurodegeneration after neonatal hypoxic-ischemic brain damage. *Pediatric Medicine*. 2022;5:28. DOI: <https://doi.org/10.21037/pm-20-104>

35. Abdelkader MA, Ramadan W, Gabr AA, et al. Fetal intracranial hemorrhage: sonographic criteria and merits of prenatal diagnosis. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2017;30(18):2250-2256. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1245283>

36. Epstein KN, Kline-Fath BM, Zhang B, et al. Prenatal evaluation of intracranial hemorrhage on fetal MRI: a retrospective review. *American Journal of Neuroradiology*. 2021;42(12):2222-2228. DOI: <https://doi.org/10.3174/ajnr.A7320>

37. Gupta V, Schlatterer SD, Bulas DI, et al. Pregnancy and child outcomes following fetal Intracranial hemorrhage. *Pediatric Neurology*. 2023;140:68-75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2022.12.014>

38. Basso A, Youssef L, Nakaki A, et al. Fetal neurosonography at 31-35 weeks reveals altered cortical development in pre-eclampsia with and without small-for-gestational-age fetus. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2022;59(6):737-746. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.24853>

39. Boutet ML, Eixarch E, Ahumada-Droguett P, et al. Fetal neurosonography and infant neurobehavior following conception by assisted reproductive technology with fresh or frozen embryo transfer. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2022;60(5):646-656. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.24920>

40. Paules C, Miranda J, Policiano C, et al. Fetal neurosonography detects differences in cortical development and corpus callosum in late-onset small fetuses. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2021;58(1):42-47. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.23592>

41. Miranda J, Paules C, Noell G, et al. Similarity network fusion to identify phenotypes of small-for-gestational-age fetuses. *IScience*. 2023;26(9):107620. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107620>

42. Orzel A, Unrug-Bielawska K, Filipecka-Tyczka D, et al. Molecular Pathways of Altered Brain Development in Fetuses Exposed to Hypoxia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(12):10401. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241210401>

43. Sirico A, Diemert A, Glosemeyer P, et al. Prediction of adverse perinatal outcome by cerebroplacental ratio adjusted for estimated fetal weight. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2018;51(3):381-386. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.17458>

44. Ismail A, Ibrahim AL, Rabiou A, et al. Predictive value of doppler cerebroplacental ratio for adverse perinatal outcomes in postdate pregnancies in Northwestern Nigeria. *Nigerian Journal of Clinical Practice*. 2022;25(4):406-414. DOI: https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_14_21

45. Rizzo G, Mappa I, Bitsadze V, et al. Role of Doppler ultrasound at time of diagnosis of late-onset fetal growth restriction in predicting adverse perinatal outcome: prospective cohort study. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2020;55(6):793-798. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.20406>

46. Akolekar R, Ciobanu A, Zingler E, et al. Routine assessment of cerebroplacental ratio at 35-37 weeks' gestation in the prediction of adverse perinatal outcome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2019;221(1):65.e1-65.e18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.03.002>

47. Tudor A, Novac L, Camen IV, et al. The role of uterine artery doppler in the second and third trimesters for prediction of preeclampsia and fetal growth restriction developed as a consequence of placental-mediated diseases. *Current Health Sciences Journal*. 2023;49(2):251-256. DOI: <https://doi.org/10.12865/CHSJ.49.02.251>

48. Панова МС, Панченко АС, Мудров ВА. Новые технологии в диагностике гипоксических состояний у доношенных новорожденных. *Забайкальский медицинский*

вестник. 2023;(2):89-102. DOI:
https://doi.org/10.52485/19986173_2023_2_89

References

1. Preterm labour. Clinical recommendations [Internet] [cited 2023 Nov 30]. Available from: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/331_1
2. Malhotra A, Allison BJ, Castillo-Melendez M, et al. Neonatal morbidities of fetal growth restriction: pathophysiology and impact. *Frontiers in Endocrinology*. 2019;10:55. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00055>
3. Calek E, Binder J, Palmrich P, et al. Effects of Intrauterine growth restriction (IUGR) on growth and body composition compared to constitutionally small infants. *Nutrients*. 2023;15(19):4158. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu15194158>
4. Bendix I, Hadamitzky M, Herz J, et al. Adverse neuropsychiatric development following perinatal brain injury: from a preclinical perspective. *Pediatric Research*. 2019;85(2):198-215. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41390-018-0222-6>
5. Felderhoff-Muser U, Hüning B. Biomarkers and neuromonitoring for prognosis of development after perinatal brain damage. *Monatsschrift Kinderheilkunde*. 2022;170(8):688-703. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00112-022-01542-4>
6. Ebbing C, Rasmussen S, Kessler J, et al. Association of placental and umbilical cord characteristics with cerebral palsy: national cohort study. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2023;61(2):224-230. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.26047>
7. Sadowska M, Sarecka-Hujar B, Kopyta I. Cerebral palsy: current opinions on definition, epidemiology, risk factors, classification and treatment options. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2020;16:1505-1518. DOI: <https://doi.org/10.2147/NDT.S235165>
8. Paul S, Nahar A, Bhagawati M, et al. A review on recent advances of cerebral palsy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022;2022:2622310. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/2622310>
9. Feng Y. Recent research on the long-term neurodevelopmental outcomes of very preterm infants. *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*. 2023;25(10):1066-1071. Chinese. DOI: <https://doi.org/10.7499/j.issn.1008-8830.2305072>
10. Barfield WD. Public health implications of very preterm birth. *Clinics in Perinatology*. 2018;45(3):565-577. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clp.2018.05.007>
11. Besiri K, Begou O, Deda O, et al. A cohort study of gastric fluid and urine metabolomics for the prediction of survival in severe prematurity. *Metabolites*. 2023;13(6):708. DOI: <https://doi.org/10.3390/metabo13060708>
12. Linh LT, Duc NM, Nhung NH, et al. Detecting fetal central nervous system anomalies using magnetic resonance imaging and ultrasound. *Medical Archives*. 2021;75(1):45-49. DOI: <https://doi.org/10.5455/medarh.2021.75.45-49>
13. Aertsen M. Fetal MRI for dummies: what the fetal medicine specialist should know about acquisitions and sequences. *Prenatal Diagnosis*. 2020;40(1):6-17. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.5579>
14. Flenady V, Wojcieszek AM, Ellwood D, et al. Classification of causes and associated conditions for stillbirths and neonatal deaths. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 2017;22(3):176-185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.siny.2017.02.009>
15. Prayer D, Malinge G, De Cotte L, et al. ISUOG practice guidelines (updated): performance of fetal magnetic resonance imaging. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2023;61(2):278-287. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.26129>
16. Manganaro L, Capuani S, Gennarini M, et al. Fetal MRI: what's new? A short review. *European Radiology Experimental*. 2023;7(1):41. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41747-023-00358-5>
17. Krishnamurthy U, Neelavalli J, Mody S, et al. MR imaging of the fetal brain at 1.5 T and 3.0 T field strengths: comparing specific absorption rate (SAR) and image quality. *Journal of Perinatal Medicine*. 2015;43(2):209-220. DOI: <https://doi.org/10.1515/jpm-2014-0268>
18. Udzianbaeva L, Yan Y, Joshi T, et al. Methods for monitoring risk of hypoxic damage in fetal and neonatal brains: a review. *Fetal Diagnosis and Therapy*. 2022;49(1-2):1-24. DOI: <https://doi.org/10.1159/000520987>
19. Jaros R, Barnova K, Vilimkova Kahankova R, et al. Independent component analysis algorithms for non-invasive fetal electrocardiography. *PLoS ONE*. 2023;18(6):e0286858. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286858>
20. Volpe JJ. Placental assessment provides insight into mechanisms and timing of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Journal of*

Neonatal-Perinatal Medicine. 2019;12(2):113-116. DOI: <https://doi.org/10.3233/npm-190270>

21. Westby A, Miller L. Fetal Growth Restriction Before and After Birth. American Family Physician. 2021;104(5):486-492.

22. Knight MJ, Smith-Collins A, Newell S, et al. Cerebral white matter maturation patterns in preterm infants: an MRI T2 relaxation anisotropy and diffusion tensor imaging study. Journal of Neuroimaging. 2018;28(1):86-94. DOI: <https://doi.org/10.1111/jon.12486>

23. Neumane S, Gondova A, Leprince Y, et al. Early structural connectivity within the sensorimotor network: deviations related to prematurity and association to neurodevelopmental outcome. Frontiers in Neuroscience. 2022;16:932386. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.932386>

24. Arthuis C, Millischer AE, Bussieres L, et al. MRI based morphological examination of the placenta. Placenta. 2021;115:20-26. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.08.056>

25. Sinding M, Peters DA, Frokjaer JB, et al. Placental magnetic resonance imaging T2* measurements in normal pregnancies and in those complicated by fetal growth restriction. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2016;47(6):748-54. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.14917>

26. Hutter J, Ayman ALW, Kyriakopoulou V, et al. Exploring the role of a time-efficient MRI assessment of the placenta and fetal brain in uncomplicated pregnancies and these complicated by placental insufficiency. Placenta. 2023;139:25-33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2023.05.014>

27. Hansen DN, Sinding M, Petersen A, et al. T2*-weighted placental magnetic resonance imaging: a biomarker of placental dysfunction in small-for-gestational-age pregnancies. American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM. 2022;4(3):100578. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2022>

28. Arthurs OJ, Rega A, Guimiot F, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging of the fetal brain in intrauterine growth restriction. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2017;50(1):79-87. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.17318>

29. Wilson S, Pietsch M, Cordero-Grande L, et al. Development of human white matter pathways in utero over the second and third trimester. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.

2021;118(20):e2023598118. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2023598118>

30. Lipa M, Pooh RK, Wielgos M. Three-dimensional neurosonography - a novel field in fetal medicine. Ginekologia Polska. 2017;88(4):215-221. DOI: <https://doi.org/10.5603/GP.a2017.0041>

31. Yi F, Zhang C, Zou Y, et al. Three-Dimensional Crystal Vue Imaging technology assessment of Sylvian fissures at 20-32+6 weeks' normal gestation. European Radiology. 2023;33(4):2358-2366. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00330-022-09253-w>

32. Yagel S. ISUOG Practice Guidelines (updated): sonographic examination of the fetal central nervous system. Part 1: performance of screening examination and indications for targeted neurosonography. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2021;57(1):173-174. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.23559>

33. Gilles F, Gressens P, Dammann O, et al. Hypoxia-ischemia is not an antecedent of most preterm brain damage: the illusion of validity. Developmental Medicine and Child Neurology. 2018;60(2):120-125. DOI: <https://doi.org/10.1111/dmcn.13483>

34. Levison SW, Rocha-Ferreira E, Kim BH, et al. Mechanisms of tertiary neurodegeneration after neonatal hypoxic-ischemic brain damage. Pediatric Medicine. 2022;5:28. DOI: <https://doi.org/10.21037/pm-20-104>

35. Abdelkader MA, Ramadan W, Gabr AA, et al. Fetal intracranial hemorrhage: sonographic criteria and merits of prenatal diagnosis. Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. 2017;30(18):2250-2256. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1245283>

36. Epstein KN, Kline-Fath BM, Zhang B, et al. Prenatal evaluation of intracranial hemorrhage on fetal MRI: a retrospective review. American Journal of Neuroradiology. 2021;42(12):2222-2228. DOI: <https://doi.org/10.3174/ajnr.A7320>

37. Gupta V, Schlatterer SD, Bulas DI, et al. Pregnancy and child outcomes following fetal Intracranial hemorrhage. Pediatric Neurology. 2023;140:68-75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2022.12.014>

38. Basso A, Youssef L, Nakaki A, et al. Fetal neurosonography at 31-35 weeks reveals altered cortical development in pre-eclampsia with and without small-for-gestational-age fetus.

Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2022;59(6):737-746. DOI:

<https://doi.org/10.1002/uog.24853>

39. Boutet ML, Eixarch E, Ahumada-Droguett P, et al. Fetal neurosonography and infant neurobehavior following conception by assisted reproductive technology with fresh or frozen embryo transfer. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2022;60(5):646-656. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.24920>

40. Paules C, Miranda J, Policiano C, et al. Fetal neurosonography detects differences in cortical development and corpus callosum in late-onset small fetuses. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2021;58(1):42-47. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.23592>

41. Miranda J, Paules C, Noell G, et al. Similarity network fusion to identify phenotypes of small-for-gestational-age fetuses. IScience. 2023;26(9):107620. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107620>

42. Orzel A, Unrug-Bielawska K, Filipecka-Tyczka D, et al. Molecular Pathways of Altered Brain Development in Fetuses Exposed to Hypoxia. International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(12):10401. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241210401>

43. Sirico A, Diemert A, Glosemeyer P, et al. Prediction of adverse perinatal outcome by cerebroplacental ratio adjusted for estimated fetal weight. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2018;51(3):381-386. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.17458>

44. Ismail A, Ibrahim AL, Rabiou A, et al. Predictive value of doppler cerebroplacental ratio for adverse perinatal outcomes in postdate pregnancies in Northwestern Nigeria. Nigerian Journal of Clinical Practice. 2022;25(4):406-414. DOI https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_14_21

45. Rizzo G, Mappa I, Bitsadze V, et al. Role of Doppler ultrasound at time of diagnosis of late-onset fetal growth restriction in predicting adverse perinatal outcome: prospective cohort study. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2020;55(6):793-798. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.20406>

46. Akolekar R, Ciobanu A, Zingler E, et al. Routine assessment of cerebroplacental ratio at 35-37 weeks' gestation in the prediction of adverse perinatal outcome. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2019;221(1):65.e1-65.e18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.03.002>

47. Tudor A, Novac L, Camen IV, et al. The role of uterine artery doppler in the second and third trimesters for prediction of preeclampsia and fetal growth restriction developed as a consequence of placental-mediated diseases. Current Health Sciences Journal. 2023;49(2):251-256. DOI: <https://doi.org/10.12865/CHSJ.49.02.251>

48. Panova MS, Panchenko AS, Mudrov VA. New technologies for the diagnosis of hypoxic conditions in the term newborn. Transbaikal Medical Bulletin. 2023;(2):89-102. Russian. DOI: https://doi.org/10.52485/19986173_2023_2_89

Статья поступила в редакцию 29 ноября 2023 г.
Поступила после доработки 22 февраля 2024 г.
Принята к печати 21 марта 2024 г.

Received 29 November 2023

Revised 22 February 2024

Accepted 21 March 2024

Информация об авторах

Татьяна Евгеньевна Белокриницкая, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии педиатрического факультета и факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита, Российская Федерация, E-mail: tanbell24@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5447-4223>.

Анастасия Геннадьевна Сидоркина, ассистент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета и факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита, Российская Федерация, E-mail: Anastasia-Sidorkina.17@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4509-0698>.

Виктор Андреевич Мудров, доктор медицинских наук, доцент, доцент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета и факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита, Российская Федерация, E-mail: mudrov_viktor@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5961-5400>.

Information about the authors

Tatiana E. Belokrinitskaya, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of

Obstetrics and Gynecology, Faculty of Pediatrics and Faculty of Further Professional Education, Chita State Medical Academy, Chita, Russia, E-mail: tanbell24@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5447-4223>.

Anastasia G. Sidorkina, Assistant Lecturer at the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Pediatrics and Faculty of Further Professional Education, Chita State Medical Academy, Chita,

Russia, E-mail: Anastasia-Sidorkina.17@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4509-0698>.

Victor A. Mudrov, Doct. Sci. (Medicine), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Pediatrics and Faculty of Further Professional Education, Chita State Medical Academy, Chita, Russia, E-mail: mudrov_viktor@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5961-5400>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-9

УДК 616-006.6

Качество жизни женщин различного возраста с раком молочной железы после радикальной мастэктомии и его социально-демографические детерминанты

Д.А. Зимин¹ , В.А. Постоев² , Л.И. Меньшикова^{2,3} , И.М. Сон³ ,
К.Д. Сидоренко⁴

¹ Общество с ограниченной ответственностью «Новые технологии Плюс»,
ул. Никольямская, д. 7/8, г. Москва, 109240, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Северный государственный медицинский университет»,
пр. Троицкий, д. 51, г. Архангельск, 163069, Российская Федерация

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

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

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова»,

ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, 119991, г. Москва, Российская Федерация

Автор для переписки: Д.А. Зимин (dmitriyzimin029@gmail.com)

Резюме

Актуальность: Рак молочной железы является наиболее частым злокачественным новообразованием среди женщин. Одним из основных методов лечения рака молочной железы является хирургический метод, в т.ч. радикальная мастэктомия, что наряду с повышением выживаемости может приводить к значимому снижению качества жизни. **Цель исследования:** Оценить качество жизни и факторы, на него влияющие, у пациенток различного возраста после радикальной мастэктомии в отдаленном периоде с использованием русскоязычной версии опросника BREAST-Q. **Материалы и методы:** Проведено поперечное исследование с участием 150 пациентов различного возраста, перенесших радикальную мастэктомию по поводу рака молочной железы и находящихся на диспансерном наблюдении у онколога. Оценка качества жизни проведена с использованием опросника BREAST-Q. Для оценки влияния социально-демографических факторов в анкету были включены вопросы о возрасте, социальном статусе, семейном положении, образовании, наличие инвалидности, самооценке состояния здоровья по шкале от очень плохого до отличного и самооценке физической боли по шкале от 0 до 5 баллов. **Результаты:** По результатам оценки отдельных доменов качества жизни по опроснику BREAST-Q были получены следующие результаты: медиана удовлетворенности состоянием груди составила 44 балла, удовлетворенность психосоциальным состоянием - 52 балла,

удовлетворенность сексуальным состоянием - 24 балла, удовлетворенность физическим состоянием - 40 баллов, удовлетворенность хирургом - 78 баллов, удовлетворенность медицинским персоналом - 80 баллов, удовлетворенность немедицинским персоналом - 73 балла. По результатам многофакторного анализа значимыми предикторами удовлетворенности состоянием груди являлась самооценка состояния физического здоровья ($\beta_{\text{корр}}=-5,83$ (95%ДИ:-11,27; -0,39); удовлетворенности психосоциальным состоянием – возраст ($\beta_{\text{корр}}=0,54$ (95%ДИ:0,12; 0,95)), самооценка физического здоровья $\beta_{\text{корр}}=-8,28$ (95%ДИ:-14,71; -1,84) и болевого синдрома $\beta_{\text{корр}}=-3,29$ (95%ДИ:-6,42; -0,16), удовлетворенности сексуальным состоянием - возраст ($\beta_{\text{корр}}=-0,57$ (95%ДИ:-0,99; -0,15)), образование $\beta_{\text{корр}}=-8,88$ (95%ДИ:-18,41; -0,64) для среднего специального и $\beta_{\text{корр}}=-14,33$ (95%ДИ:-26,65; -1,99) для среднего) и семейное положение $\beta_{\text{корр}}=-10,26$ (95%ДИ:-17,90; -2,62), а удовлетворенности физическим состоянием – самооценка болевого синдрома $\beta_{\text{корр}}=5,83$ (95%ДИ:3,57; 8,11). **Заключение:** Выявлена низкая самооценка качества жизни женщин различного возраста с достаточной высокой вариабельностью удовлетворенности по доменам: самооценка здоровья, болевого синдрома и возраст, которые явились значимыми детерминантами качества жизни по наибольшему числу доменов.

Ключевые слова: рак молочной железы; качество жизни; мастэктомия; BREAST-Q; возрастные группы

Для цитирования: Зимин ДА, Постоев ВА, Меньшикова ЛИ, и др. Качество жизни женщин различного возраста с раком молочной железы после радикальной мастэктомии и его социально-демографические детерминанты. Научные результаты биомедицинских исследований. 2024;10(4):606-620. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-9

Quality of life of women with breast cancer after radical mastectomy and its socio-demographic determinants

Dmitry A. Zimin¹ , Vitaly A. Postoev² , Larisa I. Menshikova^{2,3} ,
Irina M. Son³ , Kirill D. Sidorenko⁴ 

¹ New Technologies Plus Ltd.,
7/8 Nikoloyamskaya St., Moscow, 109240, Russia

² Northern State Medical University,
51 Troitskiy Ave., Arkhangelsk, 163069, Russia

³ Russian Medical Academy of Continuing Professional Education,
bld.1, 2/1 Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russia

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University,
bld.2, 8 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia

Corresponding author: Dmitry A. Zimin (dmitriyzimin029@gmail.com)

Abstract

Background: Breast cancer is the most common malignant neoplasm among women. One of the main methods of treating breast cancer is surgery, including radical mastectomy, which, along with increased survival, can lead to a significant decrease in the quality of life. **The aim of the study:** To

assess long-term quality of life and factors influencing it in patients of different ages after radical mastectomy using the Russian version of the BREAST-Q questionnaire. **Materials and methods:** A cross-sectional study was conducted with the participation of 150 patients of different ages who underwent radical mastectomy for breast cancer and are under dispensary supervision by an oncologist. Quality of life was assessed using the BREAST-Q questionnaire. To assess the impact of socio-demographic factors, the questionnaire included questions on age, social status, marital status, education, disability, self-rated health status on a scale from very poor to excellent, and self-rated physical pain on a scale from 0 to 5 points. **Results:** According to the results of the assessment of individual domains of quality of life using the BREAST-Q questionnaire, the following results were obtained: median breast satisfaction was 44 points, satisfaction with the psychosocial state was 52 points, satisfaction with the sexual state was 24 points, satisfaction with the physical condition was 40 points, satisfaction with the surgeon was 78 points, satisfaction with the medical staff was 80 points satisfaction with non-medical staff - 73 points. According to the results of multivariate analysis, significant predictors of breast satisfaction were self-assessment of physical health ($\beta_{\text{corr}}=-5.83$ (95%CI:-11.27; -0.39); satisfaction with psychosocial condition – age ($\beta_{\text{corr}}=0.54$ (95%CI:0.12; 0.95)), self-assessment of physical health $\beta_{\text{corr}}=-8.28$ (95%CI:-14.71; -1.84) and pain syndrome $\beta_{\text{corr}}=-3.29$ (95%CI:-6.42; -0.16), satisfaction with sexual state – age ($\beta_{\text{corr}}=-0.57$ (95% CI:-0.99; -0.15)), education $\beta_{\text{corr}}=-8.88$ (95%CI:-18.41; -0.64) for the average special and $\beta_{\text{corr}}=-14.33$ (95%CI:-26.65; -1.99) for the average) and marital status $\beta_{\text{corr}}=-10.26$ (95%CI:-17.90; -2.62), and satisfaction with physical condition – self-assessment of pain syndrome $\beta_{\text{corr}}=5.83$ (95%CI:3.57; 8.11). **Conclusion:** A low self-assessment of the quality of life of women of different ages was revealed with a sufficiently high variability of satisfaction by domains: self-assessment of health, pain syndrome and age, which were significant determinants of quality of life for the largest number of domains.

Keywords: breast cancer; quality of life; mastectomy; BREAST-Q; age groups

For citation: Zimin DA, Postoev VA, Menshikova LI, et al. Quality of life of women with breast cancer after radical mastectomy and its socio-demographic determinants. Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):606-620. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-0-9

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в структуре первичной заболеваемости злокачественными новообразованиями (ЗНО) среди женского населения большинства стран мира. Так, в Российской Федерации он составляет 21,2% в структуре заболеваемости и 15,9% в структуре причин смертности от ЗНО. При этом, за последние годы отмечается тенденция к росту заболеваемости. Например, в Архангельской области за 2000-2019 гг. стандартизованная по возрасту заболеваемость РМЖ выросла на 58,7% и составила 51,3 на 10000 населения [1]. В то же время, благодаря внедрению в клиническую практику новых методов лечения в последние годы увеличивается выживаемость в этой группе пациентов: в среднем по Российской

Федерации она составляет 8-9 лет; пятилетняя выживаемость за период с 2000 по 2015 гг. возросла на с 60,3% до 64,5% [2].

Одним из основных методов лечения РМЖ является хирургический метод, в т.ч. радикальная мастэктомия, которая является методом выбора в 20-30% случаев РМЖ [3], при этом именно этот метод является основным в лечении молодых женщин, для которых удаление молочной железы является серьезной психоэмоциональной травмой. Отечественные и зарубежные исследования показывают, что подобные дефекты, даже при благоприятном клиническом прогнозе, значительно ухудшают качество жизни [4, 5, 6]. Под качеством жизни Всемирная организация здравоохранения понимает «индивидуальное восприятие индивидуумом

своего положения в жизни в контексте культуры и системы ценностей, в которых он живет, в связи с целями, ожиданиями, стандартами и интересами этого индивидуума» [7]. При этом влияние на качество жизни заболевания, травмы, физического дефекта или побочных эффектов лечения может зависеть не только от медицинских характеристик состояния (тяжесть, болевой синдром, ограничение жизнедеятельности), но и от ряда социальных (семейное положение, образование) и демографических (возраст) факторов. В связи с увеличением выживаемости пациентов с РМЖ именно понятие "качество жизни" в настоящее время принимает все большее значение, в том числе и как измеряемый показатель эффективности реабилитации [6]. При этом, в онкологии понятие качества жизни имеет особое значение в связи с особенностями самой патологии и радикальностью методов лечения (хирургического, лучевой и химиотерапии). Известно, что разные варианты хирургического лечения рака молочной железы способны оказывать различное влияние на качество жизни прооперированных женщин [8, 9]. Разработанный в 2009 году опросник для оценки качества жизни женщин после хирургического лечения РМЖ BREAST-Q является мощным инструментом, который позволяет наряду с традиционными подходами к оценке качества жизни (например, при помощи опросника SF-36) оценить аспекты, связанные с восприятием женщиной операции, своего внешнего вида, психоэмоционального статуса [10].

Цель исследования. Оценка качества жизни пациенток различного возраста в отдаленном периоде после радикальной мастэктомии с использованием русскоязычной версии опросника BREAST-Q и изучение факторов, ассоциированных с уровнем удовлетворенности различными доменами качества жизни.

Материалы и методы исследования. Нами проведено поперечное социоло-

гическое исследование с участием пациентов, перенесших радикальную мастэктомию по поводу РМЖ и находящихся на диспансерном наблюдении у онколога. Исследование проводилось методом сплошного отбора пациентов, обратившихся в рамках диспансерного наблюдения пациентов в ГБУЗ АО «Архангельский клинический онкологический диспансер». Все женщины проходили комбинированное либо комплексное лечение по поводу рака молочной железы в период с 2021 по 2023 годы. В исследовании преобладали пациентки со II и III стадиями заболевания. Срок диспансерного наблюдения составлял от 6 месяцев до 2 лет. Число участников исследования составило 150 человек, что позволило обеспечить приемлемую мощность исследования (>80%).

Предметом изучения явилось качество жизни пациентов и социально-демографические факторы, связанные с показателями качества жизни. Для оценки качества жизни пациенток, перенесших хирургическое лечение по поводу рака молочной железы, мы использовали специализированный опросник BREAST-Q Модуль «Мастэктомия» версия 2.0 [11], русскоязычная версия которого прошла необходимую проверку надежности [12]. Опросник включает вопросы или утверждения, разделенные на несколько модулей: удовлетворенность состоянием груди, удовлетворенность психо-социальным состоянием, удовлетворенность физическим состоянием, удовлетворенность сексуальным состоянием, удовлетворенность хирургом, медицинским персоналом и немедицинским персоналом. Для женщин, получивших лучевое лечение, предлагался также блок вопросов, позволяющий оценить выраженность побочных эффектов лучевой терапии. Пациенткам нужно было выбрать самый подходящий ответ по поводу какой-либо ситуации, который отражает степень согласия и удовлетворенности или характеризует частоту встречаемости какого-либо признака. Ре-

зультат опроса, полученный в баллах анкеты, переводили в шкалу от 0 до 100 баллов, при этом 0 – совсем нет удовлетворенности, 100 – полная удовлетворенность результатом. В соответствии с рекомендациями все домены оценки качества жизни, оцениваемые при помощи анкеты BREAST-Q, могут использоваться и интерпретироваться независимо друг от друга.

Для оценки влияния различных социально-демографических факторов в анкету были включены вопросы о возрасте, социальном статусе (работающий, неработающий), семейном положении (замужем, не замужем/ в разводе/ вдова), образовании (среднее/ среднее специальное/ высшее), наличии инвалидности (да/нет), самооценке состояния здоровья по шкале от очень плохого до отличного и самооценке физической боли по шкале от 0 до 5 баллов.

Количественные данные в связи с их скошенным распределением представлены в виде медианы и межквартильного интервала (Q3-Q1). Результаты оценки удовлетворенности по каждому из доменов BREAST-Q представлены в виде медианы (Me) и межквартильного интервала (Q3-Q1). С помощью тестов Манна Уитни (в случае двух независимых выборок) и теста Краскела-Уоллеса (в случае трех и более независимых выборок) проведено статистическое сравнение количественных оценок качества жизни по категориям указанных выше социально-демографических факторов. После проверки нормальности распределения остатков и гомоскедастичности в отношении количественных оценок качества жизни, выполнен анализ при помощи метода множественной линейной регрессии для определения изолированного влияния каждого из социально-демографических факторов на показатели качества

жизни. В качестве зависимой переменной использовались значения удовлетворенности по доменам анкеты BREAST-Q, в качестве независимых переменных – возраст, уровень образования, семейное положение, социальный статус, наличие инвалидности, самооценка здоровья и физической боли, удовлетворенность хирургом, медицинским и немедицинским персоналом, проведение радиотерапии. Результаты данного анализа представлены в виде коэффициентов регрессии с 95% доверительными интервалами (95% ДИ). Оценены значимость модели и коэффициент детерминации.

Исследование проведено в соответствии с этическими принципами биомедицинских исследований, все участники исследования давали добровольное информированное согласие на участие в исследовании, анкета была анонимной и не содержала персональной информации, позволяющей идентифицировать личность респондента. Протокол исследования был одобрен комитетом по этике Северного государственного медицинского университета.

Результаты. Медиана возраста участников исследования составила 63 года (Q3-Q1: 55-68). В выборке преобладали пожилые (57,3%) неработающие (75,3%) женщины со средним специальным образованием (59,3%), признанные инвалидами (52,0%). Большинство из них оценивали свое здоровье как посредственное (61,3%), при этом отмечали умеренную выраженность болевого синдрома (40,7%). Распределение социально-демографических и ряда медицинских характеристик в выборочной совокупности представлено в таблице 1.

При оценке качества жизни по доменам анкеты Breast-Q были получены следующие результаты (Рис. 1).

Таблица 1

Социально-демографические характеристики выборочной совокупности
Table 1
Socio-demographic characteristics of study sample, absolute numbers, %

Характеристика	Количество, n	Частотное распределение, %
Возраст (лет)		
- 25-44	18	12,0%
- 45-59	40	26,7%
- 60-74	86	57,3%
- 75-89	6	4,0%
Образование		
- Среднее	27	18,0%
- Среднее специальное	89	59,3%
- Высшее	34	33,7%
Социальный статус		
- Работающий	37	24,7%
- Неработающий	113	75,3%
Семейное положение		
- Замужем	75	50,0%
- Не замужем/в разводе/вдова	75	50,0%
Наличие инвалидности		
- Нет	72	48,0%
- Есть	78	52,0%
Самооценка состояния физического здоровья:		
- Отличное	2	1,3%
- Очень хорошее	1	0,7%
- Хорошее	43	28,7%
- Посредственное	92	61,3%
- Плохое	12	8,0%
Самооценка болевого синдрома		
- Нет	30	20,0%
- Очень слабая	24	16,0%
- Слабая	25	16,7%
- Умеренная	61	40,7%
- Сильная	10	6,7%
- Очень сильная	0	0%

По результатам однофакторного анализа установлено, что из всех изучаемых факторов, самооценка состояния здоровья и самооценка болевого синдрома были значимо ассоциированы со всеми четырьмя изучаемыми доменами качества жизни (Табл. 2). В то же время удовлетворенность сексуальным состоянием значимо

отличалась по уровням образования ($p=0,002$) и в зависимости от семейного положения ($p=0,0001$), а удовлетворенность физическим состоянием значимо отличалась между работающими и неработающими ($p=0,0008$), а также у лиц с наличием стойкой утраты трудоспособности и без таковой ($p=0,0009$).

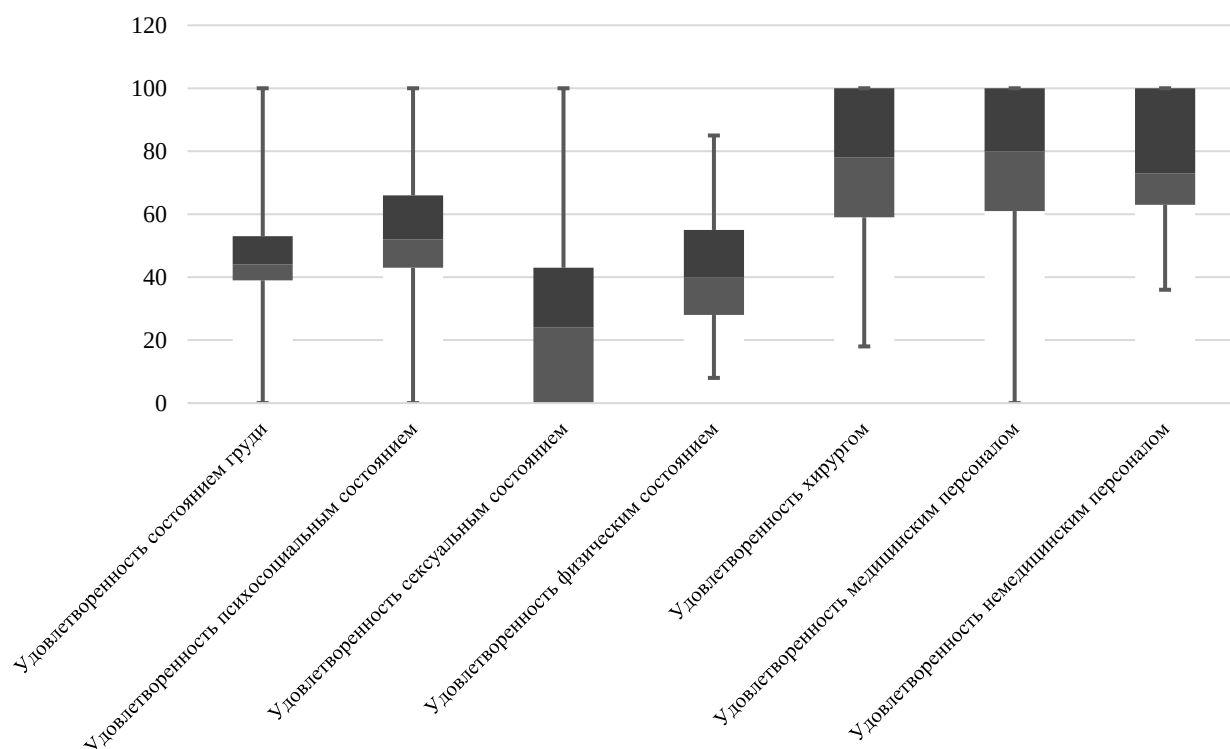


Рис. 1. Оценка качества жизни женщин после радикальной мастэктомии по доменам BREAST-Q (медиана, Q3-Q1, максимальное и минимальное значение)
Fig. 1. Quality of life estimation across BREAST-Q domains (medians, interquartile ranges, maximum and minimum values)

По результатам анализа методом множественной линейной регрессии с коррекцией на взаимное влияние указанных социально-демографических факторов, проведенное лечение и удовлетворенность врачом и персоналом, значимое влияние на удовлетворенность состоянием груди оказывала самооценка состояния физического здоровья; на удовлетворенность психосоциальным состоянием – возраст, самооценка физического здоровья и болевого синдрома, на удовлетворенность сексуальным состоянием – возраст, образование и семейное по-

ложение, на удовлетворенность физическим состоянием – самооценка болевого синдрома (Табл. 3). Коэффициент детерминации для модели, моделирующей уровень удовлетворенности состоянием груди, составил 0,15 (p для модели = 0,034), для удовлетворенности психосоциальным состоянием – 0,24 (p для модели = 0,00004), для удовлетворенности сексуальным состоянием – 0,22 (p для модели <0,00001), а для удовлетворенности физическим состоянием – 0,33 (p для модели <0,00001).

Таблица 2

**Различия в самооценке качества жизни по доменам BREAST-Q
в зависимости от социально-демографических характеристик женщин
(медиана, межквартильный размах (Q3-Q1))**

Table 2

**Differences in self-assessed quality of life across BREAST-Q domains according
to socio-demographic factors (medians, interquartile ranges)**

Характеристика	Удовлетворен- ность состоянием груди	Удовлетворенность психосоциальным состоянием	Удовлетворенность сексуальным со- стоянием	Удовлетворенность физическим состо- янием
Образование				
- Среднее	44(24)	46 (12)	0 (39)	45 (24)
- Среднее специаль- ное	44 (14)	50 (27)	24 (41)	40 (32)
- Высшее	48 (9)	58 (18)	39 (24)	40 (31)
	$p^1=0,35$	$p^1=0,13$	$p^1=0,002$	$p^1=0,29$
Социальный статус				
- Работающий	39 (24)	52 (23)	59 (33)	32 (16)
- Неработающий	44 (14)	51 (26)	60,5 (31)	45 (28)
	$p^2=0,20$	$p^2=0,87$	$p^2=0,20$	$p^2=0,0008$
Инвалидность				
- Есть	44 (16)	50 (27)	31 (43)	36 (19)
- Нет	48 (14)	52 (21)	20 (39)	45 (24)
	$p^2=0,61$	$p^2=0,52$	$p^2=0,06$	$p^2=0,0009$
Семейное положение				
- Замужем	48 (19)	53 (32)	34 (23)	32 (26)
- Не замужем/в раз- воде/Вдова	44 (14)	49 (20)	14 (31)	28 (20)
	$p^2=0,08$	$p^2=0,46$	$p^2=0,0001$	$p^2=0,34$
Самооценка состояния здоровья				
- Отличное	-	32 (0)	-	24 (28)
- Очень хорошее	64 (0)	8 (0)	59 (0)	8 (20)
- Хорошее	53 (9)	32 (21)	41 (31)	24 (28)
- Посредственное	44 (14)	40 (32)	14 (34)	40 (27)
- Плохое	28,5 (39)	55 (10)	31 (27)	28 (48)
	$p^1=0,0001$	$p^1=0,0001$	$p^1=0,0001$	$p^1=0,0003$
Самооценка болевого синдрома				
Нет	48 (19)	66 (35)	68 (34,5)	24 (24)
Очень слабая	44 (14)	49,5 (21,5)	74 (28)	40 (30)
Слабая	48 (19)	52 (18)	59 (24)	40 (17)
Умеренная	48 (14)	52 (20)	46 (20)	50 (24)
Сильная	28,5 (39)	34 (9)	34 (0)	50 (10)
Очень сильная	-	-	-	-
	$p^1=0,008$	$p^1=0,0002$	$p^1=0,046$	$p^1=0,0001$

Примечание: p^1 – для теста Краскела-Уоллеса; p^2 – для теста Манна Уитни.

Note: p^1 – for the Kraskell-Wallace test; p^2 – for the Mann-Whitney test.

Таблица 3

**Социально-демографические детерминанты качества жизни женщин
после радикальной мастэктомии
(результаты множественного линейного регрессионного анализа)**

Table 3

**Socio-demographic determinants of quality of life in women after radical mastectomy
(results of multiple regression analysis)**

Характеристика	Удовлетворенность состоянием груди, β корр. (95%ДИ) ¹	Удовлетворенность психосоциальным состоянием, β корр. (95%ДИ)	Удовлетворенность сексуальным состоянием, β корр. (95%ДИ)	Удовлетворенность физическим состоянием, β корр. (95%ДИ)
Возраст	0,23 (-0,12; 0,58)	0,54 (0,12; 0,95) *	-0,57 (-0,99; -0,15) *	-0,021 (-0,32; 0,28)
Самооценка физического здоровья	-5,83 (-11,27; -0,39) *	-8,28 (-14,71; -1,84) *	-4,43 (-11,02; 2,14)	4,07 (-0,58; 8,72)
Самооценка болевого синдрома	0,56 (-2,09; 3,20)	-3,29 (-6,42; -0,16) *	0,08 (-3,29; 3,13)	5,83 (3,57; 8,11) *
Образование: - Высшее - Среднее специальное - Среднее	Реф. -4,21 (-12,04; 3,62) -6,80 (-17,01; 3,41)	Реф. -5,44 (-14,71; 3,82) 11,89 (-23,98; 0,18)	Реф. -8,88 (-18,41; -0,64) * -14,33 (-26,65; -1,99) *	Реф. 0,44 (-6,26; 7,15) 1,22 (-7,52; 9,96)
Социальный статус: - Работающий - Неработающий	Реф. 3,50 (-5,29; 12,29)	Реф. 4,57 (-5,82; 14,96)	Реф. 5,64 (-5,16; 16,44)	Реф. 7,42 (-0,11; 14,94)
Инвалидность - Нет - Есть	Реф. 0,40 (-6,49; 7,29)	Реф. 3,42 (-4,72; 11,57)	Реф. -3,16 (-11,52; 5,21)	Реф. 3,81 (-2,09; 9,71)
Семейное положение - Замужем - Не замужем/в разводе/Вдова	Реф. -3,20 (-10,20; 2,36)	Реф. -5,97 (-13,39; 1,45)	Реф. -10,26 (-17,90; -2,62) *	Реф. 2,19 (-3,18; 7,56)
Лучевая терапия Нет Да	Реф. -6,23 (-12,83; 0,36)	Реф. -3,17 (-10,96; 4,64)	Реф. -6,82 (-14,83; 1,20)	Реф. 0,09 (-5,63; 5,65)

Примечание: ¹ – скорректированный на представленные в таблице факторы коэффициент регрессии; * – значение регрессионного коэффициента значимо ($p < 0,05$).

Note: ¹ – regression coefficient adjusted for the factors presented in the table; * – regression coefficient value is significant ($p < 0.05$).

Обсуждение. Качество жизни, являясь одним из интегральных показателей, позволяет оценивать эффективность лечения. Мастэктомия потенциально является очень травмирующим событием. Помимо непосредственных опасений за свое здоровье и продолжительность жизни, связанные

с РМЖ, пациенты испытывают страх и неуверенность по поводу своей внешности, социальной адаптации и сексуальной жизни. Опросник BREAST-Q является важным инструментом, т.к. позволяет измерять специфические для пациентов с РМЖ характеристики качества жизни. Его надежность в отношении этой группы пациентов

была подтверждена как в отдельных исследованиях [12, 13], так и систематических обзорах [14]. Полученные нами результаты подтверждают ранее продемонстрированное другими авторами с использованием BREAST-Q [8, 15, 16] и при помощи других опросников [17, 18] значимое снижение качества жизни пациенток после проведенной радикальной мастэктомии, при этом наши результаты количественно были ниже результатов, полученных в аналогичных исследованиях. Так, в сравнении с оценкой качества жизни женщин после радикальной мастэктомии, полученными Eltahir Y. и соавт. с участием выборки женщин с РМЖ в Онтарио (Канада) [15], наши результаты были оказались значительно ниже по всем оцениваемым доменам, включая удовлетворенность хирургом, медицинским и немедицинским персоналом. В то же время медианные оценки по доменам «удовлетворенность состоянием груди» и «удовлетворенность сексуальным состоянием» с учетом межквартильного интервала в нашем исследовании были сопоставимы с результатами, полученными Мантуровой Н.Е. и соавт. для группы женщин без последующих реконструктивных операций [8]. В сравнении с указанным выше исследованием, полученные нами оценки качества жизни по доменам «удовлетворенность психосоциальным состоянием» и «удовлетворенность физическим состоянием» были ниже. Одной из причин этого могла стать значимая разница в возрасте пациентов между этими исследованиями, группа пациентов в исследовании Мантуровой Н.Е. и соавт была моложе. При этом возраст, как одна из детерминант качества жизни, в нашем исследовании был значимо ассоциирован с двумя доменами по BREAST-Q: «удовлетворенность психосоциальным благополучием» и «удовлетворенность сексуальным благополучием». Влияние возраста как значимого фактора, связанного с качеством жизни пациентов с РМЖ, было установлено и в других исследованиях [18, 19], но использованные авторами анкеты (например, опросник качества жизни, связанного со здоровьем) являлись неспецифичным для РМЖ и проведенного

лечения, что не позволяло оценить удовлетворенность отдельными доменами качества жизни, характерными для данной категории пациентов [18]. Интересным представляется то, что если для домена «удовлетворенность сексуальным благополучием» в нашем исследовании была установлена негативная взаимосвязь с возрастом, то для психосоциального благополучия связь была положительная, т.е. по мере увеличения возраста удовлетворенность своим психосоциальным благополучием у данной группы пациентов возрастала. Это может быть объяснено тем, что пациентки старших возрастных групп психологически проще воспринимали перенесенное оперативное лечение и были лучше адаптированы в обществе. Это соотносится с мнением ряда авторов о том, что более молодые женщины могут испытывать больше эмоциональных проблем, что, в свою очередь, может оказывать влияние на удовлетворенность психосоциальным благополучием [20]. Данный факт подтверждается и результатами, полученными Musarezaie A и соавт., установившими связь между возрастом и ментальным доменом качества жизни [19].

Среди других изученных детерминант значимые связи с уровнем качества жизни по доменам BREAST-Q в моновариантном анализе были установлены для самооценки состояния здоровья и самооценки болевого синдрома, что, с одной стороны, может являться отражением клинической ситуации, т.е. диагноза, стадии, стажа заболевания. С другой стороны, самооценка состояния здоровья, как интегральный показатель, включает в себя оценку не только наличия или отсутствия симптомов заболевания, но отражает психологическое благополучие, т.е. самооценку своих возможностей и качеств, осознания жизненной перспективы, адаптации в обществе. Подобные взаимосвязи между качеством жизни и самооценкой состояния здоровья ранее были установлены и для пациентов с другой патологией [21]. При проведении многофакторного анализа сохранялась значимая положительная связь между самооценкой состояния здоровья и

двумя из четырех доменов опросника BREAST-Q: «удовлетворенность областью груди» и «удовлетворенность психосоциальным состоянием». Интересно, что величина регрессионных коэффициентов для самооценки состояния здоровья как предиктора второго из указанных доменов была в два раза выше, что, на наш взгляд, говорит о значительном вкладе именно психологических факторов и качества социальной реабилитации в числовую оценку как самооценки состояния здоровья, так и качества жизни женщин после радикальной мастэктомии. В целом, многие авторы сходятся во мнении, что психологический настрой пациента является одним из ведущих предикторов качества жизни [22], что необходимо учитывать при формировании программ психологической и социальной реабилитации для данных пациентов.

Уровень образования и семейное положение были значимо ассоциированы с самооценкой пациентками сексуального благополучия. При этом, связи, установленные по результатам моновариантного анализа, сохранялись и в множественной регрессионной модели. Значения регрессионных коэффициентов были отрицательными для более низких, по сравнению с высшим, уровней образования и для женщин, не состоящих в браке. Ранее проведенные исследования также демонстрировали роль семейного положения и образования [19, 23, 24], как детерминант качества жизни по отдельным доменам, но с оценкой по другим методиками (SF-36, основная анкета Европейской организации по исследованию и лечению рака + модуль для молочной железы).

Проведенное исследование, по нашему мнению, является первым в России, в ходе которого не просто проведена оценка качества жизни женщин после оперативного лечения по поводу РМЖ при помощи методики BREAST-Q, но и изучены социально-демографические детерминанты. В то же время, как и любое выборочное исследование, оно имеет ряд ограничений, в первую очередь связанных с вероятными ошибками отбора. В исследовании

принимали участие женщины, подлежащие диспансерному наблюдению и давшие добровольное информированное согласие, при этом, вероятно, что среди отказавшихся от участия пациентов доля женщин с более низким уровнем удовлетворенности качеством жизни могла быть выше. В исследовании возможны информационные ошибки, обусловленные недостаточной откровенностью женщин при ответе на вопросы, содержащие чувствительную для них информацию. Указанные смещения, могли привести к недифференциальной мисклассификации участников по исходу, результатом которой могла явиться недооценка изучаемых связей.

Заключение. Проведенное исследование продемонстрировало низкую самооценку качества жизни женщин, оцененную при помощи опросника BREAST-Q с достаточной высокой вариабельностью удовлетворенности по доменам. Среди социально-демографических и медицинских факторов самооценка здоровья, болевого синдрома и возраст были значимыми детерминантами качества жизни по наибольшему числу доменов. В то же время образование и семейное положение оказывали значимое влияние только на удовлетворенность сексуальным благополучием. Результаты исследования демонстрируют необходимость учета не только медицинских факторов, но и социальных характеристик женщины, ее возраста для повышения эффективности медицинской и социальной реабилитации пациентов с РМЖ.

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. Мерабишвили ВМ. Состояние онкологической помощи в России: рак молочной железы среди женского населения. Заболеваемость, смертность, достоверность учета, детальная локализационная и гистологическая структура. (Популяционное исследование на уровне федерального округа). Вопросы онкологии. 2022;68(3):286-293. DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2022-68-3-286-293>
2. Мерабишвили ВМ, Семиглазов ВФ, Комяхов АВ, и др. Состояние онкологической помощи в России: рак молочной железы. Эпидемиология и выживаемость больных. Влияние эпидемии бета-варианта коронавируса SARS-CoV-2 (клинико-популяционное исследование). Опухоли женской репродуктивной системы. 2023;19(3):16-24. DOI: <https://orcid.org/10.17650/1994-4098-2023-19-3-16-24>
3. García-Solbas S, Lorenzo-Liñán MÁ, Castro-Luna G. Long-Term Quality of Life (BREAST-Q) in Patients with Mastectomy and Breast Reconstruction. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2021;18(18):9707. DOI: <https://orcid.org/10.3390/ijerph18189707>
4. Масляков ВВ, Лёвина ВА, Накаева ЕЮ. Качество жизни и послеоперационная реабилитация больных раком молочной железы. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2014;1(33):26-38. DOI: <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2014.09007>
5. Kaviani A, Sodagari N, Sheikhabaei S, et al. From radical mastectomy to breast-conserving therapy and oncoplastic breast surgery: a narrative review comparing oncological result, cosmetic outcome, quality of life, and health economy. ISRN Oncology. 2013;2013:742462. DOI: <https://orcid.org/10.1155/2013/742462>
6. Климова МО, Гладков ЮО. Психологические особенности женщин, перенесших секторальную резекцию либо мастэктомию при раке молочной железы. Общество: социология, психология, педагогика. 2024;1:98-105. DOI: <https://doi.org/10.24158/spp.2024.1.10>
7. World Health Organization official website [Internet]. WHOQOL: Measuring Quality of Life. [cited 2024 March 2]. URL: <https://www.who.int/tools/whoqol#:~:text=WHO%20defines%20Quality%20of%20Life,goals%2C%20expectations%2C%20standards%20and%20concerns>
8. Мантурова НЕ, Исмагилов АХ, Карасев ВЕ. Качество жизни пациенток в позднем послеоперационном периоде различных вариантов хирургического лечения рака молочной железы. Пластическая хирургия и эстетическая медицина. 2022;3:5-12. DOI: <https://doi.org/10.17116/plast.hirurgia20220315>
9. Xu C, Lu P, Pfof A, et al. Physical well-being recovery trajectories by reconstruction modality in women undergoing mastectomy and breast reconstruction: Significant predictors and health-related quality of life outcomes. PLoS ONE. 2023;18(7):e0289182. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289182>
10. Pusic AL, Klassen AF, Scott AM, et al. Development of a new patient-reported outcome measure for breast surgery: the BREAST-Q. Plastic and Reconstructive Surgery. 2009;124(2):345-353. DOI: <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181aee807>
11. Gallo L, Chu JJ, Shamsunder MG, et al. Best Practices for BREAST-Q Research: A Systematic Review of Study Methodology. Plastic and Reconstructive Surgery. 2022;150(3):526e-535e. DOI: <https://doi.org/10.1097/PRS.00000000000009401>
12. Исмагилов АХ, Ягджян ГВ, Ванесян АС. Алгоритм транскультурной адаптации опросника BREAST-Q. Поволжский онкологический вестник. 2013;3:49-51.
13. Weick L, Grimby-Ekman A, Lunde C, et al. Validation and reliability testing of the BREAST-Q expectations questionnaire in Swedish. Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery. 2023;57(1-6):315-323. DOI: <https://doi.org/10.1080/2000656X.2022.2070180>
14. Seth I, Seth N, Bulloch G, et al. Systematic Review of Breast-Q: A Tool to Evaluate Post-Mastectomy Breast Reconstruction. Breast Cancer: Targets and Therapy. 2021;13:711-724. DOI: <https://doi.org/10.2147/BCTT.S256393>
15. Eltahir Y, Werners LH, Dreise MM, et al. Quality-of-Life Outcomes between Mastectomy Alone and Breast Reconstruction: Comparison of Patient-Reported BREAST-Q and Other Health-Related Quality-of-Life Measures. Plastic and Reconstructive Surgery. 2013;132(2):201e-209e. DOI: <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e31829586a7>
16. Исмагилов АХ, Карасев ВЕ. Психологическое состояние и качество жизни пациенток после различных вариантов хирургического лечения рака молочной железы в ран-

нем послеоперационном периоде. Пластическая хирургия и эстетическая медицина. 2022;1:49-55. DOI:

<https://doi.org/10.17116/plast.hirurgia202201149>

17. Marinkovic M, Djordjevic N, Djordjevic L, et al. Assessment of the quality of life in breast cancer depending on the surgical treatment. Supportive Care in Cancer. 2021;29(6):3257-3266. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00520-020-05838-7>

18. Gupta N, Pandey AK, Dimri K, et al. Health-related quality of life among breast cancer patients in India. Supportive Care in Cancer. 2022;30(12):9983-9990. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00520-022-07395-7>

19. Musarezaie A, Zargham-Boroujeni A. Quality of life and related factors among the women undergoing mastectomy. Iranian Journal of Nursing and Midwifery Research. 2015;20(2):287-291.

20. Сергиенко ЕА, Циринг ДА, Пахомова ЯН, и др. Субъективный возраст женщин с раком молочной железы в системе психологических факторов. Клиническая и специальная психология. 2022;1(11):67-89. DOI: <https://doi.org/10.17759/cpse.2022110104>

21. Larsen ASF, Reiersen AT, Nådland IH, et al. Self-reported health status and disease-specific quality of life one year after treatment for peripheral arterial disease in clinical practice. Health and Quality of Life Outcomes. 2020; 18(1):235. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12955-020-01477-y>

22. Batool T, Iranmanesh S, Fazel A, et al. Quality of life and mood state in Iranian women post mastectomy. Clinical Journal of Oncology Nursing. 2012;16(3):E118-E122. DOI: <https://doi.org/10.1188/12.CJON.E118-E122>

23. Maharjan M, Thapa N, Adhikari R, et al. Quality of Life of Nepalese Women Post Mastectomy. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2018;19(4):1005-1012. DOI: <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.4.1005>

24. Suo R, Ye F, Xie M, et al. Quality of sexual life and associated factors: a cross-sectional survey of Chinese breast cancer patients. Supportive Care in Cancer. 2023;31(2):120. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00520-023-07588-8>

References

1. Merabishvili VM. The state of cancer care in Russia: breast cancer among the female population. Morbidity, mortality, index of accuracy, detailed localization and histological structure. (Population study at the federal district level). Voprosy onkologii. 2022;68(3):286-293. Russian.

DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2022-68-3-286-293>

2. Merabishvili VM, Semiglazov VF, Kom-yakhov AV, et al. The state of cancer care in Russia: breast cancer. Epidemiology and survival of patients. The impact of the SARS-CoV-2-beta-coronavirus epidemic (clinical and population study). Tumors of female reproductive system. 2023;19(3):16-24. Russian. DOI: <https://orcid.org/10.17650/1994-4098-2023-19-3-16-24>

3. García-Solbas S, Lorenzo-Liñán MÁ, Castro-Luna G. Long-Term Quality of Life (BREAST-Q) in Patients with Mastectomy and Breast Reconstruction. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2021;18(18):9707. DOI: <https://orcid.org/10.3390/ijerph18189707>

4. Maslyakov VV, Levina VA, Nakaeva EY. Quality of life and postoperative rehabilitation of patients with cancer of the mammary gland. Medical News of North Caucasus. 2014;1(33):26-38. Russian. DOI: <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2014.09007>

5. Kaviani A, Sodagari N, Sheikhabaei S, et al. From radical mastectomy to breast-conserving therapy and oncoplastic breast surgery: a narrative review comparing oncological result, cosmetic outcome, quality of life, and health economy. ISRN Oncology. 2013;2013:742462. DOI: <https://orcid.org/10.1155/2013/742462>

6. Klimova MO, Gladkov YuO. Psychological Features of Women Undergoing Sectoral Resection or Mastectomy for Breast Cancer. Society: Sociology, Psychology, Pedagogics. 2024;1:98-105. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24158/spp.2024.1.10>

7. World Health Organization official website [Internet]. WHOQOL: Measuring Quality of Life. [cited 2024 March 2]. Available from: <https://www.who.int/tools/whoqol#:~:text=WHO%20defines%20Quality%20of%20Life,goals%2C%20expectations%2C%20standards%20and%20concerns>

8. Manturova NE, Ismagilov AKh, Karasev VE. Quality of life in long-term postoperative period after various surgical treatments of breast cancer. Plastic Surgery and Aesthetic Medicine. 2022;3:5-12. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/plast.hirurgia20220315>

9. Xu C, Lu P, Pfof A, et al. Physical well-being recovery trajectories by reconstruction modality in women undergoing mastectomy and breast reconstruction: Significant predictors and health-related quality of life outcomes. PLoS ONE.

2023;18(7):e0289182. DOI:
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289182>

10.Pusic AL, Klassen AF, Scott AM, et al. Development of a new patient-reported outcome measure for breast surgery: the BREAST-Q. Plastic and Reconstructive Surgery. 2009;124(2):345-353. DOI:
<https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181aee807>

11.Gallo L, Chu JJ, Shamsunder MG, et al. Best Practices for BREAST-Q Research: A Systematic Review of Study Methodology. Plastic and Reconstructive Surgery. 2022;150(3):526e-535e. DOI:
<https://doi.org/10.1097/PRS.00000000000009401>

12.Ismagilov AKh, Yagdjyan GV, Vanesyan AS. Algorithm of cross-cultural adaptation of the BREAST-Q questionnaire. Oncology Bulletin of the Volga Region. 2013;3:49-51. Russian.

13.Weick L, Grimby-Ekman A, Lunde C, et al. Validation and reliability testing of the BREAST-Q expectations questionnaire in Swedish. Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery. 2023;57(1-6):315-323. DOI:
<https://doi.org/10.1080/2000656X.2022.2070180>

14.Seth I, Seth N, Bulloch G, et al. Systematic Review of Breast-Q: A Tool to Evaluate Post-Mastectomy Breast Reconstruction. Breast Cancer: Targets and Therapy. 2021;13:711-724. DOI:
<https://doi.org/10.2147/BCTT.S256393>

15.Eltahir Y, Werners LH, Dreise MM, et al. Quality-of-Life Outcomes between Mastectomy Alone and Breast Reconstruction: Comparison of Patient-Reported BREAST-Q and Other Health-Related Quality-of-Life Measures. Plastic and Reconstructive Surgery. 2013;132(2):201e-209e. DOI:
<https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e31829586a7>

16.Ismagilov AKh, Karasev VE. Mental status and quality of life after various options of surgical treatment of breast cancer in early postoperative period. Plastic Surgery and Aesthetic Medicine. 2022;1:49-55. Russian. DOI:
<https://doi.org/10.17116/plast.hirurgia202201149>

17.Marinkovic M, Djordjevic N, Djordjevic L, et al. Assessment of the quality of life in breast cancer depending on the surgical treatment. Supportive Care in Cancer. 2021;29(6):3257-3266. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00520-020-05838-7>

18.Gupta N, Pandey AK, Dimri K, et al. Health-related quality of life among breast cancer patients in India. Supportive Care in Cancer. 2022;30(12):9983-9990. DOI:
<https://doi.org/10.1007/s00520-022-07395-7>

19.Musarezaie A, Zargham-Boroujeni A. Quality of life and related factors among the women undergoing mastectomy. Iranian Journal of Nursing and Midwifery Research. 2015;20(2):287-291.

20.Sergienko EA, Tsiring DA, Pakhomova YN, et al. Subjective Age of Women with Breast Cancer in the System of Psychological Factors. Clinical Psychology and Special Education. 2022;1(11):67-89. Russian. DOI:
<https://doi.org/10.17759/cpse.2022110104>

21.Larsen ASF, Reiersen AT, N  dland IH, et al. Self-reported health status and disease-specific quality of life one year after treatment for peripheral arterial disease in clinical practice. Health and Quality of Life Outcomes. 2020; 18(1):235. DOI:
<https://doi.org/10.1186/s12955-020-01477-y>

22.Batool T, Iranmanesh S, Fazel A, et al. Quality of life and mood state in Iranian women post mastectomy. Clinical Journal of Oncology Nursing. 2012;16(3):E118-E122. DOI:
<https://doi.org/10.1188/12.CJON.E118-E122>

23.Maharjan M, Thapa N, Adhikari R, et al. Quality of Life of Nepalese Women Post Mastectomy. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2018;19(4):1005-1012. DOI:
<https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.4.1005>

24.Suo R, Ye F, Xie M, et al. Quality of sexual life and associated factors: a cross-sectional survey of Chinese breast cancer patients. Supportive Care in Cancer. 2023;31(2):120. DOI:
<https://doi.org/10.1007/s00520-023-07588-8>

Статья поступила в редакцию 11 марта 2023 г.
Поступила после доработки 20 апреля 2023 г.
Принята к печати 15 мая 2023 г.

Received 11 March 2023

Revised 20 April 2023

Accepted 15 May 2023

Информация об авторах

Дмитрий Александрович Зимин, главный врач ООО «Новые технологии Плюс», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: dmitriyzimin029@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6114-9202>.

Виталий Александрович Постоев, кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой методологии научных исследований, заведующий Архангельской школой общественного здоровья ФГБОУ ВО «Северный государственный

медицинский университет», г. Архангельск, Российская Федерация, E-mail: ispha@nsmu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4982-4169>.

Лариса Ивановна Меньшикова, доктор медицинских наук, профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья с курсом оценки технологий здравоохранения ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», г. Москва; профессор кафедры общественного здоровья, здравоохранения и социальной работы ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет», г. Архангельск, Российская Федерация, E-mail: menshikova1807@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3034-9014>.

Ирина Михайловна Сон, доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки Российской Федерации, советник ректора ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: sonirinami@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9309-2853>.

Кирилл Дмитриевич Сидоренко, студент ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: kirillsidorenko451@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-5067-4639>.

Information about the authors

Dmitry A. Zimin, Chief Physician, New Technologies Plus Ltd., Moscow, Russia, E-mail: dmitriy-zimin029@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6114-9202>.

Vitaly A. Postoev, Cand. Sci. (Medicine), Acting Head of the Department of Research Methodology, Head of the Arkhangelsk School of Public Health, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia, E-mail: ispha@nsmu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4982-4169>.

Larisa I. Menshikova, Doct. Sci. (Medicine), Professor at the Department of Health Care Organisation and Public Health with a course in Health Technology Assessment, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow; Professor at the Department of Public Health, Health Care and Social Work, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia, E-mail: menshikova1807@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3034-9014>.

Irina M. Son, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Honoured Scientist of the Russian Federation, Advisor to the Rector, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia, E-mail: sonirinami@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9309-2853>.

Kirill D. Sidorenko, Student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, E-mail: kirillsidorenko451@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-5067-4639>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-1-0

УДК 614.8:352.14(871.24+315.64)

Особенности воспалительного процесса у пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией

О.Л. Фабрикантов¹ , Н.В. Попова¹ , Ю.Ю. Блинков² ,
А.А. Шорохова³ , А.Е. Воронина⁴

¹ 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

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет»,
ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Юго-Западный государственный университет»,
ул. 50 лет Октября, д. 94, г. Курск, 305040, Российская Федерация

⁴ Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова»,
ул. Салмышская, д. 17, г. Оренбург, 460047, Российская Федерация

Автор для переписки: А.А. Шорохова (shorohova20015@gmail.com)

Резюме

Актуальность: Приоритетной проблемой современной геронтологии и гериатрии в настоящее время называется социальная изоляция, представляющая объективное индивидуальное состояние, и отражающая отсутствие социальных отношений или редкость социальных контактов. Наряду с последним в формировании социальной изоляции участвует активно воспалительная реакция, но она изучена при социальной изоляции лишь в единичных публикациях по изменению в системном кровотоке классических маркеров воспаления – С-реактивного белка и IL-6, а среди пациентов с возрастной макулярной дегенерацией вообще не рассматривалась. **Цель исследования:** Изучение особенностей воспалительного процесса у пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией. **Материалы и методы:** Исследовано 92 пациента 60-74 лет с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией, а также 88 пациентов того же возраста с социальной изоляцией без возрастной макулярной дегенерации. Выявление социальной изоляции выполнено по модифицированному индексу социальной изоляции. Возрастная макулярная дегенерация диагностировалась на основе критериев классификации Age-Related Eye Disease Study и по результатам многопланового офтальмологического обследования. Воспаление оценивалось по содержанию в периферической крови С-реактивного белка, интерлейкинов и хемокинов. **Результаты:** Среди пациентов пожилого возраста с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией по сравне-

нию с представителями, имеющими только социальную изоляцию, установлены статистически значимо более высокие уровни всех изученных биомаркеров воспаления. Особенно существенно у пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией выше было содержание в крови хемокинов GRO(α)/CXCL1 и MIP-1(α)/CCL3, экспрессия которых составила $18,3 \pm 1,4$ пг/мл и $3,8 \pm 0,7$ пг/мл соответственно против $6,4 \pm 0,9$ пг/мл и $1,7 \pm 0,3$ пг/мл в группе лиц с социальной изоляцией. У пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией статистически значимо выше оказалось содержание в крови IL-6, достигшее $50,2 \pm 2,2$ пг/мл против $24,9 \pm 1,4$ пг/мл в группе лиц с социальной изоляцией ($P < 0,001$). Следует также отметить повышенный уровень IL-7, повысившегося до $24,5 \pm 1,7$ пг/мл против $14,3 \pm 0,9$ пг/мл соответственно ($P < 0,01$). **Заключение:** Сочетание социальной изоляции и возрастной макулярной дегенерации в пожилом возрасте сопровождается более высоким содержанием всех маркеров воспаления и, прежде всего, цитокинов GRO(α)/CXCL1, MIP-1(α)/CCL3 и IL-6, которые следует применять в качестве маркеров социальной изоляции при возрастной макулярной дегенерации.

Ключевые слова: социальная изоляция; возрастная макулярная дегенерация; воспаление; хемокины; интерлейкины; С-реактивный белок

Для цитирования: Фабрикантов ОЛ, Попова НВ, Блинков ЮЮ, и др. Особенности воспалительного процесса у пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией. Научные результаты биомедицинских исследований. 2024;10(4):621-635. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-1-0

Features of the inflammatory process in patients with social isolation and age-related macular degeneration

Oleg L. Fabrikantov¹ , Natalia V. Popova¹ , Yuri Y. Blinkov² ,
Anastasia A. Shorokhova³ , Alexandra E. Voronina⁴ 

¹ Academician S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution,
1 Rasskazovskoe Hgw., Tambov, 392000, Russia

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

³ Southwest State University,
94 50 Let Oktyabrya St., Kursk, 305040, Russia

⁴ Academician S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution,
17 Salmyskaya St., Orenburg, 460047, Russia

Corresponding author: Anastasia A. Shorokhova (shorokhova20015@gmail.com)

Abstract

Background: The priority problem of modern gerontology and geriatrics is currently social isolation, which represents an objective individual condition and reflects the absence of social relationships or the rarity of social contacts. Together with the latter, an inflammatory response is actively involved in the formation of social isolation, but it has only been studied in social isolation in isolated publications on changes in the systemic blood flow of classic markers of inflammation – C-reactive protein and IL-6 – and has not been considered at all in patients with age-related macular degeneration. **The aim of the study:** To study the features of the inflammatory process in patients with social isolation

and age-related macular degeneration. **Materials and methods:** 92 60-74 year-old patients with social isolation and age-related macular degeneration, as well as 88 patients of the same age with social isolation without age-related macular degeneration were examined. The identification of social isolation was performed using a modified index of social isolation. Age-related macular degeneration was diagnosed based on the classification criteria of the Age-Related Eye Disease Study and based on the results of a multidisciplinary ophthalmological examination. Inflammation was assessed by the content of C-reactive protein, interleukins and chemokines in peripheral blood. **Results:** Statistically significantly higher levels of all studied biomarkers of inflammation were found in elderly patients with social isolation and age-related macular degeneration compared with representatives with only social isolation. Especially significantly in patients with social isolation and age-related macular degeneration, the blood content of the chemokines GRO(α)/CXCL1 and MIP-1(α)/CCL3 was higher, the expression of which was 18.3 ± 1.4 pg/ml and 3.8 ± 0.7 pg/ml, respectively, versus 6.4 ± 0.9 pg/ml and 1.7 ± 0.3 pg/ml in the group of people with social isolation. In patients with social isolation and age-related macular degeneration, the blood content of IL-6 was significantly higher, reaching 50.2 ± 2.2 pg/ml versus 24.9 ± 1.4 pg/ml in the group of people with social isolation ($P < 0.001$). It should also be noted that the increased level of IL-7 increased to 24.5 ± 1.7 pg/ml versus 14.3 ± 0.9 pg/ml, respectively ($P < 0.01$). **Conclusion:** The combination of social isolation and age-related macular degeneration in old age is accompanied by a higher content of all markers of inflammation and, above all, cytokines GRO(α)/CXCL1, MIP-1(α)/CCL3 and IL-6, which should be used as markers of social isolation in age-related macular degeneration.

Keywords: social isolation; age-related macular degeneration; inflammation; chemokines; interleukins; C-reactive protein

For citation: Fabrikantov OL, Popova NV, Blinkov YY, et al. Features of the inflammatory process in patients with social isolation and age-related macular degeneration. Research Results in Biomedicine. 2024;10(4):621-635. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-4-1-0

Введение. Старение или старость часто сопровождаются целым рядом проблем, таких как ухудшение здоровья, когнитивных способностей и социальных связей, снижение мобильности, одиночество и повышенная социальная изоляция, бросающие вызов их общему здоровью и благополучию [1-4]. Всемирная организация здравоохранения подчеркнула важность здорового старения с комплексным подходом к благополучию, включающим физические, психологические и социальные аспекты. Социальная изоляция была определена как важная детерминанта благополучия и общего функционирования пожилых людей [5]. С увеличением гериатрического населения и изменением социокультурного контекста наблюдается рост социальной изоляции среди пожилых людей. Социальная изоляция – это объективное явление, которое часто определяют, как состояние, в котором люди имеют минимальные контакты

и скудность социальных отношений и социального взаимодействия. Более того, социальную изоляцию часто определяют, как несоответствие между желаемым и достигнутым человеком уровнем социальных отношений. Под ним часто понимают несоответствие фактического и желаемого состояния социальных отношений человека и качества отношений [6, 7, 8].

Решение проблемы социальной изоляции пожилых людей становится все более приоритетным в различных странах. Так, в Канаде свыше 30% пожилых людей подвержены риску социальной изоляции [9]. Согласно национальному исследованию здоровья и тенденций старения в США примерно 24% проживающих в домашних условиях пожилых людей старше 65 лет социально изолированы [10, 11]. Исследование, проведенное в Китае показало, что распространенность социальной изоляции пожилых людей в обществе достигает 29,7%

[12]. Распространенность социальной изоляции среди пожилых людей Индии составляет почти 34% и данные многих исследований указывают на тенденцию к росту этого явления [8].

Многие эксперты в области здравоохранения признают, что пожилые люди составляют сегмент населения, который особенно уязвим к социальной изоляции во время пандемии COVID-19, возможно, из-за ранее существовавших заболеваний, которые могут усугубиться в результате ограничения социальной активности [13].

Доказательства влияния социальной изоляции и других аспектов социальных связей на состояние здоровья хорошо документированы в литературе на протяжении многих лет. Например, она независимо связана с негативными последствиями для физического и психического здоровья в более позднем возрасте, включая более высокий уровень депрессии и снижения когнитивных функций [14]. Кроме того, социальная изоляция продемонстрировала независимую связь с депрессией, плохим сном, гипертонией и многими другими негативными последствиями для здоровья. Между тем, согласно независимым анализам, социальная изоляция связана с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний, воспалительных процессов, повышенным риском деменции, инвалидности, снижения когнитивных функций и снижения качества жизни [15, 16].

Однако особенности воспалительного процесса у пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией практически не изучены, несмотря на то, что возрастная макулярная дегенерация, как и другие возрастзависимые нарушения зрения, встречаются в 60-74 лет и 75 лет и старше достаточно часто и выступают ведущими причинами зрительного дефицита [17, 18, 19]. Возрастная макулярная дегенерация занимает третье ранговое место после глаукомы и старческой катаракты в структуре причин патологии органа зрения и слепоты в индустриальных государствах [20]. Возрастная макулярная дегенерация

представляет одно из основных дегенеративных заболеваний, влияющих на качество жизни, от которой страдают 8,7% населения планеты [19]. Показано, что хроническое воспаление, окислительный стресс и отложение липидов могут быть связаны с развитием возрастной макулярной дегенерации. Вместе с тем значение воспалительного процесса как в патогенезе возрастной макулярной дегенерации, так и социальной изоляции остается неопределенным. В единичных публикациях сообщается об изменении С-реактивного белка среди пациентов с социальной изоляцией [21], но при этом возрастная макулярная дегенерация у пожилых пациентов не рассматривалась.

Цель исследования. Изучение особенностей воспалительного процесса у пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие 92 пациента пожилого возраста с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией, 88 пациентов такого же возраста с социальной изоляцией без возрастной макулярной дегенерации и 84 пациента 60-74 лет без социальной изоляции. Обследование пациентов указанных групп выполнено в период прохождения стационарного лечения по поводу возрастной макулярной дегенерации в 2022-2023 годах в Тамбовском филиале «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова».

Выявление возрастной макулярной дегенерации выполнялось с учетом критериев наиболее распространенной классификации, принятой во многих странах, в том числе и в Российской Федерации – Age-Related Eye Disease Study (AREDS) [22] по результатам многопланового офтальмологического осмотра, включавшего использование оптической когерентной томографии, офтальмоскопии, оптической когерентной томографии с функцией ангиографии, флуоресцентной ангиографии, тонометрии, рефрактометрии, биомикроскопии переднего и заднего отделов глаза [17, 18, 19].

Социальная изоляция устанавливалась в соответствии с модифицированной версией индекса социальной изоляции, состоящего из пяти пунктов: состояние в браке или проживает один, взаимодействие со своими детьми, взаимодействие с родственниками, взаимодействие с друзьями и участие в социуме [23]. Общая сумма баллов достигает максимально 5 баллов и при величине ≥ 3 баллов обследованные пациенты с возрастной макулярной дегенерацией относились к категории социально изолированных.

В исследование включались пациенты в возрасте 60-74 лет, с социальной изоляцией, возрастной макулярной дегенерацией экссудативной формы, внутриглазным давлением на пораженном глазу в диапазоне 14-21 мм рт. ст. В исследование не включались пациенты до 60 лет и старше 74 лет, с отсутствием возрастной макулярной дегенерации, сухой формой возрастной макулярной дегенерации; с наличием глаукомы, катаракты, травмы глаза, воспалительных заболеваний глаза, соматической патологии воспалительного генеза; с псевдоэксфолиативным синдромом при диабетической ретинопатии, синдромом старческой астении; проведенной лазерной терапией за последние полгода; внутриглазным давлением свыше 21 мм рт. ст.

Изучение показателей воспаления – цитокинов и С-реактивного белка – в системном кровотоке выполнено в утреннее время суток с 07.30 часов до 9.00 часов. Среди параметров системного воспаления анализировались – С-реактивный белок, IL-3, 5, 6, 17, хемокины GRO(α)/CXCL1, MIP-1(α)/CCL3 и RANTES/CCL5. Уровень интерлейкинов определялся методом иммуноферментного анализа с использованием набора «Протеиновый контур» [18]. Содержание хемокинов в крови анализировали на платформе xMAP посредством MAGRIX (USA) с применением инструкции производителя. Уровень С-реактивного белка (СРБ) определяли на экспресс анализаторе «Никамед-ридер».

Проведенное исследование осуществлялось с соблюдением общепринятых норм

и требований и после получения письменного согласия всех участников на включение в него и использование с научной целью полученных данных.

Результаты исследования обработаны на персональном компьютере типа Pentium и программой «Statistica 10.0» и соответствующих модулей, посредством которых рассчитывались среднеарифметические величины и ошибки среднеарифметических величин. Сравнение статистической значимости полученных параметров выполнено по критерию Т-Уайта с минимальным уровнем различий $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ клинико-анамнестических данных, обследованных трёх групп пациентов пожилого возраста, не выявил статистически значимых различий по рассматриваемым показателям (Табл. 1). Пациенты 60-74 лет с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией были незначительно старше, но различие не имело статистической значимости. Среди пациентов с социальной изоляцией оказался несущественно выше удельный вес, страдающих артериальной гипертензией без достоверных различий. По количеству лиц с наличием сахарного диабета 2-го типа, ишемической болезни сердца сравниваемые группы статистически значимо не различались. Количество одинокопроживающих в группе пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией оказалось наибольшим.

Оценивая содержание в системном кровотоке маркеров воспаления среди пациентов пожилого возраста с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией обращает внимание, что уровни всех анализируемых показателей статистически значимо превышают таковые пациентов пожилого возраста с социальной изоляцией и пациентов 60-74 лет без социальной изоляции (Табл. 2). При этом пациенты с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией наиболее существенно отличаются от представителей группы пациентов пожилого возраста с социальной изоляцией по уровню хемокина GRO(α)/CXCL1 – в 2,9 раза, хемокина MIP-1 α /CCL3 – в 2,2 раза и IL-6 – в 2,0 раза.

Таблица 1

Клинико-анамнестические данные о пациентах с социальной изоляцией, и возрастной макулярной дегенерацией и без социальной изоляции (P±SD)

Table 1

Clinical and anamnestic data on patients with social isolation and age-related macular degeneration and without social isolation (P±SD)

Характеристики обследованных пациентов	Пациенты 60-74 лет без социальной изоляции	Пациенты 60-74 лет с социальной изоляцией	Пациенты 60-74 лет с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией	P
Средний возраст, лет	69,25±2,32	70,34±2,18	71,19±2,45	>0,05
Мужчины, абс.ч. (процент)	35 (41,66±2,15)	42 (47,72±1,97)	57 (61,95±2,89)	>0,05
Женщины, абс.ч. (процент)	49 (58,34±2,88)	46 (52,28±3,09)	35 (38,05±2,46)	>0,05
Статус занятости: работающие, абс.ч. (процент)	32 (23,54±1,96)	28 (22,44±1,78)	34 (24,64±2,18)	>0,05
Сахарный диабет, абс.ч. (процент)	35 (27,82±2,56)	36 (28,84±3,12)	37 (26,81±2,05)	>0,05
Артериальная гипертензия, абс.ч. (процент)	60 (45,16±3,01)	69 (55,21±2,87)	65 (47,10±3,12)	>0,05
Ишемическая болезнь сердца, абс.ч. (процент)	51 (35,30±2,51)	49 (32,20±2,64)	53 (38,41±2,37)	>0,05
Одинокое проживание, абс.ч. (процент)	10 (4,41±1,05)	21 (8,80±1,14)	35 (16,87±2,1)	>0,05

Таблица 2

Содержание маркеров воспаления в системном кровотоке пожилых пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией (M±m)

Table 2

The content of inflammatory markers in the systemic bloodstream of elderly patients with social isolation and age-related macular degeneration (M±m)

Маркер воспаления	Пациенты 60-74 лет без социальной изоляции	Пациенты 60-74 лет с социальной изоляцией	Пациенты 60-74 лет с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией	P
С-реактивный белок, мг/л	7,3±0,7	12,5±0,8	18,4±1,3	<0,05
IL-3, пг/мл	3,1±0,5	5,2±0,6	8,7±1,1	<0,01
IL-5, пг/мл	3,7±0,4	4,7±0,5	6,1±0,8	<0,05
IL-6, пг/мл	12,6±1,0	24,9±1,4	50,2±2,2	<0,001
IL-7, пг/мл	7,4±0,8	14,3±0,9	24,5±1,7	<0,01
GRO(α)/CXCL1, пг/мл	3,2±0,7	6,4±0,9	18,3±1,4	<0,001
MIP-1α/CCL3, пг/мл	1,2±0,3	1,7±0,3	3,8±0,7	<0,001
RANTES/CCL 5, пг/мл	0,9±0,2	1,3±0,2	1,9±0,2	<0,05

Среди других изученных системных цитокинов у пациентов 60-74 лет с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией статистически значимо выше, но в меньшей степени, чем названных ранее показателей, экспрессия IL-7, IL-

3 и IL-5 со статистически значимым различием к аналогичным параметрам пожилых представителей с социальной изоляцией и без социальной изоляции.

Содержание С-реактивного белка в системном кровотоке пациентов 60-74 лет с

социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией выше аналогичного параметра лиц с социальной изоляцией без возрастной макулярной дегенерации и без социальной изоляции.

В меньшей степени среди проанализированных маркеров воспаления повышено содержание в крови хемокина RANTES/CCL 5 у пациентов пожилого возраста с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией.

Возрастная макулярная дегенерация может выступать фактором риска социальной изоляции и повышать её степень, поскольку зрительный дефицит вследствие данного офтальмологического заболевания уменьшает социальные контакты и социальные отношения, а нарушение зрения, в том числе из-за возрастной макулярной дегенерации, не рассматривалось до настоящего времени у пациентов с социальной изоляцией, равно как и показатели воспаления у представителей с социальным дефицитом и офтальмопатологией.

Важность социальных отношений для здоровья и долголетия подтверждается большим и растущим объемом фактических данных, так что главный хирург Соединенных Штатов Америки объявил социальные связи проблемой общественного здравоохранения, имеющей чрезвычайную актуальность. Согласно метаанализу, социальная изоляция, связана с повышением риска смертности на 25-30%. Были предложены многочисленные механизмы этой связи, начиная от неадаптивного поведения, до повышенного артериального давления и нарушения качества сна [21].

Еще одним путем, по которому дефицит социальных отношений может влиять на здоровье, является воспаление. Согласно гипотезе, основанной на эволюционной теории, негативное эмоциональное состояние, возникающее при дефиците социальных отношений, является адаптивной реакцией на социальную разобщенность, которая готовит людей к столкновению с небезопасной средой. Исходя из этой предпосылки, выдвигается гипотеза, что социальная изоляция сопровождается изменениями

в функционировании иммунитета, которые снижают способность человека бороться с инфекцией в случае инфицирования. В соответствии с этим, у лиц с высоким уровнем социальной изоляции наблюдается паттерн провоспалительных изменений в экспрессии генов [24, 25].

Существующие научные публикации по социальным связям и воспалению выявили неоднозначные результаты, отчасти, вероятно, отражающие различия в методологии. В большинстве исследований использовали данные, полученные из национальных групп или экспериментальных условий с участием здоровых взрослых. Однако среди населения могут существовать группы риска, для которых риски для здоровья, связанные с социальной изоляцией, особенно значительны. В случае воспаления пациенты, получающие медицинскую помощь, могут быть одной из таких групп, и, таким образом, целесообразно изучить социальные дефициты в клинических выборках, а также в популяционных когортах. Если социальная изоляция связана с усилением воспаления среди людей, обращающихся за медицинской помощью, клиническая значимость этого фактора риска может быть усилена, поскольку он может иметь последствия для результатов лечения пациентов [26].

Выполненные ранее исследования часто отождествляли социальную изоляцию и одиночество или изучали только одно из двух. Сфера социальных связей охватывает ряд конструкций, которые касаются различных аспектов взаимоотношений людей, включая количество, качество, разнообразие, поддержку. Социальная изоляция и одиночество – это два явления, которые часто происходят одновременно, но относятся к конкретным, различным аспектам социальных связей. В частности, социальная изоляция относится к обстоятельствам наличия ограниченных или минимальных социальных связей с другими, тогда как одиночество – это субъективное эмоциональное состояние, которое отражает оценку людьми своих социальных отношений. Следовательно, не все изолированные

люди одиноки, и не все одинокие люди изолированы. Из этих двух факторов неясно, какой из них не является «активным ингредиентом» в прогнозировании исходов воспаления. Исследования, посвященные проблеме одиночества, дали неоднозначные результаты [26, 27, 28], и при этом большинство из них не обнаружили ассоциации. Те исследования, в которых параллельно изучались как социальная изоляция, так и одиночество, предполагают, что объективная социальная изоляция, а не одиночество, является более значимым фактором риска развития воспаления. Более того, исследования, сравнивающие различные показатели социальной изоляции, такие как статус совместного проживания и социальная активность, показали, что они постоянно связаны с маркерами воспаления [28].

Нами впервые изучены маркеры воспаления у пожилых пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией и установлены статистически значимо более высокие уровни всех включенных в исследование параметров воспаления, в том числе классического показателя – С-реактивного белка, с которым авторы [21] установили связь социальной изоляции у 4648 участников программы Medicare в возрасте 65 лет и старше.

При нескорректированном анализе пожилые люди, которые испытывали социальную изоляцию (популяционный коэффициент регрессии $\beta = 0,17$, 95% ДИ 0,07–0,28) и тяжелую социальную изоляцию ($\beta = 0,26$, 95% ДИ 0,09–0,44), имели более высокие уровни СРБ по сравнению с пожилыми людьми, которые не испытывали социальной изоляции. Более конкретно, это указывает на увеличение уровня СРБ по логарифмической шкале на 0,17 и 0,26 единиц для социально-изолированных и сильно социально изолированных групп соответственно по сравнению с группой, которая не испытывала социальной изоляции. В скорректированном анализе с включением социально-демографических переменных пожилые люди, которые испытывали социальную изоляцию ($\beta = 0,14$, 95% ДИ 0,03, 0,25) и тяжелую социальную изоляцию ($\beta =$

0,23, 95% ДИ 0,04–0,41), имели более высокие уровни СРБ по сравнению с пожилыми людьми, которые не испытывали социальной изоляции. В полностью скорректированном анализе, учитывающем социально-демографические переменные и показатели здоровья, ассоциации оставались статистически значимыми.

С социальной изоляцией у лиц без возрастной макулярной дегенерации (средний возраст 60 лет) выявлена также связь с высокочувствительным С-реактивным белком [22]. Однако в данном исследовании анализировались пациенты с острой госпитализацией, что могло повлиять на увеличение уровня высокочувствительного С-реактивного белка и IL-6, имеющего также высокий уровень, что не противоречит результатам настоящей работы и другим публикациям [21], рассматривающих случаи неэкстренной госпитализации.

Нескорректированный анализ показывает, что пожилые люди, которые испытывали социальную изоляцию ($\beta = 0,16$, 95% ДИ 0,10–0,21) и тяжелую социальную изоляцию ($\beta = 0,19$, 95% ДИ 0,04–0,33), имели более высокие уровни IL-6 по сравнению со своими коллегами, которые не испытывали социальной изоляции. Кроме того, уровни IL-6 были выше у пожилых людей, которые испытывали социальную изоляцию ($\beta = 0,13$, 95% ДИ 0,07–0,20) и тяжелую социальную изоляцию ($\beta = 0,16$, 95% ДИ 0,01–0,31) после поправки на социально-демографические факторы сохранились. В полностью скорректированном анализе с учетом социально-демографических факторов и факторов здоровья пожилые люди, которые испытывали социальную изоляцию, имели более высокие уровни IL-6 ($\beta = 0,11$, 95% ДИ 0,04–0,18) по сравнению с пожилыми людьми, которые не испытывали социальной изоляции. Однако у пожилых людей, которые испытали серьезную социальную изоляцию, не было статистически значимо более высоких уровней IL-6 [26].

Таким образом, нами и предыдущими исследователями установлено, что социально изолированные пожилые пациенты

имеют более высокие уровни С-реактивного белка и IL-6, чем пожилые социально неизолированные, что подтверждает роль воспаления в ассоциированности с социальным дефицитом, отождествляемым специалистами со стрессом, который напрямую влияет на многочисленные регуляторные системы посредством активации симпатической нервной системы, которая модулирует иммунную функцию и воспалительные процессы. Высказано предположение, что социальная изоляция может уменьшать такие эффекты за счет ослабления физиологического возбуждения или реактивности, тогда как социальная изоляция сама по себе является стрессором, вызывающим негативную реактивность и аффект (например, тревогу, депрессию), способствует хроническому повышению активности симпатической нервной системы и усиливает воспаление. Более того, стресс-буферные функции социальной поддержки и межличностных психологических ресурсов могут быть по-разному связаны с воспалительными процессами. Установлено, что социально изолированные люди лишены возможностей эмоциональной поддержки и ресурсов преодоления трудностей, что может снизить их чувство контроля и психологическое благополучие [16].

Показано, что существует пограничная незначимая наименее скорректированная связь между социальной изоляцией и IL-6 ($r = 0,082$, 95% ДИ: -0,001, 0,163, $p = 0,052$), но обработка данных выявила высокую неоднородность нескорректированной оценки без какой-либо систематической ошибки, очевидной при проверке воронкообразных графиков [27].

Только в одном исследовании изучали IL-1RA и хемокин MCP-1 и не обнаружили скорректированной связи между IL-1RA и социальной изоляцией, хотя обнаружили значительную связь между MCP-1 и одиночеством, используя данные 524 пациентов. Предыдущие исследования также выявили, что социальная изоляция связана с системным воспалением. В частности обнаружены наиболее значимые связи между социальной изоляцией и IL-6 [27]. Однако

этот результат был основан на двух исследованиях, одно из которых выявило значительную связь, а другое – незначительную связь. Из-за невозможности провести анализ чувствительности и надежности этой связи, и эти результаты следует интерпретировать с осторожностью. Стоит также отметить, что, хотя наименее скорректированный анализ не был значимым, он все же указал на тенденцию к значимости ($p=0,052$). В совокупности эти результаты указывают на то, что необходимы дополнительные исследования связи между социальной изоляцией и IL-6, чтобы сделать какие-либо однозначные выводы [27].

Не обнаружено никакой общей связи между социальной изоляцией с СРБ или фибриногеном ни в наименее скорректированном, ни в наиболее скорректированном регрессионном анализе. Однако при исследовании источников гетерогенности установлено, что возраст изучаемой популяции (50 лет и старше), место проведения исследования (исследования в США) и статистический анализ (линейный анализ) привели к тому, что некоторые существенные связи были обнаружены в наименьшем количестве. Кроме того, в большинстве скорректированных анализов фибриногена в этих исследованиях, в которых социальная изоляция оценивалась с помощью одного вопроса, и в тех, где протокол не учитывал высокий уровень воспаления, была обнаружена значительная связь между социальной изоляцией и фибриногеном [26].

Оценив взаимосвязь между двумя измерениями социальных отношений и шестью маркерами воспаления в США и Тайване, показаны лишь несколько статистически значимых связей. Учитывая, что корреляция предполагает тесную связь между социальными отношениями и смертностью, а также то, что воспаление играет важную роль в основных причинах смерти, авторы ожидали найти устойчивые и умеренно сильные связи между социальными отношениями и маркерами воспаления [28]. Однако показатель социальной изоляции продемонстрировал небольшую обратную связь с СРБ в исследовании на Тайване.

Предыдущие исследования связи между социальной изоляцией и СРБ, основанные на выборках из США, показали неоднозначные результаты: одно сообщило об отсутствии связи с СРБ, тогда как другое обнаружило значительную связь с СРБ. Обнаружено только одно предшествующее исследование социальной изоляцией и IL-6, которое показало обратную связь в выборке из США. В предыдущих исследованиях, посвященных влиянию социальной изоляции, наиболее последовательная связь была отмечена для фибриногена [26].

Отсутствуют доказательства того, что более высоко воспринимаемая социальная поддержка связана с меньшим воспалением. Два предыдущих исследования, оценивавшие взаимосвязь между общей воспринимаемой поддержкой и IL-6, также не обнаружили значимого эффекта в скорректированных моделях, хотя действительно наблюдалась значительная связь для одной (социальная привязанность) из шести протестированных субшкал. В случае с СРБ обнаружена значительная связь в США, но не в ожидаемом направлении (ощущаемая поддержка была связана с усилением воспаления) [26].

Изучалась связь между социальными отношениями и sICAM-1, в котором сообщается о значительной связи между социальной изоляцией и sICAM-1, но только для мужчин. Предыдущих исследований связи с sE-селектином или sIL-6R не проводилось. Установлена только одна значительная корреляционная связь между социальными отношениями и этими тремя маркерами: воспринимаемая поддержка была связана с более высоким уровнем sIL-6R [26].

Как и ожидалось, доказательства, подтверждающие связь между социальными отношениями и снижением воспаления, были сильнее в отношении с социальной изоляцией, чем в отношении воспринимаемой социальной поддержки, что объясняется тем, что показатели качества социальных отношений могут быть более подвержены предвзятости ответов и культурным различиям. Например, респонденты

могут иногда давать социально желательные ответы в ответ на воспринимаемую поддержку [27]. Ограниченная вариативность этого показателя воспринимаемой социальной поддержки, возможно, способствовала слабым корреляциям. Более того, если бы люди с плохим здоровьем с большей вероятностью сообщали о наличии такой поддержки, возможно, потому, что они чувствовали большую потребность, такая модель отчетности могла бы вызвать неожиданную положительную связь с СРБ и sIL-6R. С другой стороны, воспринимаемая социальная поддержка может быть контрпродуктивной в обществе, которое ценит уверенность в своих силах, но в то же время к ней будут относиться более благосклонно в культуре, которая предпочитает взаимозависимость. Такие меры социальной поддержки могут охватывать как отрицательные (например, социальные конфликты, одиночество), так и положительные аспекты взаимоотношений. Во-вторых, они могут отражать не только социальную поддержку, оказываемую другими, но и поддержку, оказываемую другим [27].

Также возможно, что социальные отношения смягчают воздействие стрессоров на здоровье, как утверждает гипотеза буферизации стресса. Теория предполагает, что воспринимаемый уровень стресса является результатом воздействия факторов стресса и ресурсов, которые можно мобилизовать для борьбы с этими факторами стресса. Таким образом, воспринимаемый стресс может поглотить любой буферный эффект, который может оказать социальная поддержка (т. е. те, у кого больше поддержки, имеют более низкий уровень воспринимаемого стресса). Недавнее исследование оценило степень, в которой воспринимаемая социальная поддержка смягчает воздействие стресса на СРБ, IL-6 и фибриноген, и обнаружило мало доказательств такой буферизации. Однако мера стресса, по-видимому, отражала воспринимаемый стресс, а не воздействие потенциально стрессовых событий. Лучшей проверкой гипотезы буферизации стресса было бы исследование взаимодействия с воздействием потенциальных стрессоров [28].

Связь между социальными отношениями и воспалением, вероятно, включает в себя сложные пути, которые варьируют в зависимости от индивидуальных особенностей и особенностей окружающей среды. Некоторые предыдущие исследования показали, что эта связь может быть более сильной для мужчин, чем для женщин, а другое исследование показало, что эффект может зависеть от возраста, но пока мало доказательств того, что влияние социальных отношений различается в зависимости от пола и возраста. Отсутствие возрастных взаимодействий позволяет предположить, что различия в возрастных диапазонах двух выборок не объясняют различия в эффектах социальных отношений [27].

Учитывая, что и социальные отношения, и биомаркеры динамичны, могут быть получены различные результаты. Исследование на базальных рабочих уровнях биомаркеров показало, что эти уровни не будут результатом динамических процессов в течение длительного периода времени. В соответствии с гипотезой буферизации стресса, возможно, придется более пристально взглянуть на то, как социальные отношения обуславливают реактивность, вызванную стрессом [26]. Некоторые краткосрочные лабораторные исследования показали, что социальная поддержка снижает сердечно-сосудистую реакцию на стрессоры, но необходимо уделять больше внимания реакциям множества взаимосвязанных систем. Тем не менее, определение того, как лучше всего количественно оценить динамику физиологических систем в повседневной жизни людей с помощью показателей, пригодных для крупномасштабных исследований, является большой проблемой. Стратегии сочетания экспериментальных подходов с продольными исследованиями могут представлять собой многообещающий подход. Понимание этих физиологических путей потребует тесного сотрудничества между небольшими исследованиями, которые смогут выявить пути, которые кажутся важными, и крупномасштабными популяционными исследованиями,

которые смогут проверить жизнеспособность этих объяснительных путей [26].

В отличие от предыдущих исследований, нами впервые изучено изменение не только IL-6 на фоне социальной изоляции и возрастной макулярной дегенерации, но и содержание других системных цитокинов и, в частности, показано, что экспрессия IL-7, IL-3, IL-5 статистически значимо выше относительно пациентов пожилого возраста с социальной изоляцией без возрастной макулярной дегенерации. Данные интерлейкины, как и рассмотренный ранее IL-6, обладают провоспалительной активностью и повышают уровень воспаления, способствующего формированию социальной изоляции, в том числе у пациентов 60-74 лет с возрастной макулярной дегенерацией.

Кроме того, в настоящей работе впервые продемонстрировано участие и других системных цитокинов – хемокинов крови, уровень которых был статистически достоверно выше среди пациентов с социальной изоляцией и возрастной макулярной дегенерацией, чем у представителей с социальной изоляцией без указанной офтальмопатологии, что существенно расширяет научные представления о взаимосвязи социальной изоляции при возрастной макулярной дегенерации и воспаления, показывает особенности воспалительной реакции и реагентов, участвующих в нём.

Вывод. Социальная изоляция и возрастная макулярная дегенерация в пожилом возрасте связана с более высоким содержанием в крови пожилых пациентов С-реактивного белка, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, хемокинов GRO(α)/CXCL1, MIP-1(α)/CCL3, RANTES/CCL5. При этом наблюдается многократное превышение таких цитокинов как GRO(α)/CXCL1, MIP-1(α)/CCL3 и IL-6 относительно пациентов 60-74 лет с социальной изоляцией без возрастной макулярной дегенерации, что определяет особенности протекающего воспаления и указывает на значительную их роль в воспалительном процессе и формировании социальной изоляции, а цитокины GRO(α)/CXCL1, MIP-1(α)/CCL3 и IL-6 мо-

гут быть биомаркерами социальной изоляции при возрастной макулярной дегенерации.

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. Cunningham C, O'Sullivan R, Caserotti P, et al. Consequences of Physical Inactivity in older adults: a systematic review of reviews and meta-analyses. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*. 2020;30(5):816-827. DOI: <https://doi.org/10.1111/sms.13616>
2. Holt-Lunstad J, Steptoe A. Social isolation: an underappreciated determinant of physical health. *Current Opinion in Psychology*. 2022;43:232-237. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2021.07.012>
3. Patzelt C, Heim S, Deitermann B, et al. Reaching the Elderly: Understanding of health and preventive experiences for a tailored approach – Results of a qualitative study. *BMC Geriatrics*. 2016;16(1):210. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12877-016-0374-3>
4. Holt-Lunstad J. Loneliness and Social Isolation as Risk Factors: The Power of Social Connection in Prevention. *American Journal of Lifestyle Medicine*. 2021;15(5):567-573. DOI: <https://doi.org/10.1177/15598276211009454>
5. Berg-Weger M, Morley JE. Loneliness in old age: an unaddressed health problem. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2020;24(3):243-245. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1323-6>
6. Leigh-Hunt N, Bagguley D, Bash K, et al. An overview of systematic reviews on the public health consequences of social isolation and loneliness. *Public Health*. 2017;152:157-171. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2017.07.035>
7. Grenade L, Boldy D. Social isolation and loneliness among older people: issues and future challenges in community and residential settings. *Australian Health Review*. 2008;32(3):468-78. DOI: <https://doi.org/10.1071/AH080468>
8. Mishra B, Pradhan J, Dhaka S. Identifying the impact of social isolation and loneliness on psychological well-being among the elderly in old-age homes of India: the mediating role of gender, marital status, and education. *BMC Geriatrics*. 2023;23(1):684. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12877-023-04384-1>
9. Thomas SL, Parker A, Fortune J, et al. Global evidence on falls and subsequent social isolation in older adults: a scoping review. *BMJ Open*. 2022;12(9):e062124. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2022-062124>
10. Donovan NJ, Blazer D. Social isolation and loneliness in older adults: Review and commentary of a national academies report. *American Journal of Geriatric Psychiatry*. 2020;28(12):1233-1244. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jagp.2020.08.005>
11. Zhang Y, Kuang J, Xin Z, et al. Loneliness, social isolation, depression and anxiety among the elderly in Shanghai: Findings from a longitudinal study. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2023;110:104980. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.archger.2023.104980>
12. Zhao D, Zhao M, Wang N, et al. Relationships among social isolation, depression, loneliness and quality of life in the community-dwelling elderly. *Journal of Nursing Science*. 2020;35(15):92-95.
13. Berg-Weger M, Morley JE. Editorial: Loneliness and Social Isolation in Older Adults during the COVID-19 Pandemic: Implications for Gerontological Social Work. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2020;24(5):456-458. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1366-8>
14. Barnes TL, MacLeod S, Tkatch R, et al. Cumulative effect of loneliness and social isolation on health outcomes among older adults. *Aging and Mental Health*. 2022;26(7):1327-1334. DOI: <https://doi.org/10.1080/13607863.2021.1940096>
15. Barnes TL, Ahuja M, MacLeod S. Loneliness, Social Isolation, and All-Cause Mortality in a Large Sample of Older Adults. *Journal of Aging and Health*. 2022;34(6-8):883-892. DOI: <https://doi.org/10.1177/08982643221074857>
16. Qu X, Ng TK, Wu B. Sex differences in the mediating role of chronic inflammation on the association between social isolation and cognitive functioning among older adults in the United

States. Psychoneuroendocrinology. 2023;149:106023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2023.106023>

17. Коняев ДА, Попова ЕВ, Титов АА, и др. Распространённость заболеваний глаза у пожилых - глобальная проблема современности. Здравоохранение Российской Федерации. 2021;65(1):62-68. DOI: <https://doi.org/10.47470/0044-197X-2021-65-1-62-68>

18. Лев ИВ, Агарков НМ, Копылов АЕ. Соотношение уровней интерлейкинов крови у пациентов со зрительным дефицитом с когнитивными расстройствами. Лечебное дело. 2023;2:74-80. DOI: <https://doi.org/10.24412/2071-5315-2023-12882>

19. Агарков НМ, Яблоков ММ, Коняев ДА, и др. Когнитивные и тревожно-депрессивные нарушения у пациентов, страдающих возрастной макулярной дегенерацией и катарактой. Вестник российской военно-медицинской академии. 2021;23(2):83-90. DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma71307>

20. Burton MJ, Ramke J, Marques AP, et al. The Lancet Global Health Commission on Global Eye Health: vision beyond 2020. The Lancet Global Health. 2021;9(4):E489-E551. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30488-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30488-5)

21. Matthews T, Rasmussen LJ, Ambler A, et al. Social isolation, loneliness, and inflammation: A multi-cohort investigation in early and mid-adulthood. Brain, Behavior, and Immunity. 2024;115:727-736. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2023.11.022>

22. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. Archives of Ophthalmology. 2001;119(10):1417-1436. DOI: <https://doi.org/10.1001/archophth.119.10.1417>

23. Berkman LF, Syme SL. Social networks, host resistance, and mortality: a nine-year follow-up study of Alameda County residents. American Journal of Epidemiology. 1979;109(2):186-204. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112674>

24. Rohr S, Wittmann F, Engel C, et al. Social factors and the prevalence of social isolation in a population-based adult cohort. Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology. 2022;57(10):1959-

1968. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00127-021-02174-x>

25. Shen C, Rolls ET, Cheng W, et al. Associations of Social Isolation and Loneliness With Later Dementia. Neurology. 2022;99(2):e164-e175. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000200583>

26. Smith KJ, Gavey S, Riddell NE, et al. The association between loneliness, social isolation and inflammation: A systematic review and meta-analysis. Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 2020;112:519-541. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.02.002>

27. Cardona M, Andres P. Are social isolation and loneliness associated with cognitive decline in ageing? Frontiers in Aging Neuroscience. 2023;15:1075563. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1075563>

28. Cho HJ, Seeman TE, Kiefe CI, et al. Sleep disturbance and longitudinal risk of inflammation: Moderating influences of social integration and social isolation in the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. Brain, Behavior, and Immunity. 2015;46:319-326. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.02.023>

References

1. Cunningham C, O'Sullivan R, Caserotti P, et al. Consequences of Physical Inactivity in older adults: a systematic review of reviews and meta-analyses. Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports. 2020;30(5):816-827. DOI: <https://doi.org/10.1111/sms.13616>

2. Holt-Lunstad J, Steptoe A. Social isolation: an underappreciated determinant of physical health. Current Opinion in Psychology. 2022;43:232-237. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2021.07.012>

3. Patzelt C, Heim S, Deitermann B, et al. Reaching the Elderly: Understanding of health and preventive experiences for a tailored approach – Results of a qualitative study. BMC Geriatrics. 2016;16(1):210. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12877-016-0374-3>

4. Holt-Lunstad J. Loneliness and Social Isolation as Risk Factors: The Power of Social Connection in Prevention. American Journal of Lifestyle Medicine. 2021;15(5):567-573. DOI: <https://doi.org/10.1177/15598276211009454>

5. Berg-Weger M, Morley JE. Loneliness in old age: an unaddressed health problem. Journal of Nutrition, Health and Aging. 2020;24(3):243-245. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1323-6>

6. Leigh-Hunt N, Bagguley D, Bash K, et al. An overview of systematic reviews on the public health consequences of social isolation and loneliness. *Public Health*. 2017;152:157-171. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2017.07.035>
7. Grenade L, Boldy D. Social isolation and loneliness among older people: issues and future challenges in community and residential settings. *Australian Health Review*. 2008;32(3):468-78. DOI: <https://doi.org/10.1071/AH080468>
8. Mishra B, Pradhan J, Dhaka S. Identifying the impact of social isolation and loneliness on psychological well-being among the elderly in old-age homes of India: the mediating role of gender, marital status, and education. *BMC Geriatrics*. 2023;23(1):684. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12877-023-04384-1>
9. Thomas SL, Parker A, Fortune J, et al. Global evidence on falls and subsequent social isolation in older adults: a scoping review. *BMJ Open*. 2022;12(9):e062124. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2022-062124>
10. Donovan NJ, Blazer D. Social isolation and loneliness in older adults: Review and commentary of a national academies report. *American Journal of Geriatric Psychiatry*. 2020;28(12):1233-1244. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jagp.2020.08.005>
11. Zhang Y, Kuang J, Xin Z, et al. Loneliness, social isolation, depression and anxiety among the elderly in Shanghai: Findings from a longitudinal study. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2023;110:104980. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.archger.2023.104980>
12. Zhao D, Zhao M, Wang N, et al. Relationships among social isolation, depression, loneliness and quality of life in the community-dwelling elderly. *Journal of Nursing Science*. 2020;35(15):92-95.
13. Berg-Weger M, Morley JE. Editorial: Loneliness and Social Isolation in Older Adults during the COVID-19 Pandemic: Implications for Gerontological Social Work. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2020;24(5):456-458. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1366-8>
14. Barnes TL, MacLeod S, Tkatch R, et al. Cumulative effect of loneliness and social isolation on health outcomes among older adults. *Aging and Mental Health*. 2022;26(7):1327-1334. DOI: <https://doi.org/10.1080/13607863.2021.1940096>
15. Barnes TL, Ahuja M, MacLeod S. Loneliness, Social Isolation, and All-Cause Mortality in a Large Sample of Older Adults. *Journal of Aging and Health*. 2022;34(6-8):883-892. DOI: <https://doi.org/10.1177/08982643221074857>
16. Qu X, Ng TK, Wu B. Sex differences in the mediating role of chronic inflammation on the association between social isolation and cognitive functioning among older adults in the United States. *Psychoneuroendocrinology*. 2023;149:106023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2023.106023>
17. Konyaev DA, Popova EB, Titov AA, et al. The prevalence of eye diseases in the elderly population is a global problem of modernity. *Zdravookhranenie Rossiiskoi Federatsii (Health Care of the Russian Federation, Russian journal)*. 2021;65(1):62-68. Russian. DOI: <https://doi.org/10.47470/0044-197X-2021-65-1-62-68>
18. Lev IV, Agarkov NM, Kopylov AE. The ratio of blood interleukin levels in patients with visual deficits and cognitive disorders. *Lechebnoe delo*. 2023;2:74-80. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24412/2071-5315-2023-12882>
19. Agarkov NM, Yablokov MM, Konyaev DA, et al. Cognitive and anxiety-depressive disorders in patients suffering from age-related macular degeneration and cataracts. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2021;23(2):83-90. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma71307>
20. Burton MJ, Ramke J, Marques AP, et al. The Lancet Global Health Commission on Global Eye Health: vision beyond 2020. *The Lancet Global Health*. 2021;9(4):E489-E551. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30488-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30488-5)
21. Matthews T, Rasmussen LJ, Ambler A, et al. Social isolation, loneliness, and inflammation: A multi-cohort investigation in early and mid-adulthood. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2024;115:727-736. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2023.11.022>
22. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Archives of Ophthalmology*. 2001;119(10):1417-1436. DOI: <https://doi.org/10.1001/archophth.119.10.1417>
23. Berkman LF, Syme SL. Social networks, host resistance, and mortality: a nine-year follow-up study of Alameda County residents. *American Journal of Epidemiology*. 1979;109(2):186-204. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112674>

24.Rohr S, Wittmann F, Engel C, et al. Social factors and the prevalence of social isolation in a population-based adult cohort. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*. 2022;57(10):1959-1968. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00127-021-02174-x>

25.Shen C, Rolls ET, Cheng W, et al. Associations of Social Isolation and Loneliness With Later Dementia. *Neurology*. 2022;99(2):e164-e175. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000200583>

26.Smith KJ, Gavey S, Riddell NE, et al. The association between loneliness, social isolation and inflammation: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2020;112:519-541. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.02.002>

27.Cardona M, Andres P. Are social isolation and loneliness associated with cognitive decline in ageing? *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2023;15:1075563. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1075563>

28.Cho HJ, Seeman TE, Kiefe CI, et al. Sleep disturbance and longitudinal risk of inflammation: Moderating influences of social integration and social isolation in the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2015;46:319-326. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.02.023>

Статья поступила в редакцию 26 марта 2024 г.
Поступила после доработки 10 июня 2024 г.
Принята к печати 24 июля 2024 г.

Received 26 March 2024
Revised 10 June 2024
Accepted 24 July 2024

Информация об авторах

Олег Львович Фабрикантов, доктор медицинских наук, профессор, директор Тамбовского филиала ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», г. Тамбов, Российская Федерация, E-mail: mntk@mntk-tambov.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0097-991X>.

Наталья Викторовна Попова, врач-офтальмолог отделения лазерной хирургии Тамбовского филиала ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микро-

хирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», г. Тамбов, Российская Федерация, E-mail: mntk@mntk-tambov.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6557-4764>.

Юрий Юрьевич Блинков, доктор медицинских наук, профессор кафедры общей хирургии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: blinkovYY@kursksmu.net, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0819-0692>.

Анастасия Алексеевна Шорохова, студент ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: shorohova20015@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2390-1739>.

Александра Евгеньевна Воронина, заведующий научно-образовательным отделом Оренбургского филиала ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», г. Оренбург, Российская Федерация, E-mail: be@orgma.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0222-6033>.

Information about the authors

Oleg L. Fabrikantov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Director of the Tambov Branch, Academician S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution, Tambov, Russia, E-mail: mntk@mntk-tambov.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0097-991X>.

Natalia V. Popova, Ophthalmologist at the Department of the Laser Surgery of the Tambov Branch, Academician S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution, Tambov, Russia, E-mail: mntk@mntk-tambov.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6557-4764>.

Yuri Y. Blinkov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Professor at the Department of General Surgery, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: blinkovYY@kursksmu.net, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0819-0692>.

Anastasia A. Shorokhova, Student, Southwest State University, Kursk, Russia, E-mail: shorohova20015@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2390-1739>.

Alexandra E. Voronina, Head of the Scientific and Educational Department of the Orenburg Branch, Academician S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution, Orenburg, Russia, E-mail: be@orgma.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0222-6033>.