

ISSN 2658-6533

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

12(3) 2026

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 12, №3. 2026

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2014 г.

ISSN 2658-6533



Volume 12, №3. 2026

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.**, член-корреспондент Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, 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
Блинова Е.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова», Москва, РФ
Ван Т.С.К., PhD, профессор, госпиталь принца Уэльса Китайского университета Гонконга, Гонконг, Китай
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
Процаев К.И., доктор медицинских наук, профессор, АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «ГЕРОНТОЛОГИЯ», Москва, РФ
Радзинский В.Е., академик 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, компания «Регенерон Фармасьютикалс», Тарритаун, 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**, *Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Biology), Professor, 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*
E.V. Blinova, *Doct. Sci. (Medicine), Professor, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia*
T.S.K. Wan, *PhD, Professor, Prince of Wales Hospital of the Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China*
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, Gerontology Research Medical Center, Moscow, Russia*
V.E. Radzinsky, *Academician 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), Regeneron Pharmaceuticals, Tarrytown, 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*
D.A. Sychev, *Academician of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, World-Class Genomic Research Center "Center for Predictive Genetics, Pharmacogenetics and Personalized Therapy," Academician B.V. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery, Moscow, Russia*
M.B. Freydl, *Doct. Sci. (Biology), Queen Mary University of London, London, UK*

Сычев Д.А., академик Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, Центр геномных исследований мирового уровня «Центр предиктивной генетики, фармакогенетики и персонализированной терапии» ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, РФ

Фрейдлин 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

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

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

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

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

РЕДАКЦИЯ ЖУРНАЛА:

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

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

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

EDITORIAL BOARD:

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

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ГЕНЕТИКА

GENETICS

Fahmida Khanam, Abdus Sattar, Mahmud H. Arif, Mirza N. Karim, Enshad E. Ullah, Kallyan Chakma, Ashikur A. Akash, Meheadi H. Rumi, Sajia Afrin, Afroza A. Tanni, Adnan Mannan, S.M. Rafiqul Islam Impact of the angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphism on essential hypertension in the southern region of Bangladesh	355	Fahmida Khanam, Abdus Sattar, Mahmud H. Arif, Mirza N. Karim, Enshad E. Ullah, Kallyan Chakma, Ashikur A. Akash, Meheadi H. Rumi, Sajia Afrin, Afroza A. Tanni, Adnan Mannan, S.M. Rafiqul Islam Impact of the angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphism on essential hypertension in the southern region of Bangladesh	355
Е.В. Ижойкина, Е.А. Трифонова, М.М. Гавриленко, И.Г. Куценко, В.А. Степанов Полиморфные локусы гена <i>AQP1</i> , ассоциированные с развитием недостаточного роста плода	377	Ekaterina V. Izhoikina, Ekaterina A. Trifonova, Maria M. Gavrilenko, Irina G. Kutsenko, Vadim A. Stepanov Polymorphisms of the aquaporin-1 gene associated with the fetal growth retardation development	377
В.В. Эрдман, И.А. Туктарова, А.А. Петинцева, Я.Р. Тимашева, Т.Р. Насибуллин Роль генов глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной системы в выживаемости и достижении долголетия	393	Vera V. Erdman, Ilsiara A. Tuktarova, Anna A. Petintseva, Yanina R. Timasheva, Timur R. Nasibullin Role of the genes of glutathione-related enzymes involved in the antioxidant defense in survival and longevity	393

ФАРМАКОЛОГИЯ,
КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACOLOGY

Е.Г. Жничкова, Т.А. Кроль, Д.Н. Балеев Вторичные метаболиты <i>Reynoutria sachalinensis</i> – потенциальный резерв фармакологических препаратов (обзор)	414	Elena G. Zhnichkova, Tatyana A. Krol, Dmitry N. Baleev Secondary metabolites of <i>Reynoutria sachalinensis</i> – a potential reserve of pharmacological drugs (review)	414
Yisel González-Madariaga, Dayamis Rega-Echavarria, Arelia Pizarro-Espin, Milene Águila-Castillo Immunomodulatory effect of saponins from <i>Agave brittoniana</i> subsp. <i>brachypus</i> (Trel.) in a model of fetal alcohol toxicity	439	Yisel González-Madariaga, Dayamis Rega-Echavarria, Arelia Pizarro-Espin, Milene Águila-Castillo Immunomodulatory effect of saponins from <i>Agave brittoniana</i> subsp. <i>brachypus</i> (Trel.) in a model of fetal alcohol toxicity	439
Sharmimi Mahazair, Fong L. Yen, Ng Ch. Theng, Yong Y. Keong, Muhammad N. Hakim, Zuraini Ahmad Anti-Proliferative Activity of [Cu(phen)(D-threo)]NO ₃ + F ⁻ Against Colorectal and Ovarian Cancer Cell Lines	451	Sharmimi Mahazair, Fong L. Yen, Ng Ch. Theng, Yong Y. Keong, Muhammad N. Hakim, Zuraini Ahmad Anti-Proliferative Activity of [Cu(phen)(D-threo)]NO ₃ + F ⁻ Against Colorectal and Ovarian Cancer Cell Lines	451

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

MEDICINE

Р.Ф. Насырова, А.В. Кидяева, Н.В. Захарова, Д.С. Пройдина, А.Ю. Кибирова, Н.А. Шнайдер Генетические предикторы эффективности и безопасности терапии клозапином (обзор)	462	Regina F. Nasyrova, Alla V. Kidyaeva, Natalia V. Zakharova, Darya S. Proydina, Alexandra Y. Kibirova, Natalia A. Shnayder Genetic predictors of efficacy and safety of clozapine therapy (review)	462
О.А. Осипова, Е.В. Гостева, Н.И. Жернакова, Ю.О. Шахунова, Н.И. Ключников, П.Г. Осипов, Ю.А. Мезенцев, С.Ю. Попов Персонализированная телереабилитация в свете современной детерминанты геронтологической помощи (обзор)	481	Olga A. Osipova, Elena V. Gosteva, Nina I. Zhernakova, Yulia O. Shakhunova, Nikolay I. Klyushnikov, Pavel G. Osipov, Yuri A. Mezentsev, Sergey Y. Popov Personalized telerehabilitation in the context of modern determinant of gerontological care (review)	481
Valentina A. Mikhailova, Oksana B. Marko, Edgar R. Mkrtchyan, Anastasia Yu. Stolbovaya, Ilya V. Smirnov, Irina Yu. Krutetskaya, Marina P. Samoylovich, Dmitriy I. Sokolov Inhibitors of intracellular signaling affect the production of soluble endoglin by JEG-3 trophoblast cells upon interaction with NK cells	497	Valentina A. Mikhailova, Oksana B. Marko, Edgar R. Mkrtchyan, Anastasia Yu. Stolbovaya, Ilya V. Smirnov, Irina Yu. Krutetskaya, Marina P. Samoylovich, Dmitriy I. Sokolov Inhibitors of intracellular signaling affect the production of soluble endoglin by JEG-3 trophoblast cells upon interaction with NK cells	497
Н.М. Агарков, А.С.О. Ибиев, И.М. Федосеев, А.А. Бахарева, Д.Р. Шмарова, А.А. Шорохова, А.Е. Копылов Прогностические биомаркеры низкоэнергетических переломов среди пациентов старшего возраста	511	Nikolay M. Agarkov, Aslanbek S.O. Ibiev, Ilya M. Fedoseev, Arina A. Bakhareva, Diana R. Shmarova, Anastasia A. Shorokhova, Andrey E. Kopylov Prognostic biomarkers of low-energy fractures in older patients	511

ГЕНЕТИКА GENETICS



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-1

УДК 575.174.015.3

Impact of the angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphism on essential hypertension in the southern region of Bangladesh

Fahmida Khanam¹ , Abdus Sattar² , Mahmud H. Arif² , Mirza N. Karim² ,
Enshad E. Ullah² , Kallyan Chakma¹ , Ashikur A. Akash¹ ,
Meheadi H. Rumi¹ , Sajia Afrin¹ , Afroza A. Tanni¹ , Adnan Mannan¹ ,
S.M. Rafiqul Islam¹

¹ University of Chittagong,
Chittagong University Rd., Chattogram-4331, Bangladesh
² Chittagong Medical College,
57 K.B. Fazlul Kader Rd., Chattogram-4203, Bangladesh
Corresponding author: S.M. Rafiqul Islam (smrafiqulgeb@cu.ac.bd)

Abstract

Background: Hypertension (HTN) is a major global health issue influenced by genetic, environmental and demographic factors. The angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), important for blood pressure regulation, has been linked to HTN in different ethnic populations, but research among the southern Bangladeshi population is unavailable. **The aim of the study:** This study aimed to evaluate the impact of the *ACE2* gene G8790A polymorphism on essential HTN, considering epidemiological factors and gender-specific association. **Materials and methods:** A case-control study was conducted with 260 hypertensive and 234 healthy individuals from Chittagong Medical College, Bangladesh, to genotype the *ACE2* G8790A polymorphism by the PCR-RFLP method. Physical, epidemiological and biochemical parameters were assessed to understand their relationship with genetic variations. **Results:** The study revealed a significant association between the *ACE2* AG heterozygous genotype and HTN in females (OR = 15.44, 95% CI 3.56–67.02, $P < 0.001$) with no similar risk in males ($P = 0.742$). No significant correlation was identified between the *ACE2* polymorphism and biochemical factors. HTN patients had significantly higher levels of serum creatinine (male: 25.11% vs 1.30%; female: 23.97% vs 0%; $P < 0.001$) and urine albumin (male: 3.40% vs 0%; female: 5.70% vs 0%; $P < 0.001$) than controls. The low level of HDL cholesterol was noted in HTN patients (male: 49.00% vs 24.78%, female: 48.40% vs 10.25%; $P < 0.001$). **Conclusion:** HTN patients with *ACE2* gene mutant variants (AG and AA) showed a higher prevalence of diabetes and CVD. This is the first study to highlight a significant gender-specific association between the *ACE2* G8790A heterozygous genotype and HTN in Bangladeshi women, offering a potential gender-based biomarker for managing HTN.

Keywords: angiotensin-converting enzyme 2; Bangladesh; hypertension; polymorphism; risk factor

Acknowledgements: The authors thank the Next-generation Sequencing, Research and Innovation Laboratory Chattogram (NRICH), Disease Biology and Molecular Epidemiology (dBme) Research Group, Department of Genetic Engineering and Biotechnology, University of Chittagong; Department of Medicine, Chittagong Medical College, Chattogram, Bangladesh, for their constant support throughout the study. The authors also thank the patients enrolled in this research for making this work possible. The research team gratefully acknowledges the Asperia Healthcare Ltd., Chattogram, for providing biochemistry lab facilities. The authors acknowledge the Grants for Advanced Research in Education (GARE) program, and the Research and Publication Cell, University of Chittagong, Bangladesh, for financial assistance.

For citation: Khanam F, Sattar A, Arif MH, et al. Impact of the angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphism on essential hypertension in the southern region of Bangladesh. *Research Results in Biomedicine*. 2026;12(3):355-376. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-1

Introduction. Hypertension (HTN) is a complex medical condition and a major public health issue, affecting about one-third of the global population. Essential hypertension (EH) is a multifactorial and polygenetic disease characterized by increased arterial blood pressure (SBP \geq 140 mmHg/DBP \geq 90 mmHg) frequently stemming from heightened resistance due to arterial constriction, including 90-95% of the HTN cases [1, 2, 3]. Moreover, EH is a pivotal risk factor for myocardial infarction, vascular disease, heart failure, stroke, and renal complications [4]. Despite lifestyle adjustments and treatment options, the incidence of EH is increasing alarmingly and is expected to reach ~29% of the global adults by 2025 [5]. According to the World Health Organization report [6], about 1.28 billion adult individuals suffer from HTN globally, with the majority comprising two-thirds residing in low- and middle-income nations. In Bangladesh, around 68% of fatalities result from non-communicable diseases (e.g., HTN, cardiovascular diseases, diabetes), and HTN contributes to 15-20% of these cases [7].

Essential HTN prevalence and its related complications are attributed to genetic, environmental, demographic, vascular, neuroendocrine, and other factors. Genetic factors account for about 30% of the familial aggregation of HTN [8]. Therefore, it is important and necessary to identify these factors and their interactions to help control HTN. Researchers pointed out that the small contribution of each genetic factors and the

interactions among them make it difficult to identify genetic markers for this disease [9, 10]. Many candidate genes like angiotensin-converting enzyme (*ACE*), angiotensin-converting enzyme 2 (*ACE2*), and urotensin 2 (*UTS2*), have been implicated in EH susceptibility [11, 12]. Furthermore, EH has been associated with a complex relationship of multiple polymorphisms in different genes.

There are several genetic determinants implicated in the pathogenesis of EH. The renin angiotensin aldosterone system (RAAS) is one of the most important pathways in the management and pathogenesis of EH [8]. A number of studies have focused on genetic variation in RAAS genes, especially the *ACE2* gene [3, 5, 9, 12]. RAAS plays an important role in the regulation of blood pressure (BP) and electrolyte balance. *ACE2* is one of the key components in the RAAS that shares 42% identity with the catalytic domain of somatic *ACE*. It is a carboxypeptidase that plays a protective role in the regulation of BP homeostasis and cardiac function [3, 13]. The *ACE2* enzyme is encoded by a 40-kb *ACE2* gene, which has been mapped to Xp22. The *ACE2* gene contains 20 introns and 18 exons, which encode a polypeptide of 805 amino acids [14]. In the RAAS pathway, the *ACE2* enzyme converts vasoactive angiotensin I (Ang I) to angiotensin 1-9 and angiotensin II (Ang II) to angiotensin 1-7 (Ang 1-7) [15, 16]. This enzyme is an important modulator of the clinical manifestations of HTN, cardiovascular diseases (CVD) and kidney abnormalities by

converting Ang II into Ang 1-7. The resulting Ang 1-7 causes diuresis, natriuresis, and systemic and localized vasodilation [17].

Polymorphisms in RAAS components are an attractive focus of genetic research on hypertension due to their significant role in regulating BP and individual susceptibility to the condition. The *ACE2* gene exhibited multiple allelic variations, including rs2285666, rs1514283, rs4646155, rs4646176, and rs879922 as reported in previous studies [5, 18]. Among these variants, rs2285666 (G > A, intron 3/4), also known as G8790A, is the extensively studied single-nucleotide polymorphism (SNP) of the *ACE2* gene in different ethnic populations with HTN [2, 19, 20, 21]. This A allele is associated with greater *ACE2* levels in the blood serum of healthy individuals, diabetic subjects, and cerebral stroke patients [22].

The SNP G8790A of *ACE2* has been reported to be correlated with HTN, cerebral stroke, coronary heart disease and diabetes [23]. Besides, Pan et al. [2] concluded that the *ACE2* G8790A polymorphism is not only associated with EH but also shows geographical, ethnic, and gender diversity. The association between the *ACE2* G8790A polymorphism and HTN remains controversial across ethnic groups, as numerous studies have failed to establish a significant link [18, 24]. However, the correlation of *ACE2* SNPs with HTN in the Bangladeshi population is not yet reported.

The aim of the study. This research sought to investigate the association between the *ACE2* gene polymorphism (G8790A), epidemiological factors, and genders (male and female) with the clinical manifestations of HTN among the population of the southern part of Bangladesh.

Materials and methods

Study design, period and ethics statement

A case-control study was carried out from September 2022 to June 2024 at the Department of Genetic Engineering and Biotechnology, University of Chittagong, in collaboration with the Department of Medicine, Chittagong Medical College

(CMC), Chattogram, Bangladesh. This study and questionnaire were approved by the Ethical Review Committee of CMC (Memo no: CMC/PG/2022/247), Chattogram, and all methods were conducted in accordance with relevant guidelines and recommendations. For this study, a total of 494 participants were enrolled, and they were divided into two groups: the case group consists of 260 essential hypertensive patients (male = 144, female = 116) attending the medicine ward of CMC, Chattogram, Bangladesh and the control group consists of 234 healthy normotensive individuals (male = 194, female = 40) were collected randomly from different wards of CMC. The inclusion criteria for HTN subjects were: (i) EH diagnosed (SBP \geq 140 mmHg/DBP \geq 90 mmHg) according to the WHO guideline of HTN [25] and registered at CMC, and (ii) confirmation that all the subjects are of Bangladesh origin. The selected controls were healthy individuals having normal blood pressure (SBP/DBP 120–129/80–84 mmHg) with no other symptoms of HTN.

The exclusion criteria were: (i) presence of any infectious disease, (ii) conditions where phlebotomy is contraindicated, (iii) age less than 18 years and greater than 70 years, (iv) pregnancy and (v) unwillingness to participate in the study. All procedures were designed and executed to ensure full compliance with the ethical clearance and to uphold the principles for research involving human subjects. Before the interview, the participants were briefed on the research purpose, and written informed consent was taken. All participants (n = 494) were interviewed face-to-face with a standardized and pre-tested questionnaire. Socio-demographic and clinical information for each subject was collected and reviewed by a health professional. Moreover, participants' data, including written consent forms, were methodically documented, with confidentiality assured by removing their names and storing them in a secure and restricted place.

Data collection procedure

The structured questionnaire was administered by experienced nurses to collect demographic and epidemiological data. The general characteristics (e.g., age and its

category, body mass index, blood pressure, gender, dwelling place, education), behavioral characteristics (such as smoking/tobacco consumption, consumption of fruit, vegetable, meat, physical activity and additional salt intake) were obtained through interviewing both HTN patients and controls with the questionnaire. The body mass index (BMI; kg/m²) of the participants was measured using calibrated equipment and a standardized protocol. Blood pressure (BP) was measured after a minimum rest period of 30 min in individuals who had consumed hot beverages like coffee. The measurements were taken using a sphygmomanometer at the midpoint of the left arm, with the participant seated and supported by an armrest. BP was measured twice at 5-min intervals, and the average of the two readings was considered the accurate value. The thresholds for elevated BP were set at SBP ≥ 140 mmHg and DBP ≥ 90 mmHg. Unless otherwise stated, age, BMI and BP were expressed as mean ± SD, and other general and behavioral characteristics were expressed in percentage (%) for all HTN patients and healthy controls.

Collection and processing of samples

From each case and control subject, 5 mL of venous blood samples were obtained using sterilized disposable hypodermic needles. For genomic DNA extraction, a 2 mL fraction of the blood sample was transferred to an EDTA tube (5 mL). The remaining 3 mL sample was taken into another tube and centrifuged at 4000 rpm for 10 min to obtain blood serum. The collected whole blood and serum samples were stored at -20 °C for molecular and biochemical analyses. Urine samples were also collected in sterile urine vials and preserved carefully until analysis.

Genomic DNA extraction, PCR amplification and RFLP

The rs2285666 polymorphism of the *ACE2* gene was initially detected by polymerase chain reaction (PCR)-restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis of genomic DNA (gDNA). The gDNA was extracted from peripheral whole blood of both HTN patients and controls utilizing the

commercial ReliaPrep™ Blood gDNA Miniprep System (Promega, USA) according to the manufacturer's instructions. During gDNA isolation, proteinase K (20 µL) was added to the reaction mixture to inhibit protease activity if it occurred in the sample or reaction mixture. The primers were designed to amplify a unique region specifically from 19803 bp to 20268 bp within the 40 Kb *ACE2* gene sequence. The gDNA was amplified through PCR by targeting the region carrying the G8790A SNP of the *ACE2* gene with forward and reverse primer pairs [21]. The amplification was conducted in a final volume of 15 µL containing 7.5 µL master mix (New England Biolabs Inc., USA), 1 µL template gDNA, 1 µL (10 µM) of each primer, and 4.5 µL nuclease-free water. To amplify the targeted *ACE2* polymorphism (rs2285666), a 32-cycle PCR profile was performed at optimal conditions using a thermal cycler (Nyx Technik Inc., USA), which included initial denaturation at 94 °C for 5 min, denaturation at 94 °C for 30 s, primer annealing at 58 °C for 40 s and elongation at 72 °C for 40 s. The final extension lasted for 5 min at 72 °C. The resulting PCR product was digested with the restriction enzyme AluI (New England Biolabs Inc., USA) at 37 °C for 3 h. At the end of incubation, the enzymatic reaction mixture was heated to 80 °C for 20 min to stop the digestion. The target fragments of the *ACE2* gene were screened by agarose gel (2%, w/v) electrophoresis and were visualized under a UV transilluminator (Benda, Germany). The PCR product of the rs2285666 allele of the *ACE2* gene was stored at -20 °C until analysis.

Genotyping of *ACE2* polymorphism

The genotyping of the *ACE2* gene polymorphism rs2285666 (G>A) was carried out using the PCR-RFLP, followed by confirmation through gene sequencing. During PCR, primer pairs were designed to bind within intron 3 of the *ACE2* gene, with the forward primer annealing at positions 19,803-19,823 bp and the reverse primer at positions 20,249-20,268 bp. The *ACE2* gene is located

on the Xp22 region of the X chromosome and consists of 20 introns and 18 exons. Amplification produced a single fragment of 466 bp, which was visualized by electrophoresis on a 1.5% (w/v) agarose gel using a 100 bp DNA ladder as a reference. To assess the rs2285666 polymorphism, the PCR amplicons were digested with the restriction enzyme AluI. This digestion generated distinct banding patterns corresponding to the different genotypes: a single undigested fragment of 466 bp for the wild-type GG genotype, two fragments of 281 bp and 185 bp for the homozygous AA mutant genotype, and three fragments of 466, 281, and 185 bp for the heterozygous AG genotype.

Sequencing of the PCR amplicon

To confirm genotyping of the *ACE2* gene polymorphism rs2285666, 10% of the total cases and controls were randomly selected for re-amplification by PCR. The obtained PCR amplicons were sequenced by a genetic analyzer (ABI PRISM 3100, Applied Biosystems, USA). All segments were sequenced in both directions to ensure any nucleotide differences. Sequence variations were examined using DNA-based tools [26] and the Clustal Omega alignment tool [27].

Clinical and biochemical parameters

The blood serum samples were analyzed with an autoanalyser (Dimension, Siemens, Germany) to determine the following biochemical parameters: total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, and serum creatinine. Urine samples were tested immediately to determine the qualitative albumin level in both hypertensive and control subjects.

Data processing and analysis

The confirmation of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was achieved through the chi-square (χ^2) test. All statistical analyses were conducted using R Studio (V.4.3.1). The comparison of genotype and allele distributions between the HTN and control groups was assessed using chi-square tests. A rigorous test estimating 2 values at the 0.05% level of significance was performed to

determine whether the genotypic frequencies of the *ACE2* polymorphism departed from HWE. Variables that did not meet the standard limit were excluded from the analysis. The odds ratio (OR) with a 95% confidence interval (CI) was used to evaluate the relationship between genotype and HTN. Relative risk (RR) estimation (95% CI) was applied to confirm the likelihood of disease incidence for different genotypes. Genotype and allelic frequencies in case and control groups were tested using logistic regression before and after adjustment for categorical variables. The results were considered statistically significant if the *P*-value was < 0.05 .

Results

Analysis of general characteristics

The general characteristics were employed to collect sociodemographic and epidemiological variables. These variables are assessed extensively in HTN studies to understand risk factors, identify health disparities and design targeted interventions for different ethnic populations [3, 28]. Moreover, these factors help to highlight the racial disparities in terms of HTN outcomes. This study evaluated ten sociodemographic variables, such as gender, age, age category, BMI, SBP, DBP, residential area, educational status, occupation, and family history of HTN to examine the epidemiological differences between the HTN case and control groups. Table 1 presents the general characteristics, including sociodemographic variables, of study participants. The mean age of the case and control groups was 45 ± 9 and 39 ± 8 , respectively.

The higher average age was observed among HTN cases, which may be attributed to the increased risk of developing HTN with older age. Categorizing the age, the 40-49 year group had the highest number of hypertension cases (44%), while the 25-39 year group had the maximum (62%) healthy controls (Table 1). The BMI value of the case was slightly higher ($23.65 \pm 3.65 \text{ kg/m}^2$) than that of the control ($22.37 \pm 1.62 \text{ kg/m}^2$). This result suggested that individuals in the case group have a higher prevalence of high body weight compared to the control group. The average

SBP of the case and control groups was 142 ± 2 and 120 ± 2 mmHg, with the corresponding DBP being 86 ± 12 and 80 ± 3 mmHg, respectively. The higher SBP value of the case group indicated a greater prevalence of HTN among the studied populations. According to the study, 58% of patients with hypertension lived in rural areas, compared to 69% of healthy subjects who lived in urban areas.

The higher proportion of patients from rural areas suggested a lower level of awareness about HTN. Only 11% of patients had a bachelor's or higher degree and 46%

of patients with primary education, whereas 59% of healthy participants had a bachelor's or higher degree (Table 1). The higher percentage of educated individuals in the control group may suggest better health literacy and healthier lifestyle choices, potentially contributing to their lower HTN prevalence. In case of occupation, 38% of the cases were housewives and 74% of the controls were in service. However, there was no significant statistical difference ($P = 0.6$) between the cases and controls regarding the family history of HTN.

Table 1

General characteristics of study subjects

Sociodemographic variables		Study participants						P-value
		Overall (n = 494)		Case (n = 260)		Control (n = 234)		
		n	%	n	%	n	%	
Gender	Male	338	68	144	55	194	83	<0.001*
	Female	156	32	116	45	40	17	
Age (year) ^a		41 ± 9.00	-	45 ± 9.00	-	39 ± 8.00	-	<0.001*
Age category (year)	25–39	199	40	54	21	145	62	<0.001*
	40–49	171	35	114	44	57	24	
	50–59	96	19	72	28	24	10	
	≥ 60	28	5.70	20	7.70	8	3.40	
BMI (kg/m ²) ^a		23.20 ± 3.14	-	23.65 ± 3.65	-	22.37 ± 1.62	-	0.013*
SBP (mmHg) ^a		132 ± 18	-	142 ± 20	-	120 ± 20	-	<0.001*
DBP (mmHg) ^a		83 ± 10	-	86 ± 12	-	80 ± 30	-	0.80
Residential area	Rural	224	45	150	58	64	31	<0.001*
	Urban	270	55	110	42	160	69	
Educational status	Bachelor or above	166	34	28	11	138	59	<0.001*
	Higher secondary	72	15	32	12	40	17	
	Secondary school	70	14	50	19	20	8.50	
	Primary	152	31	120	46	32	14	
	Illiterate	34	6.9	30	12	4	1.70	
Occupation	Service	216	44	44	17	172	74	<0.001*
	Business	66	13	28	11	38	16	
	Housewife	120	24	98	38	22	9.40	
	Dependent	64	13	62	24	2	0.90	
	Unemployed	28	5.7	28	11	0	0	
Family history of HTN	Yes	253	51.21	136	52	117	50	0.60
	No	241	48.79	124	48	117	50	

Note: BMI = Body mass index; SBP = Systolic blood pressure; DBP = Diastolic blood pressure; HTN = Hypertension; ^aValues were expressed in mean ± standard deviation; Values in parenthesis are percentages calculated with respect to n and selected participant; *Significant difference between study groups ($P < 0.05$). Reference value: BMI: 18.5-24.9 kg/m²; SBP/DBP: ≤120/80 mmHg.

The aforementioned results highlighted the statistically significant socio-demographic differences ($P < 0.001$) between case and control groups in terms of general characteristics, including gender, age, age category, BMI, SBP, residential area, education, and occupation. The other two variables, such as DBP and family history of HTN, showed insignificant differences (Table 1) in the study.

Analysis of behavioral characteristics

The lifestyle factors as well as behavioral characteristics are crucial in the development, progression, and management of HTN [29]. Thus, it is necessary to study these factors for designing effective strategies in order to prevent and treat HTN by comprehending their impact on the conditions. In this study, six lifestyle variables, including smoking/tobacco consumption, frequency of consuming fruits, vegetables, and meat, physical activity, and additional salt intake, were examined to determine the behavioral and/or dietary habit differences between the case and control groups. The lifestyle features of the study participants are summarized in Table 2.

Individuals with HTN have a higher proportion of current (25%) and former (18%) smokers compared to the healthy controls ($P < 0.001$). There were no significant differences ($P = 0.7$) observed in fruit consumption frequency between the cases and controls.

The practice of vegetable and meat consumption (times per week) was found to be significantly higher in controls, which implied the importance of healthy and balanced food intake for preventing HTN. Moreover, the control group had a higher proportion of people engaged in more daily physical activity ($P < 0.001$) than HTN subjects (Table 2), which might play an important role in avoiding HTN complications. The percentage of additional salt intake did not show a significant difference ($P = 0.083$) between the study groups. The significant differences were observed between the case and control groups concerning smoking/tobacco consumption, vegetable and meat intake, and physical activity level. There were no significant differences between the groups in terms of fruit consumption or additional salt intake.

Table 2

Lifestyle factors of study subjects

Behavioral characteristics		Study participants						P-value
		Overall (n = 494)		Case (n = 260)		Control (n = 234)		
		n	%	n	%	n	%	
Smoking/chewable tobacco consumption	Current	118	24	64	25	54	23	<0.001*
	Former	52	11	46	18	6	2.60	
	Never	324	65	150	58	174	74	
Fruit consumption (times/week)	≤ 3	340	69	176	68	164	70	0.70
	> 3	154	31	84	32	70	30	
Vegetable consumption (times/week)	≤ 3	470	95	240	92	230	98	0.029*
	> 3	24	5	20	7.70	4	1.70	
Meat consumption (times/week)	≤ 3	128	26	24	9.20	104	44	<0.001*
	> 3	366	74	236	91	130	56	
Physical activity (min per day)	< 30	98	20	84	32	14	6.00	<0.001*
	30–60	118	24	94	36	24	10	
	> 60	34	7	0	0	34	15	
	None	244	49	82	32	162	69	
Additional salt intake	Yes	82	17	36	14	46	21	0.083
	No	412	83	224	86	188	79	

Note: Females were not smokers; Values in parenthesis are percentages calculated with respect to n and selected participant; *Significant difference between groups ($P < 0.05$).

Genotyping results of the *ACE2* polymorphism

The banding patterns of PCR products and its restriction fragments for the rs2285666 polymorphism in the *ACE2* gene are illustrated in Fig. 1. The uncut PCR products showed a single amplicon of 466 bp in all samples, confirming the successful amplification of the rs2285666 region of the *ACE2* gene (Fig. 1a). After digestion with the *AluI* enzyme, distinct banding patterns corresponding to different genotypes were observed. A single band of 466 bp was detected in lanes 3 and 5, indicating the

homozygous wild-type GG genotype. Two bands of 281 bp and 185 bp were observed in lanes 2, 4, 6, and 7, representing the homozygous mutant AA genotype. Three bands of 466 bp, 281 bp, and 185 bp were present in lane 1, corresponding to the heterozygous AG genotype (Fig. 1b). These banding patterns confirmed the occurrence of genetic variation at the rs2285666 locus of the *ACE2* gene. Furthermore, the distribution of the genotypes in the studied population showed no significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE).

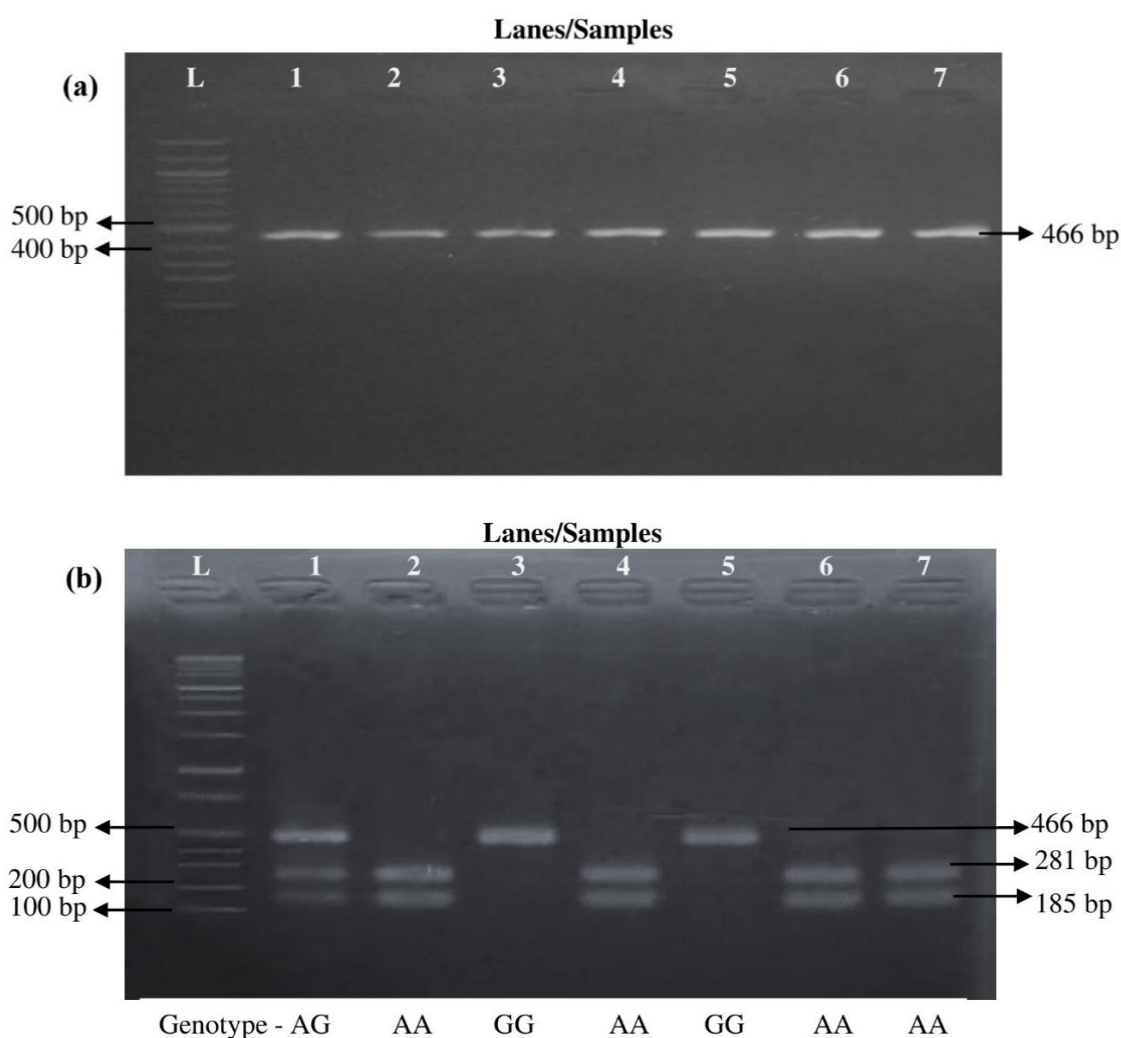


Fig. 1. Genotyping of the *ACE2* gene polymorphism rs2285666 through the PCR-RFLP method using primers, *AluI* enzyme, and gel electrophoresis. **(a)** Visualizing the amplicons of the *ACE2* gene rs2285666 allele on agarose gel (1.5%, w/v). Genomic DNA was extracted from blood and amplified by PCR. The targeted PCR product size was 466 bp. L represents DNA ladder (100 bp); lanes 1–7 represent uncut PCR products. **(b)** Agarose gel (2%) image of PCR-RFLP fragments of the *ACE2* (rs2285666) gene. Lane 1 denotes heterozygous AG genotype; lanes 2, 4, 6 and 7 denote homozygous AA genotype (mutant); lanes 3 and 5 denote wild-type GG genotype.

The allelic and genotypic frequencies of the rs2285666 allele of the *ACE2* gene were investigated using HWE among males and females, respectively. The association between the rs2285666 (G>A) and the risk of EH in female participants was also explored in this study. Table 3 represents the frequencies of the *ACE2* gene polymorphism rs2285666 (G>A) in male and female subjects and its association with EH risk, specifically in females. The G allele frequency was observed in 52.78% of male HTN cases and 54.63% of male controls, while the A allele was found in 47.22% of male HTN cases and 45.36% of male controls

(Table 3a). In males, no significant difference was observed between the A and G alleles. Since *ACE2* is an X-linked gene and males carry only one copy of the X chromosome, genotypic distribution was not applicable due to the absence of allelic variation. In females, the AG genotype was significantly associated with the higher risk of HTN, occurring in 44.84% of cases and 5% of controls ($P = 0.0009$). Moreover, the AA genotype was found to be about 3.99 times less likely to be a risk factor for HTN in females when compared with the GG genotype (Table 3b).

Table 3

Allelic and genotypic frequencies of *ACE2* gene polymorphism rs2285666 among male and female participants respectively, and its association with HTN risk in females

(a) Male participants							
Allelic frequency	Case (n = 144)		Control (n = 194)		OR (95% CI)	P-value	
	n	%	n	%			
G	76	52.78	106	54.63	1.00 (Reference)		
A	68	47.22	88	45.36	0.93 (0.59–1.44)	0.742	
Total	114	100	194	100			
(b) Female participants							
Genotypic frequency	Case (n = 116)		Controls (n = 40)		OR (95% CI)	P-value	
	n	%	n	%			
GG	38	32.75	14	35	1.00 (Reference)		
AG	52	44.84	2	5	9.58 (2.05–44.66)	0.0009*	
AA	26	22.41	24	60	0.39 (0.17–0.91)	0.040	
Total	116	100	40	100			
(c) Polymorphism rs2285666 (G>A) and HTN risk in females							
Model	Genotype	Case (n = 116)		Control (n = 40)		OR (95% CI)	P-value
		n	%	n	%		
Dominant	GG	38	32.80	14	35	1.00 (Reference)	
	AG+AA	78	67.20	26	65	1.11 (0.52–2.36)	0.80
Recessive	GG+AG	90	77.60	16	40	1.00 (Reference)	
	AA	26	22.40	24	60	0.19 (0.09–0.42)	<0.0001*
Over dominant	GG+AA	64	55.20	38	95	1.00 (Reference)	
	AG	52	44.80	2	5	15.44 (3.56–67.02)	<0.0001*

Note: HTN = Hypertension; OR = Odds ratio; CI = Confidence interval; Frequency data were expressed in percentage (%); Allelic and genotypic frequencies were determined with Hardy-Weinberg equilibrium; Models were analyzed by logistic regression and shown as percentage values; Values in parenthesis are percentage (%) calculated with respect to n and selected participant; *Significant difference between groups ($P < 0.05$).

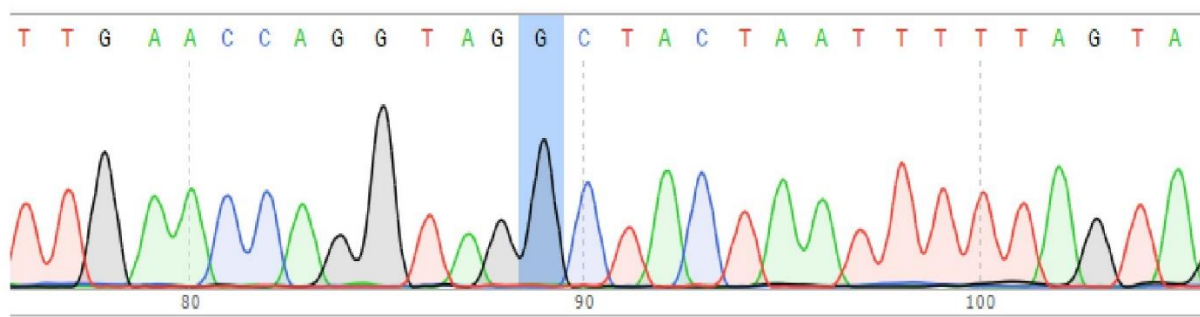
The PCR products of rs2285666 from randomly selected cases and controls were sequenced to validate the genotyping method. The chromatograms of sequencing results for

the rs2285666 polymorphism in the *ACE2* gene are depicted in Fig. 2. In chromatograms, the nucleotides are color-coded as red, green, blue and black for thymine (T), adenine (A),

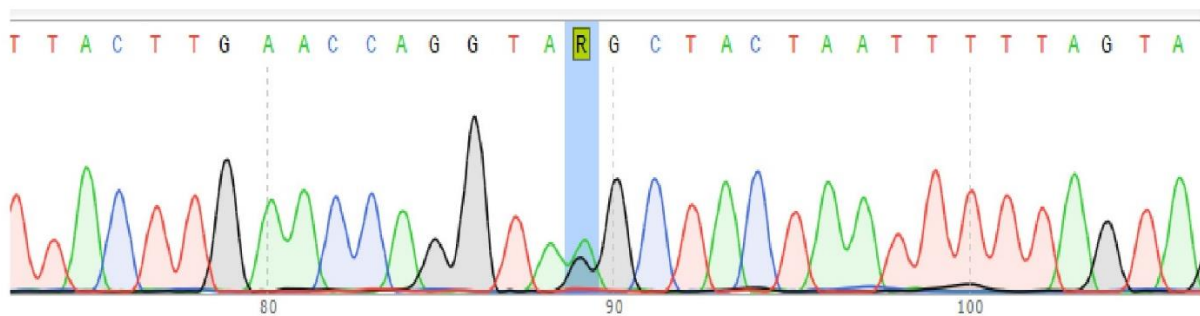
cytosine (C), and guanine (G) respectively, to clearly distinguish each base in DNA sequences. In Fig. 2a, the G allele was present in two copies in the study people as indicated by the chromatogram with peaks predominantly in blue. This result reflected that the genotype was homozygous for the G allele (GG). The chromatogram with blue and green curves represented a heterozygous genotype as GA (Fig. 2b). These findings suggested that the individuals with this genotype have one mutant (A) allele and one wild-type (G) allele at the rs2285666 locus. A

consistent green curve demonstrated the homozygous mutant (AA) genotype with peaks predominantly in green. It indicated that the rs2285666 locus has two identical mutant (A) alleles (Fig. 2c). This genotype resulted in two copies of the A allele in an individual. Therefore, it is mentioned that the AG genotype of the rs2285666 allele in females was significantly linked to the higher risk of HTN (44.8% cases vs. 5% controls), while the AA genotype showed no significant association (22.4% cases vs. 60% controls).

(a) Homozygous wild-type (GG) genotype



(b) Heterozygous mutant (GA) genotype



(c) Homozygous mutant (AA) genotype



Fig. 2. Chromatograms of sequencing results for the rs2285666 polymorphism in the *ACE2* gene. The PCR products of the *ACE2* gene rs2285666 from selected cases and controls (10% of the total samples) were sequenced

Association of the *ACE2* gene polymorphism with HTN risks

A multivariate logistic regression analysis was conducted to estimate the relationship between the *ACE2* gene polymorphism rs2285666 (G>A) and HTN risk in female participants. The Odds ratios (OR) with 95% confidence interval (CI) were calculated to quantify this association for both case and control groups. This analysis was performed only in female subjects as the *ACE2* gene is located on the X chromosome. According to the dominant model (Table 3c), which compares GG to the combined AG+AA genotypes, there was no significant association with HTN risk in females ($P = 0.08$). In the recessive model, the AA genotype was more frequent among controls than cases, indicating a protective effect against HTN. In contrast, under the dominant model, the AG genotype appeared more frequently in hypertensive patients than in controls, suggesting an increased risk of HTN (Table 3c). These findings consistently showed that the AG genotype was associated with a higher risk of HTN in females across different models, whereas the AA genotype was related to a reduced risk. The association of the rs4646994 allele with HTN was examined through frequency distribution (Table 3a), with interpretation adjusted for the fact that males carry only one copy of the X-linked gene.

Analysis of clinical and biochemical parameters

This study examined the clinical and biochemical profiles of male and female participants, with a focus on comparing case and control groups, to identify significant gender differences in various health parameters. The clinical and biochemical characteristics, including SBP, DBP, TC, TG, HDL, LDL, serum creatinine, and urine albumin, are listed in Table 4.

Among male participants, 83% of cases exhibited high SBP compared to 7% of controls, showing a significant difference ($P < 0.001$). Similarly, 78.35% of cases had high DBP compared to 94.03% of controls, which was also statistically significant ($P < 0.001$). Regarding lipid profiles, TC levels

did not show a significant difference between cases and controls ($P = 0.30$), with 26.32% of cases and 21% of controls having high TC levels. However, TG levels were considerably elevated in cases, with 71.44% having high TG values compared to 35.34% of controls, approaching statistical significance ($P = 0.05$) (Table 4). The higher TG values indicated the potential role of dyslipidemia in the progression of HTN.

The HDL cholesterol levels revealed a significant distinction, with 49% of cases having low HDL compared to 24.78% of controls ($P < 0.001$) in males. Conversely, 21.17% of controls had high HDL values, while none of the cases had higher HDL levels. The low level of HDL in HTN patients was probably due to the HTN-related metabolic complications. For male participants, 17.88% of HTN cases had high LDL cholesterol levels compared to 11.22% of controls, with no significant difference ($P = 0.12$). Serum creatinine levels were significantly higher in the case group, with 25.11% having elevated levels compared to 1.30% of controls ($P < 0.001$). The quantitative levels of urine albumin differed significantly, with 97.60% of controls having no albumin compared to only 10% of cases, while higher albumin levels (+, ++, +++) were observed exclusively in cases ($P < 0.001$).

For female participants, the SBP showed a significant difference between cases and controls ($P < 0.001$), with 79.95% of cases having high SBP compared to none of the controls (Table 4). The DBP levels also showed a significant disparity ($P < 0.001$), with 64.25% of cases having high DBP, whereas all controls had normal DBP. The TC values among females did not show significant differences between cases and controls ($P > 0.9$), with 33.30% of cases and 32.85% of controls having high TC. Similarly, TG levels did not differ significantly ($P = 0.80$), with 78% of cases and 74.22% of controls having high TG. However, HDL cholesterol levels presented a significant difference ($P < 0.001$); 48.40% of cases had low HDL compared to 10.25% of controls. LDL cholesterol levels did not show significant differences ($P = 0.5$), with 28.59% of cases and 35% of controls having

high LDL levels. Serum creatinine levels were significantly higher in the case group ($P = 0.003$), with 23.97% of cases having their elevated levels compared to none of the controls. Urine albumin levels also showed significant differences ($P < 0.001$), with 94.40% of controls having no albumin

compared to only 5.70% of cases, while higher albumin levels were more prevalent in cases (Table 4). The biochemical analyses demonstrated that the high levels of serum creatinine and urine albumin in male and female HTN patients could be attributed to impaired kidney function associated with EH.

Table 4

Clinical and biochemical profiles of study populations on the basis of gender

Variables	Male participants			Female participants			
	Case (n = 144)	Control (n = 194)	P-value	Case (n = 116)	Control (n = 40)	P-value	
	(%)			(%)			
SBP (mmHg)							
Normal	17.00	93.00	<0.001*	20.05	100	<0.001*	
High	83.00	7.00		79.95	0.00		
DBP (mmHg)							
Normal	22.65	5.97	<0.001*	35.75	100	<0.001*	
High	78.35	94.03		64.25	0.00		
TC (mg/dL)							
Normal	73.68	79.00	0.30	66.70	67.15	>0.90	
High	26.32	21.00		33.30	32.85		
TG (mg/dL)							
Normal	28.56	64.66	0.05	22.00	25.78	0.80	
High	71.44	35.34		78.00	74.22		
HDL (mg/dL)							
Low	49.00	24.78	<0.001*	48.40	10.25	<0.001*	
Normal	51.00	54.05		43.00	79.75		
High	0.00	21.17		8.60	10.00		
LDL (mg/dL)							
Normal	82.12	88.78	0.12	71.41	65.00	0.50	
High	17.88	11.22		28.59	35.00		
Serum creatinine (mg/dL)							
Normal	74.89	98.70	<0.001*	76.03	100	0.003*	
High	25.11	1.30		23.97	0.00		
Urine albumin (qualitative)							
	Nil	10.00	97.60	5.70	94.40		
	Trace	56.00	2.40	47.60	5.60		
	+	14.00	0.00	<0.001*	30.00	0.00	<0.001*
	++	16.60	0.00		11.00	0.00	
	+++	3.40	0.00		5.70	0.00	

Note: SBP = Systolic blood pressure; DBP = Diastolic blood pressure; TC = Total cholesterol; TG = triglycerides; HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein; Nil = Absence of albumin; Trace = Very low amount of albumin; Number of "(+)" signs = Increasing quantity of albumin. Reference value: SBP/DBP: $\leq 120/80$ mmHg; TC: <200 mg/dL; TG: <150 mg/dL; HDL: >40 mg/dL; LDL: <100 md/dL; Serum creatinine: Male 0.4–1.4, Female 0.3–1.1 mg/dL. Values in percentages are calculated with respect n and selected participants; *Significant difference between groups ($P < 0.05$).

Table 5 presents the influence of the *ACE2* G8790A polymorphism on clinical and biochemical profiles in male and female HTN patients. In male hypertensive patients, the *ACE2* G8790A polymorphism showed no notable association with BMI, blood pressure, TC, TG, LDL, serum creatinine and urine albumin level, although reduced HDL levels were more frequent in G allele carriers. In female hypertensive patients, the distribution of BMI and SBP did not differ notably across

genotypes. However, DBP was higher in AG and GG carriers compared to AA. TC and TG were also elevated among AG and GG groups. Significant variation was observed in serum creatinine levels ($P = 0.012$), with AA carriers more often within the normal range (Table 5). Urine albumin excretion differed significantly across all three genotypes, with the highest (+++) amount observed in female AA carriers ($P = 0.001$).

Beginning of Table 5

Influence of *ACE2* G8790A polymorphism on clinical and biochemical profiles of hypertensive patients

Variables	Male HTN patients			Female HTN patients			
	A allele (n = 68)	G allele (n = 76)	P-value	AA (n = 26)	AG (n = 72)	GG (n = 38)	P-value
	%			%			
BMI							
Normal weight (18.5-24.9)	51.50	47.40		50.00	50.00	47.40	
Overweight (25-29.9)	36.80	36.80	0.56	38.50	36.10	44.70	0.61
Obese ≥ 30	11.70	15.80		11.50	13.90	7.90	
SBP (mmHg)							
Normal	15.93	17.00	0.90	27.07	19.00	15.15	0.50
High	84.07	83.00		72.93	81.00	84.85	
DBP (mmHg)							
Normal	28.00	17.12	0.13	47.00	43.48	20.09	0.033*
High	72.00	82.88		53.00	56.52	79.91	
TC (mg/dL)							
Normal	73.86	74.00	>0.90	87.72	50.25	69.91	0.002*
High	26.14	26.00		12.28	49.75	30.09	
TG (mg/dL)							
Normal	73.60	73.50	>0.09	87.00	50.13	69.70	0.003*
High	26.40	26.50		13.00	49.87	30.30	
HDL (mg/dL)							
Low	39.21	59.55		38.00	55.07	50.00	
Normal	60.79	40.45	0.019*	55.70	31.42	45.00	0.20
High	0.00	0.00		6.30	13.51	5.00	
LDL (mg/dL)							
Normal	82.00	81.92	>0.90	81	59.48	75.17	0.08
High	18.00	18.08		19	40.52	24.83	
Serum creatinine (mg/dL)							
Normal	74.13	75.56	0.70	69.23	90.90	65.33	0.012*
High	25.87	24.44		30.77	9.10	34.67	

End of Table 5

Influence of ACE2 G8790A polymorphism on clinical and biochemical profiles of hypertensive patients

Variables	Male HTN patients			Female HTN patients			
	A allele (n = 68)	G allele (n = 76)	P-value	AA (n = 26)	AG (n = 72)	GG (n = 38)	P-value
	%			%			
Urine albumin (qualitative)							
	Nil	10.00	9.89		0	10.47	5.30
	Trace	60.70	52.54		43.11	55.00	41.89
	+	13.00	14.11	0.90	35.73	25.23	32.74
	++	13.00	20.06		0.00	9.30	20.07
	+++	3.30	3.40		21.16	0.00	0.00

Note: BMI = Body mass index; HTN = Hypertension; SBP = Systolic blood pressure; DBP = Diastolic blood pressure; TC = Total cholesterol; TG = triglycerides; HDL = High density lipoprotein; LDL = Low density lipoprotein; Nil = Absence of albumin; Trace = Very low amount of albumin; Number of "(+)" signs = Increasing quantity of albumin. Reference value: SBP/DBP: $\leq 120/80$ mmHg; TC: < 200 mg/dL; TG: < 150 mg/dL; HDL: > 40 mg/dL; LDL: < 100 mg/dL; Serum creatinine: Male 0.4–1.4, Female 0.3–1.1 mg/dL. Values in percentages are calculated with respect n and selected participants; *Significant difference between groups ($P < 0.05$).

For female HTN patients, SBP levels were high across all genotypes with no significant differences ($P = 0.5$). DBP was significantly higher in GG genotype carriers (79.91%) compared to AA (53%) and AG (56.52%, $P = 0.033$). The levels of TC were significantly higher in AG carriers (49.75%) compared to AA (12.28%) and GG (30.09%, $P = 0.002$). The TG levels also showed higher values in AG (49.87%) carriers compared to AA (13.00%) and GG (30.30%) genotype carriers (Table 5). The HDL cholesterol levels did not show significant differences ($P = 0.20$). The LDL cholesterol levels approached significance ($P = 0.085$), with AG carriers having higher levels. Serum creatinine was significantly higher in GG carriers (34.67%) compared to AA (30.77%) and AG (9.10%, $P = 0.012$). The levels of urine albumin differed significantly ($P = 0.001$), with higher levels in AA and GG carriers. It is highlighted that the ACE2 G8790A polymorphism significantly affected the specific biochemical factors such as TC, HDL, LDL, serum creatinine, and urine albumin in male and female HTN patients.

Males with the G allele had lower HDL levels, while no other parameters showed significant differences on the basis of allele. However, females with the AG genotype had higher TC and lower serum creatinine levels, and GG carriers had higher DBP and urine albumin levels.

Association of ACE2 Genotypes with Physical Activity and Smoking Status

Table 6 shows the distribution of ACE2 genotypes by physical activity and smoking status. Among individuals with low physical activity (< 30 min/week), wild-type participants had a higher number of cases compared to controls, while moderate activity (30–60 min/week) was associated with the largest number of cases for both wild-type and mutant genotypes (Table 6a). For physical activity above 60 min, all participants were controls, regardless of genotype. As shown in Table 6b, former smokers with the mutant genotype had very few cases, whereas never smokers with the wild-type had more cases. This suggests differences in risk patterns across genotype groups.

Table 6

Distribution of ACE2 genotypes by physical activity and smoking status among hypertensive patients and controls

(a) Physical Activity

Genotype	Category (min/week)	Case n (%)	Control n (%)	OR (95% CI)
Wild	< 30	46 (17.69)	10 (4.27)	1.00
	30–60	52 (20)	53 (22.65)	6.59 (2.82–15.39)
	> 60	0 (0.0)	63 (26.92)	---
	None	62 (23.85)	0 (0.0)	0.89
Mutant	< 30	38 (14.62)	19 (8.12)	1.00
	30–60	42 (16.15)	59 (25.21)	3.12 (1.53–6.37)
	> 60	0 (0.0)	27 (11.54)	---
	None	20 (7.69)	3 (1.29)	0.30 (0.08–1.18)

(b) Smoking status

Genotype	Category	Case n (%)	Control n (%)	OR (95% CI)
Wild	Current	43 (16.54)	32 (13.67)	1.00
	Former	21 (8.08)	4 (1.71)	0.52 (0.09–3.11)
	Never	96 (36.92)	90 (38.46)	1.50 (0.68–3.30)
Mutant	Current	21 (8.08)	22 (9.41)	1.00
	Former	25 (9.62)	2 (0.86)	0.04 (0.00–0.30)
	Never	54 (20.76)	84 (35.89)	1.37 (0.60–3.16)

Note: Total cases (n) = 260 (wild-type = 160, mutant = 100); Total controls (n) = 234 (wild-type = 126, mutant = 108).

Comorbidities in HTN patients

Different genotypes (wild-type GG and mutant AG, AA) of the ACE2 gene polymorphism rs2285666 (G8790A) were studied to evaluate their impact on various comorbidities among HTN individuals. The

distribution of comorbidities in HTN patients revealed significant differences among the wild-type GG, mutant AG, and AA genotypes. The comorbidities in HTN patients with different ACE2 genotypes are shown in Fig. 3.

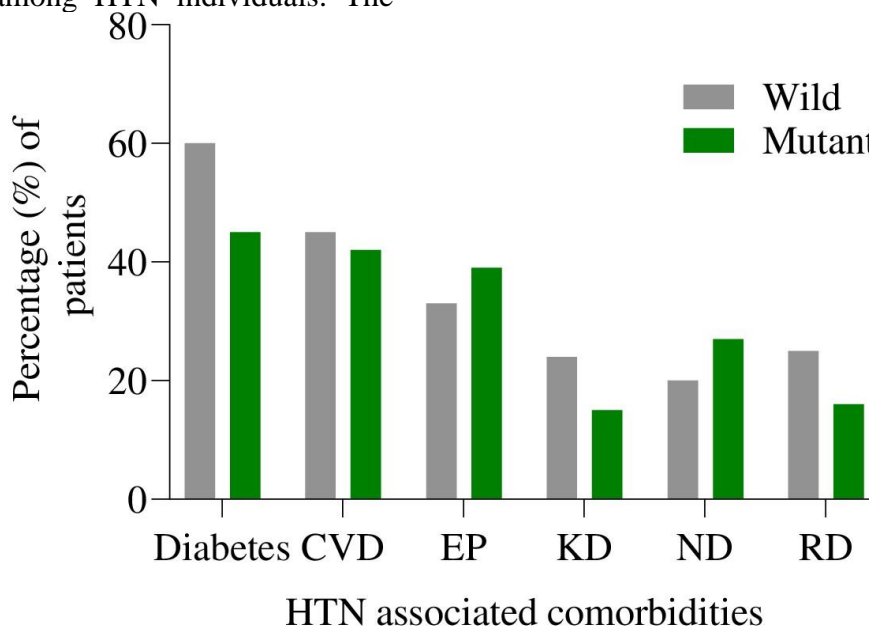


Fig. 3. Comorbidities among the hypertensive patients with ACE2 genotypes: wild-type GG, mutant AG and AA. CVD = Cardiovascular disease; EP = Eye problem; KD = Kidney disease; ND = Neurological disease; RD = Respiratory disease ($P < 0.05$)

Among the comorbidities, diabetes was more frequently observed in patients with the GG genotype, though this association was marginally significant ($P = 0.049$). Cardiovascular disease (CVD) showed the highest prevalence in both wild-type GG and mutant AG, AA genotypes without statistically significant ($P > 0.05$) difference (Fig. 3). There were no significant differences between the wild and mutant genotypes for other comorbidities such as eye problems (EP), kidney disease (KD), neurological disease (ND) and respiratory disease (RD). This study revealed that HTN patients with distinct genotypes of the *ACE2* gene displayed diverse comorbidity profiles, with mutant genotypes (AG and AA) commonly associated with a higher prevalence and severity of diabetes and CVD, as well as increased risks of EP, ND, RD, and KD conditions.

Discussion. Essential hypertension (EH) is one of the most common and serious public health problems, and is responsible for high cardiovascular morbidity and mortality worldwide [11]. In Bangladesh, several factors such as rapid urbanization, sedentary lifestyles, poor eating habits, increased cigarette use, and rising CVD rates may contribute to HTN [30]. Numerous genes and non-modifiable factors contribute to BP regulation in a polygenic manner [31]. This study identified notable sociodemographic and behavioral disparities between the HTN patients and healthy controls. The percentage of male HTN patients was significantly higher than that of females, which is consistent with previous studies [32, 33]. Age was identified as a significant risk factor, with HTN patients having a higher mean age than controls, aligning with prior research [34]. The highest HTN prevalence was observed in the 40-49 year age group, contrasting with an earlier study that showed the 50-59 year age group as the most prominent risk group [28]. The HTN patients had higher BMI, SBP, and DBP (Table 1). Besides, they resided in rural areas, had lower levels of education, higher smoking rates, and lower levels of physical activity, with fewer reporting regular exercise and vegetable intake [3, 28]. These findings highlight the need for

targeted interventions to address HTN disparities and improve public health.

The effect of the *ACE2* gene polymorphisms on HTN is controversial across distinct ethnic populations [9, 18, 34, 35]. Hence, this study investigated the association between the *ACE2* gene polymorphism rs2285666 and HTN in southern Bangladeshi populations. No allele frequency difference was found in males (Table 3a), which is comparable with a meta-analysis [18] for the HTN case and control groups. In the current study, different genetic models of inheritance were utilized to assess the correlation between the *ACE2* G8790A gene polymorphism and HTN risk in females solely, as this gene exists on the X chromosome. In the dominant model, no significant relationship was found for AG+AA/GG frequency (Table 3c). The recessive model showed that the AA genotype may exert a protective effect against HTN in females, as it was more prevalent in the control group than in the case group. It indicated a significant inverse relationship between the AA genotype and HTN risk in females (Table 3c). In accordance with these findings, Li [18] explored the *ACE2* gene polymorphism in women using dominant and recessive models, and the author reported that both models demonstrated an insignificant association between the *ACE2* G8790A polymorphism and HTN risk.

Additionally, no significant differences in genotypic distribution were observed between female cases and controls in this study. A previous research also reported no significant variation in genotype frequencies [34], consistent with the obtained results for the AA and AG genotypes, although their data differed slightly for the AG genotype. In contrast to these reported findings, this research revealed that females with a heterozygous AG genotype were at an increased risk of developing hypertension compared to those with a GG genotype (Table 3b). This result is further supported by the dominant model (Table 3c), which highlighted a markedly increased risk of HTN among females carrying the AG genotype compared to other genotypes. In a community-based

study conducted in central China, the authors [35] reported that analysis of a single SNP (rs2285666) showed no significant differences in minor allele frequency (A) among females in dominant, recessive, and additive models, nor were any differences observed among male patients. Contrasting findings were reported, with significant genotype and allele frequency differences in HTN patients in the Dongxiang population compared to controls, including a higher prevalence of the AA genotype and the A allele, regardless of gender. Furthermore, Dongxiang HTN patients showed higher AG and AA genotype frequencies and a higher A allele prevalence than Han HTN patients [12].

Several studies have reported a positive association between G8790A and HTN [9, 36]. Therefore, the function of the *ACE2* G8790A SNP in HTN remains a subject of debate due to conflicting findings. Such heterogeneous findings regarding the relationship between the rs2285666 gene polymorphism and HTN can be attributed to the following factors. Firstly, hormonal factors and differences in sex chromosomes play a vital role in BP variations between males and females [12, 19, 37]. Secondly, genetic factors, including significant variations in the frequency of *ACE2* variants, exist across racial and ethnic groups, further contributing to this heterogeneity [12, 38]. The present study found no association between the G8790A allele (A) and HTN in male patients, consistent with several previous studies, although it revealed a new finding, a significantly higher frequency of the heterozygous mutation (AG) in female HTN patients (Table 3a, b).

A previous study on the association between the G8790A polymorphism and type 2 diabetes mellitus reported a higher frequency of the heterozygous (AG) mutation in females [39], but no other studies have reported this association in female patients. This novel finding was detected probably due to the interaction between A and G alleles in the heterozygous state, which influences gene expression or regulatory mechanisms differently in females, potentially contributing to HTN risk, while the allelic interaction might not be prominent in males. Additionally,

rs2285666 exhibits properties of a quantitative trait locus for HTN, a DNA region linked to a distinct phenotypic trait that varies in degree and is known to show a polygenic effect [40]. It is plausible that HTN is influenced by multiple genes and environmental factors (including geographic location), rather than being solely determined by a single gene.

The clinical and biochemical profiles were compared between male and female participants in this study. Hypertensive patients showed higher SBP and DBP values, along with lower HDL cholesterol levels (Table 4), consistent with previous findings in a study conducted in Spain [41]. Elevated serum creatinine in both males and females indicated possible renal impairment, in agreement with earlier research [42]. Urine albumin levels were significantly higher in cases, as supported by numerous studies [43, 44]. By contrast, TC, TG and LDL did not show notable differences between cases and controls in either gender.

The *ACE2* gene polymorphism rs2285666 was studied to evaluate its impact on the biochemical variables in male and female HTN patients (Table 5). In males, differences in HDL cholesterol levels suggested that allele variation may influence lipid metabolism, although no consistent effects were observed for other clinical variables. In female HTN patients, GG genotype carriers had higher DBP and serum creatinine levels, AG carriers showed elevated TC levels, and AA carriers had higher urine albumin levels. Thus, no consistent risk genotype for biochemical parameters was identified, highlighting the need for further studies with larger sample sizes. Pinheiro et al. [9] reported no statistically significant impact of the G8790A variant on clinical factors in HTN patients of both genders. Table 6 demonstrates that *ACE2* genotypes may influence the relationship between physical activity, smoking status, and HTN risk. Differences in case distributions across activity levels and smoking categories suggest a potential gene-environment interaction, but further data are needed to confirm these associations.

The impact of the *ACE2* rs2285666 genotypes (GG, AG, and AA), on various comorbidities in HTN patients was assessed (Fig. 3). The GG genotype was marginally linked to a higher frequency of diabetes, while CVD was prevalent across all genotypes. Yang et al. [36] similarly reported that the G8790A variant might increase myocardial infarction (MI) risk in females and, when combined with alcohol consumption, raise the likelihood of chronic heart disease and MI risk in males. No clear genotype-related differences were observed for other comorbidities, including EP, KD, ND and RD. Mutant genotypes (AG, AA) were connected to higher prevalence and severity of diabetes, CVD, and other health conditions. This study identified a novel association between the *ACE2* G8790A polymorphism and increased HTN risk in females with the AG genotype. It underscores the importance of genetic and gender differences in HTN management. However, the small sample size and focus on southern Bangladeshi populations limit generalizability. Further research with larger samples is needed.

Conclusion. HTN is a multifactorial and polygenic condition affecting about one-third of the global population and is progressively becoming a serious health issue in Bangladesh. The impact of the *ACE2* gene polymorphism on essential hypertension was investigated to identify sociodemographic and genetic factors associated with HTN in the southern region of Bangladesh. The research pointed out the risk-associated polymorphisms in HTN patients using the PCR-RFLP method with *ACE2* G8790A-specific primers and the AluI enzyme to detect the specific SNP. This study revealed that the heterozygous AG genotype of the *ACE2* gene is associated with an increased risk of HTN, suggesting its potential as a biomarker for early diagnosis and the prevention of complications. The *ACE2* gene polymorphism significantly affected the serum creatinine, urine albumin, TC, HDL, LDL in male and female HTN patients, which can lead to kidney disease and cardiovascular disease (CVD). HTN patients with different *ACE2* gene genotypes indicated the varied comorbidities with mutant genotypes (AG and AA) usually

linked to a higher prevalence and severity of diabetes and CVD conditions. Additionally, environmental factors such as diet and lifestyle might play a significant role in HTN prevalence. This work underscores the importance of considering both genetic and environmental factors in developing public health strategies to challenge the growing burden of HTN. By highlighting the interplay among these factors, this study will contribute to a deeper understanding of HTN in the Bangladeshi population and offer valuable insights for more effective, and targeted healthcare interventions in future research and public health management. Understanding the impact of the *ACE2* gene polymorphism on hypertension will not only help in tailoring more personalized treatment approaches for HTN patients but also address their specific comorbidities more effectively.

Financial support

This study was funded and supported by the Grants for Advanced Research in Education (GARE) program under the Ministry of Education, Government of the People's Republic of Bangladesh (PID: LS20222237; GO No: 37.20.0000.004.033.020.2022-596) and the Research & Publication Cell (RPC: 503/2023-24/2nd Call/33/2024), University of Chittagong.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, et al. Hypertension. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018;4:18014. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.14>
2. Pan Y, Wang T, Li Y, et al. Association of *ACE2* polymorphisms with susceptibility to essential hypertension and dyslipidemia in Xinjiang, China. *Lipids in Health and Disease*. 2018;17(1):1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0890-6>
3. Patnaik M, Pati P, Swain SN, et al. Association of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-converting enzyme-2 gene polymorphisms with essential hypertension in the

- population of Odisha, India. *Annals of Human Biology*. 2014;41(2):145-152. DOI: <https://doi.org/10.3109/03014460.2013.837195>
4. Picariello C, Lazzeri C, Attana P, et al. The impact of hypertension on patients with acute coronary syndromes. *International Journal of Hypertension*. 2011;2011:563657. DOI: <https://doi.org/10.4061/2011/563657>
5. Zhang Q, Cong M, Wang N, et al. Association of angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphism and enzymatic activity with essential hypertension in different gender: A case-control study. *Medicine*. 2018;97(42):e12917. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012917>
6. World Health Organization. Noncommunicable diseases [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2022 [cited 2025 Jun 10]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
7. El-Saharty S, Ahsan KZ, Koehlmoos TLP, et al. Tackling noncommunicable diseases in Bangladesh: now is the time. Washington (DC): World Bank; 2013. DOI: <https://doi.org/10.1596/978-0-8213-9920-0>
8. Mengesha HG, Petrucka P, Spence C, et al. Effects of angiotensin converting enzyme gene polymorphism on hypertension in Africa: A meta-analysis and systematic review. *PloS ONE*. 2019;14(2):e0211054. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211054>
9. Pinheiro DS, Santos RS, Jardim PCBV, et al. The combination of ACE I/D and ACE2 G8790A polymorphisms reveals susceptibility to hypertension: A genetic association study in Brazilian patients. *PloS ONE*. 2019;14(8):e0221248. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221248>
10. Shih PB, Connor DT. Hereditary determinants of human hypertension: strategies in the setting of genetic complexity. *Hypertension*. 2008;51(6):1456-1464. DOI: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.090480>
11. Birhan TA, Molla MD, Abdulkadir M, et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphisms with risk of hypertension among the Ethiopian population. *PLoS ONE*. 2022;17(11):e0276021. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276021>
12. Yi L, Gu YH, Wang XL, et al. Association of ACE, ACE2 and UTS2 polymorphisms with essential hypertension in Han and Dongxiang populations from north-western China. *Journal of International Medical Research*. 2006;34(3):272-283. DOI: <https://doi.org/10.1177/147323000603400306>
13. Chamsi-Pasha MAR, Shao Z, Tang WHW. Angiotensin-converting enzyme 2 as a therapeutic target for heart failure. *Current Heart Failure Reports*. 2014;11(1):58-63. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11897-013-0178-0>
14. Luo Y, Liu C, Guan T, et al. Association of ACE2 genetic polymorphisms with hypertension-related target organ damages in south Xinjiang. *Hypertension Research*. 2019;42(5):681-689. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41440-018-0166-6>
15. Norambuena-Soto I, Lopez-Crisosto C, Martinez-Bilbao J, et al. Angiotensin-(1-9) in hypertension. *Biochemical Pharmacology*. 2022;203:115183. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115183>
16. Benaroua C, Pucci F, Rooman M, et al. Alterations in the renin-angiotensin system during septic shock. *Annals of Intensive Care*. 2025;15(1):40. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13613-025-01166-7>
17. Jiang F, Yang J, Zhang Y, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin 1-7: novel therapeutic targets. *Nature Reviews Cardiology*. 2014;11(7):413-426. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2014.59>
18. Li Y. Lack of association of ACE2 G8790A gene mutation with essential hypertension in the Chinese population: a meta-analysis involving 5260 subjects. *Frontiers in Physiology*. 2012;3:364. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00364>
19. Liu J, Ji H, Zheng W, et al. Sex differences in renal angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) activity are 17 β -oestradiol-dependent and sex chromosome-independent. *Biology of Sex Differences*. 2010;1(1):6. DOI: <https://doi.org/10.1186/2042-6410-1-6>
20. Lu N, Yang Y, Wang Y, et al. ACE2 gene polymorphism and essential hypertension: an updated meta-analysis involving 11,051 subjects. *Molecular Biology Reports*. 2012;39:6581-6589. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1487-1>
21. Zhang X, Wang Y, Zheng Y, et al. Effect of ACE, ACE2 and CYP11B2 gene polymorphisms and noise on essential hypertension among steelworkers in China: a case-control study. *BMC Medical Genomics*. 2022;15:22. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12920->

022-01177-0

22. Wu Y, Li J, Wang C, et al. The ACE2 G8790A polymorphism: involvement in type 2 diabetes mellitus combined with cerebral stroke. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2016;31(2):e22033. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.22033>

23. Möhlendick B, Schönfelder K, Breuckmann K, et al. ACE2 polymorphism and susceptibility for SARS-CoV-2 infection and severity of COVID-19. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2021;31(8):165-171. DOI: <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000436>

24. Zhou JB, Yang JK. Meta-analysis of association of ACE2 G8790A polymorphism with Chinese Han essential hypertension. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2009;10(1):31-34. DOI: <https://doi.org/10.1177/1470320309103047>

25. Al-Makki A, DiPette D, Whelton PK, et al. Hypertension pharmacological treatment in adults: a World Health Organization guideline executive summary. *Hypertension*. 2022;79(1):293-301. DOI: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.181>

26. Heracle BioSoft. DNA Baser Sequence Assembler v3x [computer program]. Pitesti (Romania): Heracle BioSoft SRL; 2012. Available from: <http://www.dnabaser.com>

27. Sievers F, Higgins DG. Clustal omega. *Current Protocols in Bioinformatics*. 2014;48:3.13.1-3.13.16. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0313s48>

28. Khanam MA, Lindeboom W, Razzaque A, et al. Undiagnosed and uncontrolled hypertension among the adults in rural Bangladesh: findings from a community-based study. *Journal of Hypertension*. 2015;33(12):2399-2406. DOI: <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000712>

29. Ezzati M, Riboli E. Behavioral and dietary risk factors for noncommunicable diseases. *New England Journal of Medicine*. 2013;369(10):954-964. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1203528>

30. Roy PK, Khan MHR, Akter T, et al. Exploring socio-demographic-and geographical-variations in prevalence of diabetes and hypertension in Bangladesh: Bayesian spatial analysis of national health survey data. *Spatial and Spatio-temporal Epidemiology*. 2019;29:71-83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sste.2019.03.003>

31. Cabrera CP, Ng FL, Nicholls HL, et al. Over 1000 genetic loci influencing blood pressure

with multiple systems and tissues implicated. *Human Molecular Genetics*. 2019;28(R2):R151-161. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz197>

32. Aparicio HJ, Benjamin EJ, Callaway CW, et al. Heart disease and stroke statistics-2021 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2021;143(8):e254-e743. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000950>

33. Cutler JA, Sorlie PD, Wolz M, et al. Trends in hypertension prevalence, awareness, treatment, and control rates in United States adults between 1988–1994 and 1999–2004. *Hypertension*. 2008;52(5):818-827. DOI: <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.108.113357>

34. Islam MM, Hossain MS, Rahman MM, et al. Healthy lifestyle knowledge and age at hypertension diagnosis: a primary health care based survey in Bangladesh. *Journal of Human Hypertension*. 2025;39(6):448-456. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41371-025-01019-3>

35. Fan X, Wang Y, Wang H, et al. Polymorphisms of angiotensin-converting enzyme (ACE) and ACE2 are not associated with orthostatic blood pressure dysregulation in hypertensive patients. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2009;30(9):1237-1244. DOI: <https://doi.org/10.1038/aps.2009.110>

36. Yang W, Huang W, Su S, et al. Association study of ACE2 (angiotensin I-converting enzyme 2) gene polymorphisms with coronary heart disease and myocardial infarction in a Chinese Han population. *Clinical Science*. 2006;111(5):333-340. DOI: <https://doi.org/10.1042/cs20060020>

37. Charchar FJ, Bloomer LDS, Barnes TA, et al. Inheritance of coronary artery disease in men: an analysis of the role of the Y chromosome. *The Lancet*. 2012;379(9819):915-922. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61453-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61453-0)

38. Niu W, Qi Y, Hou S, et al. Correlation of angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphisms with stage 2 hypertension in Han Chinese. *Translational Research*. 2007;150(6):374-380. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2007.06.002>

39. Younas H, Ijaz T, Choudhry N. Investigation of angiotensin-1 converting enzyme 2 gene (G8790A) polymorphism in patients of type 2 diabetes mellitus with diabetic nephropathy in Pakistani population. *PloS ONE*. 2022;17(2):e0264038. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264038>

40. Yin M, Augustin B, Fu Z, et al. Geographic distributions in hypertension diagnosis, measurement, prevalence, awareness, treatment and control rates among middle-aged and older adults in China. *Scientific Reports*. 2016;6(1):37020. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep37020>

41. Rubies-Prat J, Ordóñez-Llanos J, Martin S, et al. Low-density lipoprotein particle size, triglyceride-rich lipoproteins, and glucose tolerance in non-diabetic men with essential hypertension. *Clinical and Experimental Hypertension*. 2001;23(6):489-500. DOI: <https://doi.org/10.1081/ceh-100104240>

42. Coresh J, Wei GL, McQuillan G, et al. Prevalence of high blood pressure and elevated serum creatinine level in the United States: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). *Archives of Internal Medicine*. 2001;161(9):1207-1216. DOI: <https://doi.org/10.1001/archinte.161.9.1207>

43. Kumar V, Sweta, Khurana T, et al. Essential hypertension is associated with higher prevalence of microalbuminuria: a cross-sectional study. *Annals of International Medical and Dental Research*. 2021;7(3):112-120.

44. Poudel B, Yadav BK, Nepal AK, et al. Prevalence and association of microalbuminuria in essential hypertensive patients. *North American Journal of Medical Sciences*. 2012;4(8):331-335. DOI: <https://doi.org/10.4103/1947-2714.99501>

Received 10 June 2025

Revised 11 October 2025

Accepted 18 October 2025

Information about the authors

Fahmida Khanam, MS, Research Fellow at the Department of Genetic Engineering and Biotechnology, Researcher at the Next-generation Sequencing, Research and Innovation Laboratory of Chittagong, Disease Biology and Molecular Epidemiology Research Group, Biotechnology Research and Innovation Centre, University of Chittagong, Chattogram, Bangladesh, E-mail: fahmida.lipson@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3793-2162>.

Abdus Sattar, Md. FCPS, Professor, Department of Medicine, Chittagong Medical College, Chattogram, Bangladesh, E-mail: dr.sattar_cox@yahoo.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5027-5270>.

Mahmud H. Arif, MBBS, Assistant Professor,

Department of Medicine, Chittagong Medical College, Chattogram, Bangladesh, E-mail: arif.mahmud@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0860-5149>.

Mirza N. Karim, MBBS, Assistant Professor, Department of Medicine, Chittagong Medical College, Chattogram, Bangladesh, E-mail: mirzanurulkarim@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7010-9525>.

Enshad E. Ullah, MBBS, Assistant Professor, Department of Medicine, Chittagong Medical College, Chattogram, Bangladesh, E-mail: enshadkramullah@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-4543-2313>.

Kallyan Chakma, MS, Research Fellow at the Department of Genetic Engineering and Biotechnology, Senior Researcher at the Next-generation Sequencing, Research and Innovation Laboratory of Chittagong, Disease Biology and Molecular Epidemiology Research Group, Biotechnology Research and Innovation Centre, University of Chittagong, Chattogram, Bangladesh, E-mail: kallyan679@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9870-4561>.

Md. Ashikur A. Akash, MS, Research Assistant at the Department of Genetic Engineering and Biotechnology, Researcher at the Next-generation Sequencing, Research and Innovation Laboratory of Chittagong, Disease Biology and Molecular Epidemiology Research Group, Biotechnology Research and Innovation Centre, University of Chittagong, Chattogram, Bangladesh, E-mail: akash.geb.cu@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2786-7450>.

Meheadi H. Rumi, MS, Research Fellow at the Department of Genetic Engineering and Biotechnology, Researcher at the Next-generation Sequencing, Research and Innovation Laboratory of Chittagong, Disease Biology and Molecular Epidemiology Research Group, Biotechnology Research and Innovation Centre, University of Chittagong, Chattogram, Bangladesh, E-mail: rumicu0@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7381-0774>.

Sajia Afrin, MS, Research Assistant at the Department of Genetic Engineering and Biotechnology, Researcher at the Next-generation Sequencing, Research and Innovation Laboratory of Chittagong, Disease Biology and Molecular Epidemiology Research Group, Biotechnology Research and Innovation Centre, University of Chittagong, Chattogram, Bangladesh, E-mail: afrinbinti12@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4274-9541>.

Afroza A. Tanni, MS, Lecturer at the Department of Genetic Engineering and Biotechnology, Senior Researcher at the Next-generation Sequencing, Research and Innovation Laboratory of Chittagong, Disease Biology and Molecular Epidemiology Research Group, Biotechnology Research and Innovation Centre, University of Chittagong, Chattogram, Bangladesh, E-mail: afrozatanni.geb@cu.ac.bd, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3126-1054>.

Adnan Mannan, PhD, Professor at the Department of Genetic Engineering and Biotechnology, Deputy Director of the Next-generation Sequencing, Research and Innovation Laboratory of Chittagong, Disease Biology and

Molecular Epidemiology Research Group, Biotechnology Research and Innovation Centre, University of Chittagong, Chattogram, Bangladesh, E-mail: adnan.mannan@cu.ac.bd, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4070-9586>.

S.M. Rafiqul Islam, PhD, Postdoc, Professor at the Department of Genetic Engineering and Biotechnology, Director of the Next-generation Sequencing, Research and Innovation Laboratory of Chittagong, Disease Biology and Molecular Epidemiology Research Group, Biotechnology Research and Innovation Centre, University of Chittagong, Chattogram, Bangladesh, E-mail: smrafiqulgeb@cu.ac.bd, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6901-4070>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-2

УДК 575:618.3

Полиморфные локусы гена *AQP1*, ассоциированные с развитием недостаточного роста плода

Е.В. Ижойкина^{1,2,3} , Е.А. Трифонова¹ , М.М. Гавриленко¹ ,
И.Г. Куценко² , В.А. Степанов¹ 

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»,

Набережная реки Ушайки, д. 10, г. Томск, 634050, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет»,

Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050, Российская Федерация

³ Областное государственное автономное учреждение здравоохранения

«Областной перинатальный центр имени И.Д. Евтушенко»,

ул. Ивана Черных, д. 96/1, г. Томск, 634063, Российская Федерация

Автор для переписки: Е.В. Ижойкина (katushkabig@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Исследование причин недостаточного роста плода остается одним из приоритетных направлений в современном акушерстве. При отсутствии у матери общепризнанных факторов риска, генетические детерминанты нарушения антенатального развития приобретают особую значимость как современный и перспективный вектор в диагностике и понимании патогенеза данной патологии. **Цель исследования:** Изучить ассоциации полиморфных маркеров гена *AQP1* с клиническими формами недостаточного роста плода. **Материалы и методы:** Исследование проведено на выборке из 147 пациенток, беременность которых осложнилась развитием недостаточного роста плода, которые были подразделены на две подгруппы: Ia подгруппа включала пациенток с антенатально диагностированной задержкой роста плода (ЗРП) (n=80); к Ib подгруппе отнесены пациентки, беременность которых осложнилась формированием маловесного для гестационного возраста плода (МГВ) (n=67). Контрольную группу составили 150 женщин, беременность которых закончилась рождением ребенка с нормальными росто-весовыми показателями. Всем участникам исследования проведено генотипирование методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на платформе «Sequenom MassARRAY4». **Результаты:** Впервые обнаружена ассоциация rs10253374 и rs4723022 гена *AQP1* с развитием ЗРП. Установлено, что рисковыми для ЗРП являются генотипы CC rs10253374 (ОШ=2,210; p=0,015) и AA rs4723022 (ОШ=2,261; p=0,026). Генотипические комбинации оказались информативными для выделения как рискованных сочетаний генотипов (CC rs10253374 и AA rs4723022), так и обладающих протективными свойствами (TC rs10253374 и GA rs4723022) в отношении развития ЗРП. Значимых ассоциаций между полиморфными маркерами гена *AQP1* и МГВ выявлено не было. При анализе ассоциаций изучаемых полиморфных локусов гена *AQP1* с клинико-лабораторными данными выявлено следующее: в контрольной группе при проведении комбинированного пренатального скрининга первого триместра, локус rs4723022

ассоциирован с значением риска задержки роста плода, рассчитанным в программном обеспечении Astraia. Наибольшее значение риска (637) отмечено для носительниц генотипа GA. В основной группе пациенток, у которых предыдущая беременность была осложнена недостаточным ростом плода, генотип AA встречался в 100% случаев. **Заключение:** Полученные данные позволяют предположить, что исследуемые полиморфные локусы гена AQP1 могут играть определенную роль в возникновении ЗРП. Требуется проведение новых исследований с расширенной выборкой для репликации полученных данных и применение передовых методов функциональной геномики для определения роли гена AQP1 в этиопатогенезе ЗРП.

Ключевые слова: задержка роста плода; малый для гестационного возраста плод; полиморфные маркеры; ген AQP1

Для цитирования: Ижойкина ЕВ, Трифонова ЕА, Гавриленко ММ, и др. Полиморфные локусы гена AQP1, ассоциированные с развитием недостаточного роста плода. Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(3):377-392. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-2

Polymorphisms of the aquaporin-1 gene associated with the fetal growth retardation development

Ekaterina V. Izhoykina^{1,2,3} , Ekaterina A. Trifonova¹ ,
Maria M. Gavrilenko¹ , Irina G. Kutsenko¹ , Vadim A. Stepanov¹ 

¹ Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
10 Ushayka River Emb., Tomsk, 634050, Russia

² Siberian State Medical University,
2 Moskovsky Trakt, Tomsk, 634050, Russia

³ Yevtushenko Regional Perinatal Center,
96/1 Ivan Chernykh St., Tomsk, 634063, Russia

Corresponding author: Ekaterina V. Izhoykina (katushkabig@mail.ru)

Abstract

Background: The study of the insufficient fetal growth causes remains one of the priorities in modern obstetrics. In the absence of widely recognised maternal risk factors, genetic determinants of antenatal developmental disorders are particularly important in providing a modern, promising approach to diagnosing and understanding the pathogenesis of the pathology. **The aim of the study:** To study the associations between different polymorphisms of the AQP1 gene and the clinical manifestations of foetal growth restriction (FGR). **Materials and methods:** The study included 147 pregnant women whose pregnancies were complicated by insufficient fetal growth. They were divided into two subgroups: subgroup Ia comprised patients with antenatally diagnosed fetal growth restriction (n=80), and subgroup Ib included patients whose pregnancies resulted in the development of a small-for-gestational-age (SGA) fetus (n=67). The control group consisted of 150 women whose pregnancies culminated in the birth of infants with normal anthropometric parameters. All participants underwent genotyping using MALDI-TOF mass spectrometry on the Sequenom MassARRAY4 platform. **Results:** For the first time, an association of rs10253374 and rs4723022 of the AQP1 gene with the development of FGR was identified. The CC genotype of rs10253374 was found to confer an

increased risk (OR=2,210; $p = 0.015$), while the AA genotype of rs4723022 was also associated with an elevated risk (OR=2,261; $p = 0.026$). Genotypic combinations turned out to be informative for identifying both risky combinations of genotypes (CC rs10253374 and AA rs4723022) and those with protective properties (TC rs10253374 and GA rs4723022) in relation to the FGR development. No significant associations were found between polymorphic markers of the *AQP1* gene and SGA. The association analysis of the studied *AQP1* gene polymorphic loci with clinical and laboratory data revealed the following: in the control group, during combined first-trimester prenatal screening, the rs4723022 locus was associated with the fetal growth retardation risk value calculated in the Astraia software. The highest risk value (637) was observed for carriers of the GA genotype. In the main group of patients whose previous pregnancy was complicated by insufficient fetal growth, the AA genotype was found in 100% of cases. **Conclusion:** The obtained data suggest that the investigated polymorphisms of *AQP1* gene may play a certain role in the FGR development. Further studies with larger cohorts are needed to replicate these results, along with the application of advanced functional genomics approaches to elucidate the role of *AQP1* in the etiopathogenesis of FGR.

Keywords: fetal growth restriction; small for gestational age; gene polymorphism; *AQP1* gene

For citation: Izhoikina EV, Trifonova EA, Gavrilenko MM, et al. Polymorphisms of the aquaporin-1 gene associated with the fetal growth retardation development. Research Results in Biomedicine. 2026;12(3):377-392. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-2

Введение. Недостаточный рост плода (НРП) представляет собой осложненное течение беременности, при котором показатели физического развития плода не достигают установленных норм, соответствующих сроку гестации. Данное состояние определяется посредством ультразвукового обследования. В соответствии с актуальными клиническими рекомендациями 2025 года, выделяют две клинические вариации НРП. К ним относятся задержка роста плода (ЗРП) и малый/маловесный для гестационного возраста плод (МГВ). Эти формы отличаются разными показателями отставания физических параметров плода, а также наличием или отсутствием нарушений кровотока, определяемых с помощью ультразвуковой доплерографии [1, 2]. Известно, что данная патология осложняет течение беременности в 10-25% случаев, определяя порой показания для досрочного родоразрешения, что усугубляет долгосрочные неблагоприятные последствия для здоровья ребенка, увеличивая долю хронических заболеваний в зрелом возрасте [3, 4, 5].

НРП относится к многофакторным заболеваниям. Его развитие связывают с воздействием материнских, плацентарных, фетальных или генетических факторов

[2, 6, 7]. При рассмотрении генетических факторов, приводящих к развитию НРП, выделяют наличие хромосомных аномалий (анеуплоидии, структурные аномалии хромосом); моногенных заболеваний; эпигенетических изменений [7, 8]. Так, известно, что трисомии по 13, 17, 18 хромосомам, помимо множественных врожденных пороков развития, зачастую сопровождаются ЗРП [9, 10]. Примерами структурных аномалий, которые могут приводить к НРП служит синдром кошачьего крика (делеция короткого плеча 5 хромосомы) и синдром Уильямса-Беремена (гетерозиготная делеция в районе хромосомы 7q11.23) [11, 12]. К развитию ранней (до 32 недели беременности) и тяжелой (предполагаемая масса плода менее 3-го перцентилля) ЗРП могут приводить моногенные заболевания, наиболее частыми из которых являются синдром Сильвера-Рассела, синдром Нунан, ахондроплазия, синдром Мейера-Горлина [8].

Особый интерес вызывает изучение недостаточного роста у плода с нормальным каритотипом. Известно, что значимым фактором аномального роста и развития плода может являться изменение экспрессии генов в плаценте [6]. Количество работ, изучающих генетические аспекты плацентарной недостаточности при НРП не

так обширно, и в основном они затрагивают изучение полиморфных маркеров генов фолатного цикла, провоспалительных цитокинов, факторов коагуляции, матриксных металлопротеиназ [13-16].

Важную роль в нормальном течении беременности, росте плода и поддержании гомеостаза амниотической жидкости играют аквапорины (AQP) – интегральные протеины, формирующие водные каналы, избирательно пропускающие молекулы воды [17, 18]. AQP представляют собой повсеместно присутствующие белки в тканях организма, и их наличие в плаценте не является исключением: в ней экспрессируется семь различных подтипов AQP (1, 3, 4, 5, 8, 9 и 11), которые критически важны для нормального течения беременности, регуляции объема амниотической жидкости и адекватного развития плода [18, 19]. В настоящее время научные изыскания, посвященные роли AQP в развитии осложнений беременности, акцентируют внимание на их корреляции с изменениями объема амниотической жидкости. Будучи трансмембранными белками, AQP выполняют фундаментальную функцию в перемещении воды через эпителиальные клетки, выстилающие амниотическую полость. Изменения в уровнях экспрессии этих белков, а также их активность, могут влиять на секрецию и реабсорбцию амниотической жидкости, приводя к развитию многоводия или маловодия – состояний, ассоциированных с повышенным риском перинатальных осложнений [20, 21].

Работы, фокусирующиеся на роли аквапоринов при плацентарной недостаточности, пока немногочисленны, но уже демонстрируют их потенциальное значение. Так, к примеру, изменения в экспрессии *AQP1* и *AQP4* показали ассоциацию с такими осложнениями беременности, как преэклампсия и гестационный диабет [22, 23]. Эти состояния, как известно, могут также приводить к нарушению роста плода. Следовательно, можно предположить, что аналогичные молекулярные механизмы лежат в основе

развития НРП, связанного с дисфункцией плацентарного транспорта воды.

Таким образом, представляет актуальность детальное изучение генетических детерминант различных типов аквапоринов, которые могут влиять на его экспрессию в плаценте у беременных с НРП, что позволит не только пролить свет на конкретные молекулярные пути, вовлеченные в развитие рассматриваемого осложнения беременности, но и стать основой для разработки новых диагностических маркеров и терапевтических стратегий в будущем, способствуя разработке персонализированного подхода к ведению беременности.

Цель исследования. Поиск ассоциаций полиморфных маркеров гена *AQP1* с клиническими формами недостаточного роста плода.

Материалы и методы исследования. В настоящем исследовании было проанализировано 297 образцов ДНК от пациенток с одноплодной беременностью, наступившей в естественном цикле и завершившаяся рождением живого ребенка на сроке 24 недели и более. Сбор биологического материала осуществлялся на базе ОГАУЗ «Областной перинатальный центр им. И.Д. Евтушенко» в городе Томске. Участницы исследования были дифференцированы на две когорты. Пациентки, беременность которых была осложнена развитием недостаточного роста плода, составили основную группу (I). Данная группа была подразделена на две подгруппы. В подгруппу Ia были включены пациентки с антенатально выявленной задержкой роста плода (ЗРП) (n=80). Подгруппа Ib охватила пациенток, у которых беременность осложнилась развитием маловесного для гестационного возраста плода (МГВ) (n=67). Критерии диагностики ЗРП и МГВ соответствовали текущему клиническому протоколу [1, 24]. В контрольную (II) группу вошли пациентки, беременность которых завершилась рождением здорового доношенного новорожденного с нормальными ростовесовыми показателями (n=150).

В контрольную (II) группу были включены женщины, чьи беременности закончились рождением доношенных новорожденных с нормальными антропометрическими показателями (n=150). Для определения соответствия параметров массы и роста новорожденных гестационной норме в постнатальном периоде использовались центильные таблицы INTERGROWTH-21. Этот подход был применен для подтверждения диагнозов ЗРП и МГВ, установленных во время беременности. Кроме того, данный метод позволил верифицировать нормальные показатели роста и веса у младенцев, включенных в контрольную группу [25].

Критерии включения и исключения из исследования были идентичны тем, что применялись нами в предыдущей работе [24]

В выборки основной и контрольной групп включались женщины русской национальности, проживающие на территории Томской области и не состоящие в родстве между собой.

У всех женщин предварительно было получено информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом СибГМУ (№9330 от 30.01.2023 г).

Характеристика пациентов

Группы исследования были сопоставимы по возрасту, ИМТ, социальному статусу и семейному положению.

При анализе акушерского анамнеза установлено, что изучаемые осложнения гестации достоверно чаще встречались в предыдущие беременности у групп пациенток ЗРП и МГВ, по сравнению с контролем ($p_{Ia-II} < 0,001$ и $p_{Ib-II} = 0,006$ соответственно). У 14,9% пациенток, относящихся к группе МГВ, в анамнезе были случаи преждевременных родов, что статистически значимо отличается от данных в группе контроля ($p = 0,011$). При этом, в частоте встречаемости преэклампсии в анамнезе у женщин обеих групп существенных различий не обнаружено (табл. 1).

Таблица 1

Краткая характеристика обследуемых групп

Table 1

Brief description of the survey groups

Показатели	Подгруппа Ia, ЗРП (n=80)	Подгруппа Ib, МГВ (n=67)	Контрольная группа (n=150)	p-значение
Возраст матери, полных лет, Me (Q1; Q3).	30 (24; 34)	31 (25; 35)	30 (26; 34)	$p_{Ia-II} = 0,666^*$ $p_{Ib-II} = 0,748^*$
ИМТ, кг/м ² , Me (Q1; Q3).	21,6 (19; 25,2)	22,4 (19,7; 26,4)	22,6 (20,8; 25,9)	$p_{Ia-II} = 0,078^*$ $p_{Ib-II} = 0,415^*$
Вес новорожденного, гр., Me (Q1; Q3).	2245 (1937; 2390)	2680 (2540; 2750)	3350 (3067; 3650)	$p_{Ia-II} < 0,001^*$ $p_{Ib-II} < 0,001^*$
Акушерский анамнез, абс. (%)				
НРП в анамнезе	16 (20)	9 (13,4)	4 (2,7)	$p_{Ia-II} < 0,001^{**}$ $p_{Ib-II} = 0,006^{**}$
Преждевременные роды	6 (7,5)	10 (14,9)	6 (4)	$p_{Ia-II} = 0,410^x$ $p_{Ib-II} = 0,011^x$
Преэклампсия	0 (0)	4 (5,9)	1 (0,7)	$p_{Ia-II} = 0,749^x$ $p_{Ib-II} = 0,056^x$

Примечание: Me (Q1;Q3) – значения медиан, 25-го и 75-го перцентилей; p_{Ia-II} – уровень статистической значимости различий между подгруппой ЗРП и контролем; p_{Ib-II} – уровень статистической значимости различий между подгруппой МГВ и контролем; ИМТ – индекс массы тела. НРП – недостаточный рост плода. * – тест Манна-Уитни, ** – точный критерий Фишера, ^x – критерия χ^2 с поправкой Йейтса. Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые отличия ($p < 0,05$).

Note: Me (Q1;Q3) – the values of the median, the 25th and 75th percentiles; p_{Ia-II} – the level of statistical significance of the differences between the FGR subgroup and the control; p_{Ib-II} – the level of statistical significance of the differences between the SGA subgroup and the control; BMI – body mass index. IFG – insufficient fetal growth. * – the Mann-Whitney U test, ** – the Fisher's exact test, and ^x – the χ^2 test with Yates' correction. Statistically significant differences are highlighted in bold ($p < 0.05$).

Молекулярно-генетические методы

Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 8-9 мл, взятая из локтевой вены. ДНК экстрагировали из цельной венозной крови стандартным методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование осуществляли методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на платформе «Sequenom MassARRAY4». Экспериментальные исследования были выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием ЦКП «Медицинская

геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Полиморфные маркеры были выбраны с помощью базы данных RegulomeDB [26]. В исследование включены полиморфные маркеры, для которых *in silico* был обнаружен коэффициент регуляторного потенциала равный 1 в отношении экспрессии гена *AQP1*, а также была получена возможность мультиплексного генотипирования методом масс-спектрометрии. В таблице 2 представлена характеристика полиморфных маркеров гена *AQP1*, включенных в анализ ассоциаций с НРП.

Таблица 2

Краткая характеристика полиморфных маркеров гена *AQP1*, включенных в анализ

Table 2

Brief characteristics of the polymorphic markers of the *AQP1* gene included in the analysis

Полиморфный маркер	Локализация в гене	Локализация в хромосоме	Аллели	Предковый аллель
rs10253374	интрон	chr7:30913434	C/T	T
rs4723022	межгенный регион	chr7:30904850	G/A	G

Согласно аннотации с использованием базы данных FAVOR, вариант rs10253374 характеризуется высоким уровнем эпигенетической активности (aPC = 17,9; топ 2%), что свидетельствует о его расположении в области активного хроматина, потенциально соответствующей энхансеру или промотору [27]. Кроме того, показатель активности транскрипционных факторов (aPC = 13,1; топ 5%) указывает на возможное участие данного варианта в регуляции связывания транскрипционных факторов. Высокое значение показателя aPC для микроРНК (99,5; топ 0,1%) может свидетельствовать о потенциальном влиянии на сайты взаимодействия с микроРНК, несмотря на интронную локализацию варианта. Полиморфизм rs4723022 также демонстрирует признаки регуляторной активности: показатель aPC для транскрипционных факторов составляет 10,0 (топ 10%), что указывает на его возможную локализацию в регуляторных участках ДНК. Аналогично rs10253374, данный вариант характеризуется высоким значением aPC для микроРНК (99,5), что предполагает

потенциальное участие в посттранскрипционной регуляции. Анализ тканеспецифической активности показывает, что rs10253374 ассоциирован с эпигенетическими сигналами в клетках иммунной системы, головного мозга, лёгких (максимальный сигнал 5,5), а также нервной и соединительной тканей. В свою очередь, rs4723022 демонстрирует активность в иммунной системе, головном мозге, лёгких и мышечной ткани.

Согласно классификации RegulomeDB маркер rs10253374 обладает выраженным регуляторным потенциалом, так как полиморфизму присвоен ранг 1b (eQTL/caQTL + связывание транскрипционных факторов (TF) + любой мотив + след ДНКазы + пик ДНКазы) [27]. Данный вариант локализован в области сайта связывания с фактором транскрипции POLR2A (субъединица RPB1 ДНК-управляемой РНК-полимеразы II), являющейся ключевым элементом транскрипционного комплекса, обеспечивающим синтез мРНК и регуляцию экспрессии генов, участвующих в клеточном росте и дифференцировке. Данный вариант

упоминается только в одном исследовании, где продемонстрирована возможная связь с ультрафильтрацией и транспортировкой мочевины у детей с перитонеальным диализом [28]

Маркер rs4723022 характеризуется ещё более высоким регуляторным потенциалом 1a (eQTL/caQTL + связывание транскрипционных факторов (TF) + соответствующий мотив TF + соответствующий след ДНКазы + пик ДНКазы) и локализован в области связывания транскрипционного фактора KLF1 (Kruppel-подобный фактор 1), являющимся главным регулятором образования эритроцитов и отвечающим за переключение синтеза гемоглобина с фетального на взрослый. Литературных данных, связанных с анализом этого SNP не обнаружено.

Дополнительно показано, что оба варианта ассоциированы с регуляцией длиной некодирующей РНК CARS1-DT (данные GTEx), что указывает на их возможное участие в регуляторных сетях экспрессии генов [29].

По данным базы RegulationSpotter, для rs4723022 выявлены слабые, но тканеспецифические эпигенетические сигналы, включая метки H3K4me1 и участки открытого хроматина, преимущественно в иммунных клетках и фетальных тканях (мышцы, кишечник). Особый интерес представляет наличие сигнала в клетках трофобласта (H1-trophoblast), что указывает на потенциальную функциональную активность данного варианта в плаценте [30].

Оба варианта являются распространёнными в популяциях, при этом данные о их клинической патогенности в настоящее время отсутствуют.

Таким образом, полиморфные варианты rs10253374 и rs4723022 гена *AQP1* представляют собой некодирующие регуляторные SNP с высоким функциональным потенциалом. Совокупность данных (FAVOR, RegulomeDB, GTEx, RegulationSpotter) указывает на их участие в регуляции экспрессии генов на различных уровнях – от

изменения доступности хроматина и связывания транскрипционных факторов до возможного влияния на посттранскрипционные механизмы через микроРНК и длинные некодирующие РНК.

Статистический анализ

Для оценки нормальности распределения количественных данных применялся критерий Колмогорова-Смирнова. Поскольку в данном исследовании распределение не соответствовало нормальному, количественные показатели были представлены в виде медианы и интерквартильного интервала (Me (Q1; Q3)). Для определения различий между группами использовался непараметрический статистический метод – тест Манна-Уитни. Статистическая значимость различий устанавливалась при $p < 0,05$.

Для анализа соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому, рассчитанному по принципу равновесия Харди-Вайнберга, использовался критерий χ^2 Пирсона. Сравнение частот аллелей и генотипов в различных группах проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. В ситуациях, когда ожидаемое количество наблюдений в любой ячейке таблицы сопряженности было менее 5, применялся двусторонний точный тест Фишера. Для исследования связи полиморфных маркеров с ЗРП и МГВ рассчитывалось отношение шансов (ОШ) с указанием его 95%-ного доверительного интервала (95% ДИ).

Статистический анализ производился при использовании статистических пакетов Excel, SPSS Statistics 26.

Результаты исследования. Анализ распределения генотипов по изучаемым полиморфным локусам rs10253374, rs4723022 гена *AQP1* показал, что для всех локусов в исследуемых группах эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

В ходе анализа распределения изучаемых полиморфных вариантов гена *AQP1* у беременных группы недостаточного роста плода и контроля были

выявлены значимые различия только для варианта rs4723022 (табл. 3). Наблюдается тенденция к повышению частоты аллеля С

rs10253374 в группе НРП, однако это различие не было статистически значимо ($p=0,05$)

Таблица 3

Распределение частот генотипов и аллелей, изученных полиморфных маркеров гена AQP1 в основной и контрольной группах

Table 3

Distribution of genotype and allele frequencies of the studied polymorphic markers of the AQP1 gene in the main and control groups

Локусы	Генотип, аллель	НРП (n=147) абс. (%)	Контроль (n=150) абс. (%)	Значения критерия χ^2 (уровень значимости)
rs10253374	ТТ	13 (10)	19 (13,2)	4,610 (0,1)
	ТС	37 (28,5)	55 (38,2)	
	СС	80 (61,5)	70 (48,6)	
	Аллель Т	63 (24,2)	93 (32,3)	3,973 (0,05)
	Аллель С	197 (75,8)	195 (67,7)	
rs4723022	GG	1 (0,8)	6 (4,2)	7,433 (0,025)
	GA	29 (22)	46 (31,9)	
	AA	102 (77,2)	92 (63,9)	
	Аллель G	31 (11,7)	58 (20,1)	6,573 (0,011)
	Аллель A	233 (88,3)	230 (79,9)	

Примечание: Полужирным шрифтом выделены статистически значимые отличия ($p<0,05$).

Note: Statistically significant differences are highlighted in bold ($p<0.05$).

При детальном анализе распределения полиморфных маркеров rs10253374 и rs4723022 гена AQP1 в подгруппах Ia и Ib выявлена их ассоциация только с развитием ЗРП (табл. 4). У пациенток данной подгруппы показано, что для rs10253374 гена AQP1 рисковым является генотип СС (ОШ=2,210; 95% ДИ 1,208-4,044; $p=0,015$), рисковым выступает

аллель С ($\chi^2=6,444$; $p=0,012$). Для rs4723022 гена AQP1 рисковым для ЗРП является генотип AA (ОШ=2,261; 95% ДИ 1,149-4,450; $p=0,026$), рисковым выступает аллель A ($\chi^2=6,215$; $p=0,013$). Из изученных полиморфных маркеров гена AQP1 не выявлено ни одного аллельного варианта, ассоциированного с развитием маловесного для гестационного возраста плода.

Таблица 4

Распределение частот генотипов и аллелей изученных полиморфных вариантов в подгруппах недостаточного роста плода

Table 4

Distribution of genotype and allele frequencies of the studied polymorphic variants in subgroups of insufficient fetal growth

Локусы	Генотип, аллель	ЗРП (n=80) абс. (%)	Контроль (n=150) абс. (%)	χ^2 (p)	МГВ (n=67), абс. (%)	Контроль (n=150) абс. (%)	χ^2 (p)
rs10253374	ТТ	5 (7,4)	19 (13,2)	1,042 ^x (0,308)	8 (12,9)	19 (13,2)	0,028 ^x (0,867)
	ТС	17 (25)	55 (38,2)	3,021 ^x (0,083)	20 (32,3)	55 (38,2)	0,428 ^x (0,513)
	СС	46 (67,6)	70 (48,6)	6,009 ^x (0,015)	34 (54,8)	70 (48,6)	0,446 ^x (0,505)
	С	109 (80,1)	195 (67,7)	6,444 ^x (0,012)	88 (70,9)	195 (67,7)	0,042 ^x (0,838)
rs4723022	GG	0 (0)	6 (4,2)		1 (1,6)	6 (4,2)	0,86 ^{**} (0,677)
	GA	14 (20)	46 (31,9)	2,765 ^x (0,097)	15 (24,2)	46 (31,9)	0,905 ^x (0,342)
	AA	56 (80)	92 (63,9)	5,002 ^x (0,026)	46 (74,2)	92 (63,9)	1,641 ^x (0,201)
	A	126 (90)	230 (79,9)	6,215 ^x (0,013)	107 (86,3)	230 (79,9)	1,994 ^x (0,158)

Примечание: ** – точный критерий Фишера; ^x – критерия χ^2 с поправкой Йейтса; p – уровень значимости. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые отличия ($p<0,05$) относительно контрольной группы.
Note: ** – the Fisher's exact test; ^x – the χ^2 test with Yates' correction; p – significance level. Statistically significant differences are highlighted in bold ($p<0.05$).

Представляет интерес: не возрастает ли у пациенток вероятность развития ЗРП при сочетании двух рисковых генотипов полиморфных локусов rs10253374 и rs4723022 гена *AQP1*? Проведенный нами анализ выявил, что как изолированное наличие рисковых генотипов CC rs10253374 и AA rs4723022, так и их комбинация у пациенток сопряжены с

равным риском развития ЗРП, не демонстрируя синергетического эффекта (ОШ=2,425; 95%ДИ 1,335-4,404; p= 0,006). Генотипические комбинации оказались информативными и для выделения сочетаний генотипов, обладающих протективными свойствами в отношении развития ЗРП: для TC rs10253374 и GA rs4723022 ОШ=0,368, p= 0,048 (табл. 5).

Таблица 5

Распределение сочетания генотипов

Table 5

Distribution of genotype combinations

Сочетания генотипов	ЗРП (n=80) абс. (%)	Контроль (n=150) абс. (%)	χ^2 (p)	ОШ (95% ДИ)
TT+ GG	0	3 (2,0)	0,36 ^x (1)	0
TT+ GA	4 (5,9)	8 (5,6)	0,01** (1)	1,063 (0,309- 3,659)
TT+ AA	1 (1,5)	8 (5,6)	1,99** (0,277)	0,254 (0,031- 2,071)
TC+ GG	0	3 (2,0)	0,36 ^x (1)	0
TC+ GA	6 (8,8)	30 (20,8)	3,912^x (0,048)	0,368 (0,145- 0,932)
TC+ AA	11 (16,2)	22 (15,3)	0,001 ^x (0,973)	1,070 (0,486- 2,356)
CC+ GG	–	–	–	–
CC+ GA	2 (2,9)	8 (5,6)	0,77** (0,505)	0,515 (0,106-2,494)
CC+ AA	44 (64,7)	62 (43,1)	7,816^x (0,006)	2,425 (1,335- 4,404)

Примечание: ** – точный критерий Фишера; ^x - критерия χ^2 с поправкой Йейтса; p – уровень значимости; ОШ – отношение шансов; 95%ДИ – доверительный интервал. Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые отличия (p<0,05).

Note: ** – the Fisher's exact test; ^x – the χ^2 test with Yates' correction; p – significance level; OR – odds ratio; 95%CI – confidence interval. Statistically significant differences are highlighted (p<0.05).

Дополнительно, мы провели поиск ассоциаций полиморфных вариантов гена *AQP1* с диагностическими показателями программы Astraia (свободная β -субъединица хорионического гонадотропина человека, ассоциированный с беременностью плазменный белок А, пульсационный индекс в маточных артериях и среднее значение артериального давления), клиническими данными и лабораторными показателями первого триместра (уровень эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, тромбоцитов в общем анализе крови; значения аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, глюкозы, креатинина, общего белка, общего билирубина, мочевины в биохимическом анализе крови, значения общего фибриногена, международного нормализованного отношения,

активированного частичного тромбопластинового времени и протромбинового времени в свертывающей системе крови) беременных. Выявлена значимая ассоциация для rs4723022 у пациенток контрольной группы с риском ЗРП, рассчитанным в программе Astraia, при проведении комбинированного пренатального скрининга первого триместра (N = 9,815; p = 0,007). Обращает на себя внимание, что в контрольной группе медианные значения риска ЗРП в зависимости от генотипа *AQP1* распределились следующим образом: для генотипа GA медиана риска составила 637, для генотипа AA – 456, а для генотипа GG – 205. Исследование полиморфных вариантов гена *AQP1* в основной группе выявило статистически значимую ассоциацию rs4723022 с анамнезом пациенток, предыдущая беременность

которых была осложнена развитием НРП. Анализ показал, что у данных пациенток генотип АА встречался в 100% случаев

($\chi^2=8,192$, $p=0,017$) (табл. 6). С остальными лабораторными данными первого триместра ассоциаций не выявлено.

Таблица 6

Ассоциация полиморфных маркеров гена *AQP1* с клинико-лабораторными данными

Table 6

Association of polymorphic markers of the *AQP1* gene with clinical and laboratory data

SNP	Генотип	N	Me (Q ₁ ;Q ₃)	H (p)	Показатель	Группа
rs4723022	GA	41	637 (371; 1161)	9,815 (0,007)	Риск задержки роста плода, рассчитанный в программном обеспечении Astraia	Контроль
	AA	72	456 (279; 742)			
	GG	6	205 (89; 493)			
rs4723022	GA	0	–	8,192 (0,017)	Отягощенный анамнез пациентки по недостаточному росту плода	НРП
	AA	23	–			
	GG	0	–			

Примечание: N – количество человек; Me (Q₁;Q₃) – значение медианы, нижнего и верхнего квартилей; p – уровень статистической значимости; H – критерий Крускала-Уоллеса.

Note: N – number of people; Me (Q₁;Q₃) – the values of the median, the 25th and 75th percentiles; p – significance level; H – the Kruskal-Wallis test.

Обсуждение. Ген *AQP1* кодирует аквапорин-1 (AQP-1) – белок, принадлежащий к семейству водных каналов – аквапоринов, основная функция которых заключается в поддержании нормального объема амниотической жидкости во время беременности, путем регуляции транспорта воды через плазматическую мембрану клетки по осмотическому или гидростатическому градиентам [20]. Показано, что экспрессия *AQP1* во время беременности происходит в основном в эпителии амниона и цитотрофобластах хориона [18]. Важно отметить, что данный белок единственный из семейства аквапоринов экспрессия которого происходит в эндотелиальных клетках, что предполагает его участие в ангиогенезе в качестве проангиогенного фактора [18, 19]. Представляют интерес результаты исследований опухолевых клеток, показавшие взаимосвязь между повышенной экспрессии *AQP1* в клетках опухоли и усилением их пролиферативной и инвазивной активности, определяя неблагоприятный прогноз заболевания [17, 31, 32]. Учитывая представленную функциональную характеристику *AQP1*, можно предположить его вовлеченность этиопатогенез ЗРП на стадии формирования плаценты путем нарушения

процессов ангиогенеза с последующим неадекватным ремоделированием спиральных артерий, дисбаланса между клеточной пролиферацией и апоптозом, снижения инвазивной способности клеток [33, 34]. Данная гипотеза находит подтверждение в экспериментальном исследовании на мышинных моделях, которое показало ингибирующее влияние гена *AQP1* на развитие плаценты и плода у особей с нокаутом данного гена [35, 36].

При анализе оригинальных исследований мы не встретили работ, в которых рассматривается ассоциация гена *AQP1* с ЗРП. Большое количество работ посвящено изучению связи гена *AQP1* с объемом амниотической жидкости: так, Ding H. с соавторами установили значимую обратную корреляцию индекса амниотической жидкости и уровнем *AQP1* в плаценте у пациенток с преэклампсией [37]. Эти результаты согласуются с данными другой работы, показавшей снижение уровня *AQP1* в амниотической жидкости у пациенток с многоводием [21].

Можно предположить, что выявленные нами ассоциации полиморфных маркеров гена *AQP1* участвуют в предрасположенности к ЗРП через развитие плацентарной недостаточности. Не исключено влияние *AQP1* на изменение

экспрессии других аквапоринов как в плаценте, так и в плодных оболочках (AQP-8, AQP-9) [38]. Однако, данные предположения, несомненно, требуют подтверждения дальнейшими исследованиями с увеличением объема выборки и использованием методов функциональной геномики.

Таким образом, *AQP1* представляет собой перспективный объект для дальнейших исследований, углубленное изучение молекулярных механизмов которого позволит не только расширить функциональное значение *AQP1* в развитии недостаточного роста плода, но и разработать стратегии, направленные на модуляцию его активности для улучшения исходов беременности.

Заключение. Результаты проведенного исследования впервые демонстрируют значимую ассоциацию полиморфных маркеров rs10253374 и rs4723022 гена *AQP1* с развитием ЗРП: для rs10253374 рисковым является генотип CC, для rs4723022 рисковым выступает генотип AA, увеличивая шанс развития ЗРП в 2,210 и 2,261 соответственно. Анализ генотипических комбинаций позволил выявить не только рисковые сочетания генотипов (CC rs10253374 и AA rs4723022), но и генотипы обладающие протективными свойствами (TC rs10253374 и GA rs4723022). Не найдено ассоциаций полиморфных маркеров изучаемого гена с МГВ. В контрольной группе выявлена значимая ассоциация rs4723022 с риском ЗРП, рассчитанным в программе Astraia. Исследование полиморфных вариантов гена *AQP1* в основной группе выявило статистически значимую ассоциацию rs4723022 с анамнезом пациенток, у которых предыдущая беременность была осложнена развитием НРП. Полученные результаты могут свидетельствовать о возможной роли изучаемого гена в формировании ЗРП, которая может быть реализована посредством изменения уровня экспрессии данного гена в плацентарной ткани.

Информация о финансировании

Исследование выполнено за счет средств государственного задания по теме ФНИ № 122020200083-8.

Financial support

This study was supported by the state assignment (Fundamental Scientific Research No. 122020200083-8).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери (задержка роста плода): клинические рекомендации. Москва; 2025.
2. Fetal Growth Restriction: ACOG Practice Bulletin, Number 227. Obstetrics and Gynecology. 2021;137(2):e16-e28. DOI: <https://dx.doi.org/10.1097/AOG.00000000000004251>
3. 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>
4. Benítez MMJ, Blanco JA, Clavijo JM, et al. Neurodevelopment outcome in children with fetal growth restriction at six years of age: a retrospective cohort study. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2022;19(17):11043. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph191711043>
5. Гуменюк ЕГ, Ившин АА, Светова КС. Задержка роста плода как предиктор здоровья на протяжении будущей жизни. Акушерство и гинекология. 2024;3:5-12. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2023.277>
6. Nowakowska BA, Pankiewicz K, Nowacka U, et al. Genetic background of fetal growth restriction. International Journal of Molecular Sciences. 2021;23(1):36. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23010036>
7. Meler E, Sisterna S, Borrell A. Genetic syndromes associated with isolated fetal growth

restriction. *Prenatal Diagnosis*. 2020;40(4):432-446. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.5635>

8. Shi D, Cai L, Sun L. Genetics Etiologies Associated with fetal growth restriction. *Maternal-Fetal Medicine*. 2022;4(3):206-209. DOI: <https://doi.org/10.1097/FM9.0000000000000159>

9. Eggenhuizen GM, Go A, Koster MPH, et al. Confined placental mosaicism and the association with pregnancy outcome and fetal growth: a review of the literature. *Human Reproduction Update*. 2021;27(5):885-903. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmab009>

10. Li L, Zhang X, Shi Q, et al. Ultrasonographic findings and prenatal diagnosis of complete trisomy 17p syndrome: a case report and review of the literature. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2021;35(1):e23582. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.23582>

11. Traisrisilp K, Yanase Y, Ake-Sittipaisarn S, et al. Prenatal sonographic features of Cri-du-Chat syndrome: a case report and analytical literature review. *Diagnostics*. 2022;12(2):421. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics12020421>

12. Wang Y, Liu C, Hu R, et al. Prenatal phenotype features and genetic etiology of the Williams-Beuren syndrome and literature review. *Frontiers in Pediatrics*. 2023;11:1141665. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1141665>

13. 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: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-3>

14. Решетникова ЮН, Пономаренко ИВ, Чурносоев ВМ, и др. Полиморфизм rs1801394 гена *MTRR* ассоциирован с массой тела новорожденного у беременных с задержкой роста плода. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2024;18(1):46-54. DOI: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2024.466>

15. Reshetnikova Y, Churnosova M, Stepanov V, et al. Maternal age at menarche gene polymorphisms are associated with offspring birth weight. *Life*. 2023;13(7):1525. DOI: <https://doi.org/10.3390/life13071525>

16. Гасымова ШР, Тютюнник ВЛ, Кан НЕ, и др. Маркеры задержки роста плода на основании изучения полиморфизма регуляторных регионов генов. *Акушерство и*

гинекология. 2024;11:76-82. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2024.162>

17. Charlestin V, Fulkerson D, Matus CEA, et al. Aquaporins: new players in breast cancer progression and treatment response. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:988119. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.988119>

18. Martínez N, Damiano AE. Aquaporins in Fetal Development. In: Yang B, editor. *Aquaporins. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1398. Singapore: Springer; 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-19-7415-1_17

19. Hua Y, Ying X, Qian Y, et al. Physiological and pathological impact of AQP1 knockout in mice. *Bioscience Reports*. 2019;39(5):BSR20182303. DOI: <https://doi.org/10.1042/bsr20182303>

20. Обухова ЛЕ, Барсукова НИ, Кореновский ЮВ, и др. Аквапорины и их роль в регуляции водного гомеостаза плода. *Бюллетень медицинской науки*. 2020;3(19):43-53.

21. Guibourdenche J, Bonnet-Serrano F, Chaouch LY, et al. Amniotic aquaporins (AQP) in normal and pathological pregnancies: Interest in Polyhydramnios. *Reproductive Sciences*. 2021;28(10):2929-2938. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00677-1>

22. Zhang J, Jing S, Zhang H, et al. Low-dose aspirin prevents LPS-induced preeclampsia-like phenotype via AQP1 and the MAPK/ERK 1/2 pathway. *Placenta*. 2022;121:61-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2022.03.007>

23. Shao H, Gao S, Ying X, et al. Expression and regulation of aquaporins in pregnancy complications and reproductive dysfunctions. *DNA and Cell Biology*. 2021;40(1):116-125. DOI: <https://doi.org/10.1089/dna.2020.5983>

24. Ижойкина ЕВ, Трифонова ЕА, Гавриленко ММ, и др. Оценка роли биохимических и биофизических параметров комбинированного пренатального скрининга первого триместра в развитии недостаточного роста плода. *Бюллетень сибирской медицины*. 2025;24(3):34-41. DOI: <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-3-34-41>

25. Рюмина ИИ, Байбарина ЕН, Нароган МВ, и др. Использование международных стандартов роста для оценки физического развития новорожденных и недоношенных детей. *Неонатология: новости, мнения, обучение*. 2023;11(2):48-52. DOI:

<https://doi.org/10.33029/2308-2402-2023-11-2-48-52>

26. RegulomeDB [Электронный ресурс] [дата обращения: 01.02.2026]. URL: <https://www.regulomedb.org/regulome-search/>

27. FAVOR: Functional Annotation of Variants Online Resource [Электронный ресурс] [дата обращения 06.05.2026]. URL: <https://favor-beta.genohub.org/>

28. Yao J, Wang C, Fang X, et al. Correlation between polymorphisms of the aquaporin-1 gene and peritoneal function in children on chronic peritoneal dialysis. *Pediatric Nephrology*. 2026;41(1):193-202. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00467-025-06959-z>

29. GTEx Portal [Электронный ресурс] [дата обращения 06.05.2026]. URL: <https://gtexportal.org/home/>

30. RegulationSpotter [Электронный ресурс] [дата обращения 06.05.2026]. URL: <https://www.regulationspotter.org/>

31. Traberg-Nyborg L, Login FH, Edamana S, et al. Aquaporin-1 in breast cancer. *APMIS*. 2022;130(1):3-10. DOI: <https://doi.org/10.1111/apm.13192>

32. Moon CS, Moon D, Kang SK. Aquaporins in cancer biology. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:782829. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.782829>

33. Kosinska-Kaczynska K. Placental syndromes – a new paradigm in perinatology. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(12):7392 DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph19127392>

34. Reppetti J, Gornalusse G, Etcheverry T. Aquaporin-1 and aquaporin-4 in human placental angiogenesis: insights into the critical interaction with caveolin-1. *Placenta*. 2025;168:111-123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2025.06.008>

35. Zheng Z, Liu H, Beall M, et al. Role of aquaporin 1 in fetal fluid homeostasis. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2014;27(5):505-510. DOI: <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.820697>

36. Guo J, He H, Liu H, et al. Aquaporin-1, a New maternally expressed gene, regulates placental development in the mouse. *Biology of Reproduction*. 2016;95(2):40. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.138636>

37. Ding H, Ding Z, Zhao M, et al. Correlation of amniotic fluid index and placental aquaporin 1 levels in terms of preeclampsia.

Placenta. 2022;117:169-178. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.12.010>

38. Luo H, Liu Y, Song Y, et al. Aquaporin 1 affects pregnancy outcome and regulates aquaporin 8 and 9 expressions in the placenta. *Cell and Tissue Research*. 2020;381(3):543-554. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03221-w>

References

1. Fetal growth restriction requiring maternal medical care (fetal growth restriction): clinical guidelines. Moscow; 2025. Russian.

2. Fetal Growth Restriction: ACOG Practice Bulletin, Number 227. *Obstetrics and Gynecology*. 2021;137(2):e16-e28. DOI: <https://dx.doi.org/10.1097/AOG.00000000000004251>

3. 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>

4. Benítez MMJ, Blanco JA, Clavijo JM, et al. Neurodevelopment outcome in children with fetal growth restriction at six years of age: a retrospective cohort study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(17):11043. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph191711043>

5. Gumeniuk EG, Ivshin AA, Svetova KS. Fetal growth retardation as a predictor of health during the future life. *Obstetrics and Gynecology*. 2024;3:5-12. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2023.277>

6. Nowakowska BA, Pankiewicz K, Nowacka U, et al. Genetic background of fetal growth restriction. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;23(1):36. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23010036>

7. Meler E, Sisterna S, Borrell A. Genetic syndromes associated with isolated fetal growth restriction. *Prenatal Diagnosis*. 2020;40(4):432-446. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.5635>

8. Shi D, Cai L, Sun L. Genetics Etiologies Associated with fetal growth restriction. *Maternal-Fetal Medicine*. 2022;4(3):206-209. DOI: <https://doi.org/10.1097/FM9.0000000000000159>

9. Eggenhuizen GM, Go A, Koster MPH, et al. Confined placental mosaicism and the association with pregnancy outcome and fetal growth: a review of the literature. *Human*

Reproduction Update. 2021;27(5):885-903. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmab009>

10. Li L, Zhang X, Shi Q, et al. Ultrasonographic findings and prenatal diagnosis of complete trisomy 17p syndrome: a case report and review of the literature. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2021;35(1):e23582. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.23582>

11. Trairisilp K, Yanase Y, Ake-Sittipaisarn S, et al. Prenatal sonographic features of Cri-du-Chat syndrome: a case report and analytical literature review. *Diagnostics*. 2022;12(2):421. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics12020421>

12. Wang Y, Liu C, Hu R, et al. Prenatal phenotype features and genetic etiology of the Williams-Beuren syndrome and literature review. *Frontiers in Pediatrics*. 2023;11:1141665. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1141665>

13. 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: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-3>

14. Reshetnikova YuN, Ponomarenko IV, Churnosov VM, et al. MTRR gene rs1801394 polymorphism is associated with neonatal birth weight in pregnant women with fetal growth retardation. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2024;18(1):46-54. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2024.466>

15. Reshetnikova Y, Churnosova M, Stepanov V, et al. Maternal age at menarche gene polymorphisms are associated with offspring birth weight. *Life*. 2023;13(7):1525. DOI: <https://doi.org/10.3390/life13071525>

16. Gasymova ShR, Tyutyunnik VL, Kan NE, et al. Markers for fetal growth restriction based on the study of the polymorphism of gene regulatory regions. *Obstetrics and Gynecology*. 2024;11:76-82. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2024.162>

17. Charlestin V, Fulkerson D, Matus CEA, et al. Aquaporins: new players in breast cancer progression and treatment response. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:988119. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.988119>

18. Martínez N, Damiano AE. Aquaporins in Fetal Development. In: Yang B, editor. *Aquaporins. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1398. Singapore: Springer; 2023.

DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-19-7415-1_17

19. Hua Y, Ying X, Qian Y, et al. Physiological and pathological impact of AQP1 knockout in mice. *Bioscience Reports*. 2019;39(5):BSR20182303. DOI: <https://doi.org/10.1042/bsr20182303>

20. Obukhova LE, Barsukova NI, Korenovsky YV, et al. Aquaporins and their role in the regulation of fetal water homeostasis. *Bulletin of Medical Science*. 2020;3(19):43-53. Russian.

21. Guibourdenche J, Bonnet-Serrano F, Chaouch LY, et al. Amniotic aquaporins (AQP) in normal and pathological pregnancies: Interest in Polyhydramnios. *Reproductive Sciences*. 2021;28(10):2929-2938. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00677-1>

22. Zhang J, Jing S, Zhang H, et al. Low-dose aspirin prevents LPS-induced preeclampsia-like phenotype via AQP1 and the MAPK/ERK 1/2 pathway. *Placenta*. 2022;121:61-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2022.03.007>

23. Shao H, Gao S, Ying X, et al. Expression and regulation of aquaporins in pregnancy complications and reproductive dysfunctions. *DNA and Cell Biology*. 2021;40(1):116-125. DOI: <https://doi.org/10.1089/dna.2020.5983>

24. Izhoykina EV, Trifonova EA, Gavrilenko MM, et al. Evaluation of the role of biochemical and biophysical parameters of combined prenatal screening of the first trimester in the of insufficient fetal growth development. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2025;24(3):34-41. Russian. DOI: <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-3-34-41>

25. Ryumina II, Baibarina EN, Narogan MV, et al. The usage of the international growth standards to assess the physical development of newborn and premature children. *Neonatology: News, Opinions, Training*. 2023;11(2):48-52. Russian. DOI: <https://doi.org/10.33029/2308-2402-2023-11-2-48-52>

26. RegulomeDB [Internet] [cited 2026 Feb 01]. Available from: <https://www.regulomedb.org/regulome-search/>

27. FAVOR: Functional Annotation of Variants Online Resource [Internet] [cited 2026 May 06]. Available from: <https://favor-beta.genohub.org/>

28. Yao J, Wang C, Fang X, et al. Correlation between polymorphisms of the aquaporin-1 gene and peritoneal function in children on chronic peritoneal dialysis. *Pediatric*

- Nephrology. 2026;41(1):193-202. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00467-025-06959-z>
29. GTEx Portal [Internet] [cited 2026 May 06]. Available from: <https://gtexportal.org/home/>
30. RegulationSpotter [Internet] [cited 2026 May 06]. Available from: <https://www.regulationspotter.org/>
31. Traberg-Nyborg L, Login FH, Edamana S, et al. Aquaporin-1 in breast cancer. *APMIS*. 2022;130(1):3-10. DOI: <https://doi.org/10.1111/apm.13192>
32. Moon CS, Moon D, Kang SK. Aquaporins in cancer biology. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:782829. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.782829>
33. Kosinska-Kaczynska K. Placental syndromes – a new paradigm in perinatology. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(12):7392 DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph19127392>
34. Reppetti J, Gornalusse G, Etcheverry T. Aquaporin-1 and aquaporin-4 in human placental angiogenesis: insights into the critical interaction with caveolin-1. *Placenta*. 2025;168:111-123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2025.06.008>
35. Zheng Z, Liu H, Beall M, et al. Role of aquaporin 1 in fetal fluid homeostasis. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2014;27(5):505-510. DOI: <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.820697>
36. Guo J, He H, Liu H, et al. Aquaporin-1, a New maternally expressed gene, regulates placental development in the mouse. *Biology of Reproduction*. 2016;95(2):40. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.138636>
37. Ding H, Ding Z, Zhao M, et al. Correlation of amniotic fluid index and placental aquaporin 1 levels in terms of preeclampsia. *Placenta*. 2022;117:169-178. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.12.010>
38. Luo H, Liu Y, Song Y, et al. Aquaporin 1 affects pregnancy outcome and regulates aquaporin 8 and 9 expressions in the placenta. *Cell and Tissue Research*. 2020;381(3):543-554. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03221-w>

Статья поступила в редакцию 17 марта 2026 г.
Поступила после доработки 23 апреля 2026 г.
Принята к печати 7 мая 2026 г.

Received 17 March 2026
Revised 23 April 2026
Accepted 7 May 2026

Информация об авторах

Екатерина Владимировна Ижойкина, соискатель кафедры медицинской генетики ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; ассистент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет»; врач акушер-гинеколог ОГАУЗ «Областной перинатальный центр имени И.Д. Евтушенко», г. Томск, Российская Федерация, E-mail: katushkabig@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-9273-6371>.

Екатерина Александровна Трифонова, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник НИИ медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Российская Федерация, E-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1311-7403>.

Мария Михайловна Гавриленко, младший научный сотрудник НИИ медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Российская Федерация, E-mail: maria.gavrilenko@medgenetics.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9526-8581>.

Ирина Георгиевна Куценко, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск, Российская Федерация, E-mail: kutsenko.ig@ssmu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8495-8210>.

Вадим Анатольевич Степанов, академик РАН, доктор биологических наук, профессор, директор НИИ медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Российская Федерация, E-mail: vadim.stepanov@medgenetics.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5166-331X>.

Information about the authors

Ekaterina V. Izhoikina, Applicant at the Department of Medical Genetics Tomsk National Research Medical Center; Assistance Lecturer at the Department of Obstetrics and Gynecology, Siberian State Medical University; Obstetrician-Gynecologist, Yevtushenko Regional Perinatal Center, Tomsk, Russia, E-mail:

katushkabig@mail.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0009-0007-9273-6371>.

Ekaterina A. Trifonova, Cand. Sci. (Medicine),
Senior Researcher at the Research Institute of
Medical Genetics, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia, E-mail:
ekaterina.trifonova@medgenetics.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0003-1311-7403>.

Maria M. Gavrilenko, Junior Researcher at the
Research Institute of Medical Genetics, Tomsk
National Research Medical Center, Russian
Academy of Sciences, Tomsk, Russia, E-mail:
maria.gavrilenko@medgenetics.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-9526-8581>.

Irina G. Kutsenko, Doct. Sci. (Medicine),
Professor, Head of the Department of Obstetrics
and Gynecology, Siberian State Medical
University, Tomsk, Russia, E-mail:
kutsenko.ig@ssmu.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-8495-8210>.

Vadim A. Stepanov, Academician of the Russian
Academy of Sciences, Doct. Sci. (Biology),
Professor, Director of the Research Institute of
Medical Genetics, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia, E-mail:
vadim.stepanov@medgenetics.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-5166-331X>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-3

УДК 577.24

Роль генов глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной системы в выживаемости и достижении долголетия

В.В. Эрдман^{1,2} , И.А. Туктарова¹ , А.А. Петинцева¹ , Я.Р. Тимашева^{1,2} ,
Т.Р. Насибуллин¹

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

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет»,
ул. Ленина, д.3, г. Уфа, 450008, Российская Федерация
Автор для переписки: В.В. Эрдман (*danivera@mail.ru*)

Резюме

Актуальность: Долголетие человека характеризуется способностью поддерживать внутриклеточный гомеостаз в изменяющихся с возрастом условиях. Эффективность протекания многих редокс-зависимых эндогенных процессов зависит от структурно-функциональных особенностей генов, связанных с глутатионом. **Цель исследования:** Исследование роли полиморфных локусов генов глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной системы *GSR* (rs1002149), *GSTP1* (rs1695), *GPX1* (rs1050450), *GPX4* (rs713041) и *GPX8* (rs381852) в выживаемости и достижении долголетия при физиологическом и патологическом старении. **Материалы и методы:** Выборка из 3218 человек, русских, башкир и татар по этнической принадлежности, включала лиц среднего возраста (18-59 лет), старшего возраста (60-89 лет) и долгожителей (90-114 лет). Информация о статусе выживаемости и окончательном диагнозе получена для 1656 лиц в возрасте старше 45 лет. Полиморфные генетические маркеры проанализированы с использованием ТаqMan-ПЦР технологии. **Результаты:** Установлены генетические маркеры долголетия и выживаемости, включающие аллель *GPX4* (rs713041) Т (мужчины, OR=1,66, P=0,006; HR=0,81, P=0,02), генотип *GPX4* (rs713041) СТ (общая группа, OR=1,33, P=0,004; коморбидный статус, HR=0,6, P=0,02), а также сочетание аллелей *GPX1* (rs1050450) G и *GSTP1* (rs1695) A (женщины, русские по этнической принадлежности, OR=4,15, P_{FDR}=0,04; общая группа, HR=0,5, P=0,02). В этнической группе русских с долголетием среди женщин ассоциирован аллель *GPX8* (rs381852) А (OR=2,52, P=0,005); в гомозиготном и гетерозиготном варианте он встречался в девяти сочетаниях, способствующих долголетию (в комбинации с аллелями *GPX1* (rs1050450) G и *GSTP1* (rs1695) A показаны наиболее значимые статистические показатели – OR=4,07, P_{FDR}=0,006). Сочетание *GPX1* (rs1050450) GG, *GPX4* (rs713041) С и *GSR* (rs1002149) Т ассоциировано с долголетием башкир (OR=7,98, P_{FDR}=0,02). Генотип *GSR* (rs1002149) ТТ является маркером смертности от всех причин (HR=1,47, P=0,02). Со смертностью от цереброваскулярных заболеваний в преклонном возрасте связаны генотип *GPX1* (rs1050450) AG (HR=1,42, P=0,003) и сочетание аллелей *GPX1* (rs1050450) G и *GSTP1* (rs1695) A (HR=1,4, P=0,02). **Заключение:** В генах глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной системы

выявлены общие и этноспецифические генетические предикторы выживаемости в преклонном возрасте, смертности с учетом клинических данных и долголетия.

Ключевые слова: долголетие; старение; возраст-зависимые заболевания; глутатион-зависимые ферменты антиоксидантной системы; генетический полиморфизм; ген-генные взаимодействия; выживаемость

Для цитирования: Эрдман ВВ, Туктарова ИА, Петинцева АА, и др. Роль генов глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной системы в выживаемости и достижении долголетия. Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(3):393-413. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-3

Role of the genes of glutathione-related enzymes involved in the antioxidant defense in survival and longevity

Vera V. Erdman¹ , Ilsiya A. Tuktarova¹ , Anna A. Petintseva¹ ,
Yanina R. Timasheva^{1,2} , Timur R. Nasibullin¹ 

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

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

Corresponding author: Vera V. Erdman (danivera@mail.ru)

Abstract

Background: Human longevity is characterized by maintaining cellular homeostasis in the age-related changes of the internal conditions. The efficiency of many redox endogenous processes depends on the structural and functional features of glutathione-related genes. **The aim of the study:** To study the role of the polymorphic loci GSR (rs1002149), GSTP1 (rs1695), GPX1 (rs1050450), GPX4 (rs713041) and GPX8 (rs381852) of genes encoding glutathione-related enzymes in survival and longevity during physiological and pathological aging. **Materials and methods:** A sample of 3218 individuals, Russians, Bashkirs and Tatars by ethnicity, was divided into three age groups of middle-aged (18-59 years), aged (60-89 years) persons and long-livers (90-114 years). Information on survival status and diagnosis was obtained for 1656 individuals aged over 45 years. Polymorphic genetic markers were analyzed using TaqMan PCR technology. **Results:** The genetic markers of longevity and survival were established. They included the GPX4 (rs713041) T allele (in men, OR=1.66, P=0.006; HR=0.81, P=0.02), the GPX4 (rs713041) CT genotype (in the total group, OR=1.33, P=0.004; for multimorbidity, HR=0.6, P=0.02), and the combination of GPX1 (rs1050450) G and GSTP1 (rs1695) A alleles (in Russian women, OR=4.15, P_{FDR}=0.04; for the total group, HR=0.5, P=0.02). In Russians, the GPX8 (rs381852) A allele was associated with longevity among women (OR=2.52, P=0.005); in homozygous and heterozygous variants, it was found in nine longevity-promoting combinations, with the most statistical significance along with the GPX1 (rs1050450) G and GSTP1 (rs1695) A alleles (OR=4.07, P_{FDR}=0.006). In Bashkirs, the combination of GPX1 (rs1050450) GG, GPX4 (rs713041) C and GSR (rs1002149) T was related with longevity (OR=7.98, P_{FDR}=0.02). The GSR (rs1002149) TT genotype was linked to all-cause mortality (HR=1.47, P=0.02). The GPX1 (rs1050450) AG genotype (HR=1.42, P=0.003) and the GPX1 (rs1050450) G allele combined with the GSTP1 (rs1695) A allele (HR=1.4, P=0.02) predicted

cerebrovascular mortality in the advanced age. **Conclusion:** In the genes of glutathione-related enzymes involved in the antioxidant defense, the genetic predictors of the overall survival in the advanced age, clinical-related mortality, and longevity were identified in generally and separately for each studied ethnic groups.

Keywords: longevity; aging; age-related diseases; glutathione-related enzymes; antioxidant defense; genetic polymorphism; gene-gene interactions; survival

For citation: Erdman VV, Tuktarova IA, Petintseva AA, et al. Role of the genes of glutathione-related enzymes involved in the antioxidant defense in survival and longevity. Research Results in Biomedicine. 2026;12(3):393-413. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-3

Введение. Долголетие представляет собой уникальный феномен исключительной продолжительности жизни, значительно превышающей средний популяционный показатель. Важным условием успешного онтогенеза является высокая степень адаптации организма к стрессогенным факторам среды и сохранение постоянства внутренней среды организма [1]. Окислительно-восстановительные процессы выступают в качестве основных регуляторов внутриклеточного гомеостаза [2]. Ключевую роль в редокс-процессах играет глутатион (GSH) – трипептид, состоящий из цистеина, глицина и глутаминовой кислоты, который в высоких концентрациях обнаруживается практически во всех клетках организма [3]. Глутатион является мобильным донором свободных электронов и присутствует в клетке в двух формах – восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG). Именно соотношение GSH/GSSG определяет окислительно-восстановительный статус клетки. Высокая концентрация GSH способствует эффективному восстановлению аминокислотных остатков, при этом сам глутатион окисляется до GSSG. Взаимодействуя с кислородными радикалами, связывая ксенобиотики, стабилизируя клеточные мембраны, GSH является универсальным антиоксидантом [4].

Система метаболизма глутатиона как одна из важнейших регуляторных механизмов, обеспечивающих внутриклеточный гомеостаз и клеточное выживание, рассматривается в рамках

глутатионовой теории старения [5, 6]. Разнообразные внешние и поведенческие факторы, такие, как несбалансированная диета, воздействие ксенобиотиков, могут приводить к истощению глутатиона и дисбалансу его окисленной и восстановленной форм [7]. Более того, с возрастом снижается способность организма синтезировать глутатион [7]. Большинство возрастных хронических дегенеративных заболеваний связаны с низким уровнем глутатиона и ферментов, участвующих в его метаболизме [6, 8].

Ферментный глутатионовый комплекс антиоксидантной системы включает глутатионредуктазу (GSR), семейство глутатионпероксидаз (GPx) и глутатионтрансферазу (GST), представленную несколькими изоформами. Данные компоненты метаболизма глутатиона являются сенсорами и регуляторами внутриклеточного редокс-статуса [8-13]. Глутатионредуктаза (Glutathione S-Reductase, GSR) – перманентно активированный флавопротеин, восстанавливающий окисленный дисульфид глутатиона (GSSG) до сульфгидрильной формы GSH. Таким образом, GSR поддерживает концентрацию восстановленного глутатиона, и его активность повышается в условиях окислительного стресса [9]. Различные изоформы GPx восстанавливают перекиси водорода (H₂O₂), используя глутатион в качестве косубстрата. Тем самым GPx регулируют концентрацию данного промежуточного кислородного метаболита, который является не только окислителем, но и важной сигнальной

молекулой, участвующей во множестве клеточных процессов. Глутатионпероксидаза 1 (GPx1) является самой распространенной и наиболее активной в отношении восстановления гидроперекисей изоформой [10]. Глутатионпероксидаза 4 (GPx4) восстанавливает гидроперекиси сложных липидов, участвуя таким образом в поддержании целостности мембран и ферроптозе [11]. Глутатионпероксидаза 8 (GPx8) – трансмембранный белок эндоплазматического ретикулула, участвующий в окислительном фолдинге белков и регулировании концентрации ионов Ca⁺ [12]. Глутатион-S-трансферазы (GST) – крупнейшее суперсемейство ферментов второй фазы детоксикации. Данные белки обеспечивают связывание глутатиона с различными токсичными соединениями, нейтрализуя их электрофильные свойства и способствуя удалению из клетки [8]. Кроме того, S-глутатионилирование опосредует редокс-регуляцию активности каталитических белков, в частности, ингибируя, или, наоборот, активизируя связывание транскрипционных факторов с ДНК [13].

Изменение активности фермента и соответствующий эффект в отношении устойчивости или уязвимости к эндогенным и экзогенным факторам могут быть связаны с генетическим полиморфизмом в кодирующем гене. Так, для полиморфного локуса rs1002149 гена *GSR* была установлена ассоциация с уровнем активности фермента *GSR* и с выживаемостью среди супердолгожителей [14]. Полиморфизм rs1050450, приводящий к нарушению ферментативной активности гена *GPX1*, ассоциирован с развитием возраст-зависимых патологий сердечно-сосудистой системы, онкологических заболеваний [10]. Полиморфизм rs713041, расположенный в 3'-регуляторной области гена *GPX4*, модулирует степень связывания фермента с селеном и, соответственно, его экспрессию, и ассоциирован с риском развития заболеваний возраста [15]. Полиморфный вариант rs381852 гена *GPX8*

ассоциирован на уровне GWAS с раком яичников [16]. Показана ассоциация полиморфного варианта rs1695 в гене *GSTP1* с некоторыми видами рака, болезнями сердечно-сосудистой системы, органов дыхания [17, 18]. Таким образом, функциональные полиморфные варианты генов глутатионового обмена ассоциированы с болезнями возраста и могут быть вовлечены в формирование молекулярно-генетического фона для физиологической адаптации организма, способствующей выживаемости.

Цель исследования заключалась в изучении роли полиморфных локусов генов глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной системы *GSR* (rs1002149), *GSTP1* (rs1695), *GPX1* (rs1050450), *GPX4* (rs713041) и *GPX8* (rs381852) в выживаемости и достижении долголетия среди населения республики Башкортостан с учетом пола, этнической принадлежности и клинико-патологического диагноза.

Материалы и методы исследования. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом ИБГ УФИЦ РАН (Протокол № 1 от 4 ноября 2007 г.) и выполнено в соответствии с этическими принципами проведения медико-биологических исследований с участием человека в качестве субъекта, закрепленными в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association, 2013).

Общая выборка включала 3218 не родственных между собой мужчин и женщин в возрасте от 18 до 114 лет, русских, башкир и татар по этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан. После получения информированного добровольного согласия на участие в исследовании проводили анкетирование, включающее также данные анамнеза. Для лиц среднего возраста (18-59 лет) на момент забора биологического материала исключались инфаркт миокарда, инсульт, аутоиммунные расстройства, сахарный диабет и онкологические заболевания. Для участников старшего возраста (60-89 лет)

допускалось наличие в анамнезе атеросклероза. В группу долгожителей включали всех лиц старше 90 лет.

Получена информация о статусе выживаемости и окончательном диагнозе 1656 исследуемых лиц старше 45 лет. На основании верифицированных данных о доживаемости, полученных к концу 2024

года, вся выборка дифференцирована по возрасту (группы лиц среднего, старшего возраста и долгожителей) и по причинам смертности от различных патологий (на основании данных заключений о смерти). Общая выборка и выделенные группы сравнения охарактеризованы в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика исследуемой выборки

Table 1

The characteristics of the studied sample

	Русские	Татары	Башкиры	Общая группа
	n (%) средний возраст±SD			
Всего	682 (20,55) 60,37±26,42	2045 (61,63) 69,04±23,42	591 (17,81) 69,08±24,27	3318 (100) 67,27±24,46
Пол				
Мужчины	364 (53,38) 57,42±26,17	975 (47,68) 60,86±23,71	262 (44,33) 62,42±26,16	1601 (48,25) 60,34±24,74
Женщины	318 (46,63) 63,74±26,34	1070 (52,32) 76,51±20,48	329 (55,67) 74,4±21,22	1717 (51,75) 73,74±22,33
Возрастные группы				
Средний возраст	363 (53,23) 38,02±13,78	862 (42,15) 45,34±15,68	218 (36,89) 41,68±17,67	1443 (43,49) 42,95±15,85
Старческий возраст	208 (30,50) 82,06±4,84	743 (36,33) 81,58±5,16	269 (45,52) 81,66±4,92	1220 (36,77) 81,67±5,05
Долгожители	111 (16,28) 93,41±2,75	440 (21,52) 94,36±3,57	104 (17,60) 94,22±3,56	655 (19,74) 94,17±3,45
Статус выживаемости				
Живые	36 (13,00) 67,06±11,4	130 (12,09) 71,18±12,46	39 (12,83) 80,26±8,66	205 (12,38) 72,18±12,33
Умершие	241 (87,00) 86,11±8,4	945 (87,91) 86,05±9,38	265 (87,17) 85,45±8,06	1451 (87,62) 85,95±8,99
Причины смерти				
Старость	63 (22,26) 89,59±5,04	352 (32,93) 88,97±6,39	91 (32,27) 88,51±6,23	506 (30,97) 88,96±6,21
ССЗ	63 (22,26) 84,46±7,8	293 (27,41) 84,98±9,24	81 (28,72) 83,72±7,49	437 (26,74) 84,67±8,74
ЦВЗ	78 (27,56) 87,58±8,01	186 (17,40) 87,19±8,91	53 (18,79) 86,04±8,57	317 (19,4) 87,09±8,63
ХОБЛ	15 (5,3) 82,53±5,17	45 (4,21) 84,24±9,17	13 (4,61) 82,15±7,63	73 (4,47) 83,52±8,19
СД2Т	14 (4,95) 86,86±7,66	32 (2,99) 82,53±8,14	5 (1,77) 79,8±8,41	51 (3,12) 83,45±8,19
Онкология	18 (6,36) 79,44±11,97	54 (5,05) 78,67±12,12	20 (7,09) 78,65±11,5	92 (5,63) 78,82±11,83
Другие причины	9 (3,18) 78,22±13,02	43 (4,02) 77,16±14,98	8 (2,84) 85,17±7,25	60 (3,67) 78,4±14,01
Полиморбидность	23 (8,13) 85±6,48	64 (5,99) 84,72±9,13	11 (3,90) 81,55±8,63	98 (6,0) 84,18±8,51

Примечание: SD – стандартное отклонение; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, ЦВЗ – цереброваскулярные заболевания, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, СД2Т – сахарный диабет второго типа.

Note: SD – standard deviation; CVD – cardiovascular diseases, CVA – cerebrovascular accidents, COPD – chronic obstructive pulmonary disease, T2D – type 2 diabetes.

Отобранные для исследования гены кодируют ключевые ферменты антиоксидантной системы, использующие глутатион в качестве кофактора [13]. Полиморфные маркеры генов *GSR* (rs1002149), *GSTP1* (rs1695), *GPX1* (rs1050450), *GPX4* (rs713041) и *GPX8* (rs381852) были подобраны с использованием компьютерных баз данных GWAS Catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>, дата обращения сентябрь 2023 г.), NCBI (The National Center for Biotechnology Information, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, дата обращения сентябрь 2023 г.), Ensembl genome browser (<https://www.ensembl.org/index.html>, дата обращения сентябрь 2023 г.). Функциональная значимость отобранных для исследования SNP анализировалась в программах RegulomeDB (<https://regulomedb.org>, дата обращения сентябрь 2023 г.) и Open Targets Genetics (<https://genetics.opentargets.org/>, дата обращения сентябрь 2023 г.). Данные полиморфные варианты локализованы в кодирующих или регулирующих сайтах генов и связаны с изменением генной экспрессии, способны оказывать специфические эффекты в отношении сигнальных путей, в которые вовлечены белковые продукты изучаемых генов [8, 11, 12, 19, 20], а также являются генетическими маркерами ряда возраст-ассоциированных заболеваний [9, 13, 16, 18, 19, 21-27]. Характеристика исследованных SNP представлена в таблице 2.

Образцы ДНК получены путем фенольно-хлороформной экстракции из 8 мл цельной венозной крови. Генотипирование проведено методом ПЦР в реальном времени с использованием наборов праймеров и целевых флуоресцентных TaqMan-зондов («ДНК-Синтез», Россия). Распределение частот генотипов было проверено на соответствие равновесию Харди-Вайнберга в контрольной группе. Различия в распределении частот генотипов между этническими группами для каждого SNP оценивалось с помощью критерия χ^2 Пирсона (SPSS Statistics v. 22.0.).

Ассоциации исследуемых SNP с возрастом анализировались методом логистической регрессии с построением доминантной, кодоминантной, сверхдоминантной, рецессивной и лог-аддитивной генетических моделей (программная среда R v. 4.4.1., пакет SNPAssoc v. 2.1-2, <https://cran.r-project.org/>, [28]). Наиболее подходящая генетическая модель выбиралась для каждого SNP, статистически значимо связанного с исследуемым признаком, на основе наименьшего значения информационного критерия Акаике (AIC). Ассоциированные со старением и долголетием комбинации аллелей и генотипов изучаемых генов устанавливались с использованием программы APSampler (v.3.6.0, <http://apsampler.sourceforge.net>, [29]). Корреляция отдельных полиморфных локусов и их сочетаний с общей выживаемостью и при различных клинических фенотипах устанавливалась с использованием регрессии пропорциональных рисков Кокса; кривые выживаемости визуализировались с использованием графиков Каплана–Мейера (SPSS Statistics v. 22.0.). Все расчеты проводились с поправкой на пол и этническую принадлежность. Детальное описание методов и подходов статистического анализа описаны нами ранее [30].

Результаты и их обсуждение. В этнических группах русских, татар и башкир, которые являются наиболее распространенными в структуре населения Республики Башкортостан, охарактеризованы полиморфные локусы генов ферментов антиоксидантной системы, связанных с глутатионом. Наблюдаемое распределение частот генотипов в каждой исследованной этнической группе соответствовало теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди-Вайнберга ($P_{HWE} > 0,05$, Табл. 2). Сравнительный анализ распределения частот генотипов по каждому исследованному SNP выявил различия между этническими группами по полиморфным локусам *GPX1* (rs1050450) и *GPX8* (rs381852) ($P=0,01$, табл. 2).

Таблица 2

Характеристика исследованных полиморфных локусов, частота минорного аллеля, результаты анализа соответствия распределению Харди-Вайнберга в трех этнических группах

Table 2

The characteristic of studied polymorphic loci, minor allele frequencies, and the results of testing for Hardy-Weinberg equilibrium in the three ethnic groups

Ген RefSNP	Хромосомная локализация (GRCh38)	HGVS name, генная локализация	Аминокислотная замена	Минорный аллель	MAF				P χ^2
					Европейцы*	Русские	Татары	Башкиры	
GPX1 rs1050450	3:49357401	g.49357401G>A 2 экзон	p.Pro200Leu	A	33,6	30,25 (0,52)	35,42 (0,08)	35,43 (0,46)	0,01
GPX4 rs713041	19:1106616	g.1106616T>C 3'UTR	–	T	44,93	39,58 (1)	39,42 (1)	42,49 (0,26)	0,34
GPX8 rs381852	5:55164133	g.55164133A>G 3 экзон	p.Lys182Arg	A	20,97	20,87 (0,63)	16,45 (0,73)	17,44 (0,46)	0,01
GSTP1 rs1695	11:67585218	g.67585218A>G 5 экзон	p.Ile105Val	G	32,63	31,65 (0,46)	33,88 (0,47)	32,67 (0,85)	0,49
GSR rs1002149	8:30728221	g.30728221G>T промотор	–	T	15,61	20,44 (0,81)	21,28 (0,17)	18,88 (0,58)	0,42

Примечание: RefSNP – Reference SNP (база данных NCBI); MAF – частота минорного аллеля, %; * – по данным проекта 1000 геномов; P_{HWE} – уровень статистической значимости соответствия наблюдаемого распределения частот генотипов закону распределения Харди-Вайнберга; P χ^2 – уровень статистической значимости схождения распределения частот генотипов в этнических группах русских, татар и башкир по критерию χ^2 Пирсона.

Note: RefSNP – Reference SNP (NCBI database); MAF – minor allele frequency, %; * – according to the 1000 Genomes Project database; P_{HWE} – level of statistical significance of the correspondence of the observed frequency of genotypes distribution to the Hardy – Weinberg distribution law; P χ^2 – P-value from Pearson's χ^2 -test.

Распределение частот аллелей и генотипов в этнических группах с учетом возрастной градации приведено в таблице 3. Ассоциации между возрастными группами и полиморфными локусами оценивались с помощью регрессионного анализа и представлены в рамках различных генетических моделей в таблице 4. Наибольшее число ассоциаций продемонстрировано для полиморфного локуса rs713041 гена *GPX4*. В общей выборке частота генотипа *GPX4* (rs713041) СТ оказалась выше в группе долгожителей, относительно таковой среди лиц среднего ($P=0,021$) и преклонного ($P=0,004$) возраста. Ассоциация аллеля *GPX4* (rs713041) Т с долголетием, относительно группы лиц преклонного возраста, выявлена в общей группе ($P=0,007$) и в группе татар ($P=0,004$). Более того, в группе мужчин данный аллель, по которому также показана ассоциация с долголетием ($P=0,006$), был установлен как предиктор общей выживаемости ($HR=0,81$, $P=0,02$, Рис. 1А). В то же время у башкир снижена частота генотипа *GPX4* (rs713041) ТТ среди лиц преклонного возраста ($P=0,04$), долгожителей ($P=0,008$), и особенно женщин старше 90 лет ($P=0,001$). Генотип *GPX8* (rs381852) GA ассоциирован с долголетием в общей группе ($P=0,03$). В группе женщин русской этнической принадлежности с долголетием ассоциированы генотипы *GPX1* (rs1050450) GA ($P=0,02$) и *GSTP1* (rs1695) AG ($P=0,008$), а также аллель *GPX8* (rs381852) А ($P=0,005$). Частота генотипа *GSR* (rs1002149) ТТ снижена среди татар долгожителей ($P=0,03$); данный генотип также был идентифицирован как маркер повышенного риска смертности от всех причин ($HR=1,47$, $P=0,02$, рис. 1Б).

Выполнен поиск информативных ген-генных сочетаний, связанных с достижением преклонного возраста и долголетия. Установлено 11 комбинаций аллелей и генотипов, ассоциированных с долголетием в группе женщин ($OR>3$, $P_{FDR}<0,05$) (табл. 5). Среди башкир,

достигших долголетия, вероятность встречаемости сочетания *GPX1* (rs1050450) GG + *GPX4* (rs713041) С + *GSR* (rs1002149) Т в восемь раз выше, чем в группе лиц среднего возраста ($P_{FDR}=0,02$). В группе русских аллели *GPX1* (rs1050450) G, *GPX8* (rs381852) А и *GSTP1* (rs1695) А формируют 10 различных комбинаций, с наиболее значимым статистическим показателем для сочетания *GPX1* (rs1050450) G + *GPX8* (rs381852) А + *GSTP1* (rs1695) А ($P_{FDR}=0,006$). Сочетание аллелей *GPX1* (rs1050450) G и *GSTP1* (rs1695) А, ассоциированное с долголетием ($P_{FDR}=0,05$), оказалось значимым для общей выживаемости ($HR=0,5$, $P=0,02$, Рис. 1В).

Установленные в результате построения регрессионных моделей и ген-генных комбинаций генетические маркеры долголетия были выбраны в качестве предикторов для проведения анализа выживаемости в группах, сформированных на основе сведений о причинах смерти исследуемых лиц. Маркерами риска смертности при цереброваскулярных заболеваниях оказались генотип *GPX1* (rs1050450) AG ($HR=1,42$, $P=0,003$, Рис. 2А) и сочетание аллелей *GPX1* (rs1050450) G и *GSTP1* (rs1695) А ($HR=1,4$, $P=0,02$, Рис. 2Б). С выживаемостью при коморбидном состоянии ассоциирован генотип *GPX4* (rs713041) СТ ($HR=0,6$, $P=0,02$, Рис. 2В).

Таким образом, на обширной выборке, включающей мужчин и женщин трех крупных этнических групп русских, татар и башкир, проживающих на территории Республики Башкортостан, изучено возраст-зависимое изменение спектра частот аллелей и генотипов по полиморфным локусам в генах глутатион-связанных ферментов антиоксидантной системы *GSR* (rs1002149), *GSTP1* (rs1695), *GPX1* (rs1050450), *GPX4* (rs713041) и *GPX8* (rs381852). Исследованная выборка сформирована из коренных жителей Республики Башкортостан и имеющих тем самым сходные тенденции в отношении адаптации к экологическим и климатогеографическим условиям.

Таблица 3 (начало)

Распределение частот аллелей и генотипов по полиморфным локусам генов глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной системы в трех этнических группах Республики Башкортостан

Beginning of Table 3

Alleles and genotypes frequencies distribution of polymorphic loci in the genes encoded glutathione-related enzymes involved in the antioxidant defense across three ethnic groups of Bashkortostan Republic

Возрастная группа	Генотипы Аллели n (%)	Русские	Татары	Башкиры
GPXI (rs1050450)				
Средний возраст	GG/GA/AA G/A	167/151/33 (47,58/43,02/9,4) 485/217 (69,09/30,91)	309/357/87 (41,04/47,41/11,55) 975/531 (64,74/35,26)	72/92/22 (38,71/49,46/11,83) 236/136 (63,44/36,56)
Старческий возраст		97/79/17 (50,26/40,93/8,81) 273/113 (70,73/29,27)	289/352/74 (40,42/49,23/10,35) 930/500 (65,03/34,97)	114/115/38 (42,7/43,07/14,23) 343/191 (64,23/35,77)
Долгожители		50/53/6 (45,87/48,62/5,5) 153/65 (70,18/29,82)	175/194/59 (40,89/45,33/13,79) 544/312 (63,55/36,45)	50/39/14 (48,54/37,86/13,59) 139/67 (67,48/32,52)
GPX4 (rs713041)				
Средний возраст	CC/CT/TT C/T	129/170/50 (36,96/48,71/14,33) 428/270 (61,32/38,68)	225/311/107 (34,99/48,37/16,64) 761/525 (59,18/40,82)	60/92/43 (30,77/47,18/22,05) 212/178 (54,36/45,64)
Старческий возраст		70/87/34 (36,65/45,55/17,8) 227/155 (59,42/40,58)	280/303/100 (41,44/36/14,64) 863/503 (63,18/36,82)	88/134/40 (33,59/51,15/15,27) 310/214 (59,16/40,84)
Долгожители		37/54/17 (34,26/50/15,74) 128/88 (59,26/40,74)	130/212/62 (32,18/52,48/15,35) 472/336 (58,42/41,58)	30/61/11 (29,41/59,8/10,78) 121/83 (59,31/40,69)
GPX8 (rs381852)				
Средний возраст	GG/GA/AA G/A	231/99/13 (67,35/28,86/3,79) 561/125 (81,78/18,22)	445/165/25 (70,08/25,98/3,94) 1055/215 (83,07/16,93)	137/50/6 (70,98/25,91/3,11) 324/62 (83,94/16,06)
Старческий возраст		111/70/6 (59,36/37,43/3,21) 292/82 (78,07/21,93)	470/186/16 (69,94/27,68/2,38) 1126/218 (83,78/16,22)	170/70/10 (68/28/4) 410/90 (82/18)
Долгожители		53/46/6 (50,48/43,81/5,71) 152/58 (72,38/27,62)	279/115/7 (69,58/28,68/1,75) 673/129 (83,92/16,08)	65/31/3 (65,66/31,31/3,03) 161/37 (81,31/18,69)
GSTP1 (rs1695)				
Средний возраст	AA/AG/GG A/G	167/152/35 (47,18/42,94/9,89) 486/222 (68,64/31,36)	346/344/106 (43,47/43,22/13,32) 1036/556 (65,08/34,92)	82/90/24 (41,84/45,92/12,24) 254/138 (64,8/35,2)

Таблица 3 (окончание)

Распределение частот аллелей и генотипов по полиморфным локусам генов глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной системы в трех этнических группах Республики Башкортостан

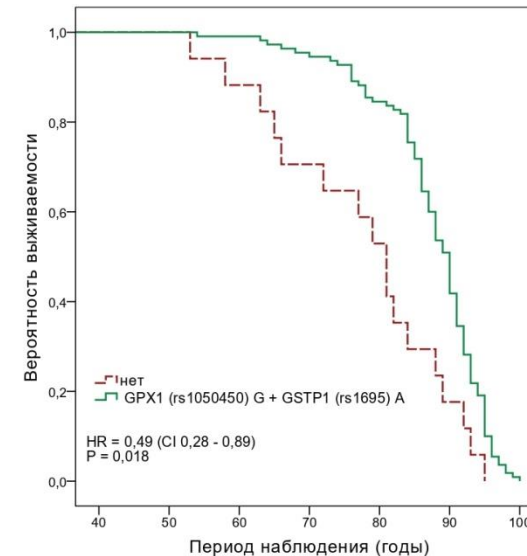
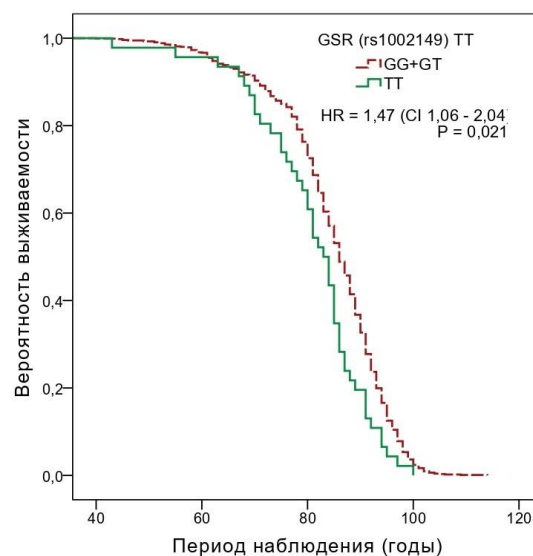
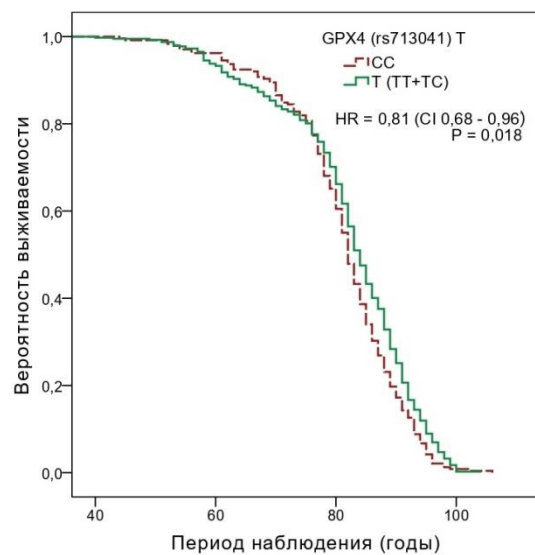
End of Table 3

Alleles and genotypes frequencies distribution of polymorphic loci in the genes encoded glutathione-related enzymes involved in the antioxidant defense across three ethnic groups of Bashkortostan Republic

Возрастная группа	Генотипы Аллели n (%)	Русские	Татары	Башкиры
Старческий возраст		72/84/17 (41,62/48,55/9,83) 228/118 (65,9/34,1)	299/303/74 (44,23/44,82/10,95) 901/451 (66,64/33,36)	126/106/25 (49,03/41,25/9,73) 358/156 (69,65/30,35)
Долгожители		53/48/7 (49,07/44,44/6,48) 154/62 (71,3/28,7)	188/185/44 (45,08/44,36/10,55) 561/273 (67,27/32,73)	44/46/11 (43,56/45,54/10,89) 134/68 (66,34/33,66)
<i>GSR</i> (rs1002149)				
Средний возраст		224/113/14 (63,82/32,19/3,99) 561/141 (79,91/20,09)	403/197/35 (63,46/31,02/5,51) 1003/267 (78,98/21,02)	128/60/7 (65,64/30,77/3,59) 316/74 (81,03/18,97)
Старческий возраст	GG/GT/TT G/T	108/56/7 (63,16/32,75/4,09) 272/70 (79,53/20,47)	412/227/40 (60,68/33,43/5,89) 1051/307 (77,39/22,61)	182/69/8 (70,27/26,64/3,09) 433/85 (83,59/16,41)
Долгожители		66/39/4 (60,55/35,78/3,67) 171/47 (78,44/21,56)	268/137/13 (64,11/32,78/3,11) 673/163 (80,5/19,5)	58/37/7 (56,86/36,27/6,86) 153/51 (75/25)

Примечание: n – численности носителей аллеля (генотипа); p – частота аллеля (генотипа) (%).

Note: n – number of the allele (genotype) carriers; p – allele (genotype) frequency (%).



А Б В
Рис. 1. Графики Каплана-Майера, демонстрирующие прогностическую значимость для общей выживаемости аллеля *GPX4* (rs713041) T в группе мужчин (А), генотипа *GSR* (rs1002149) TT в группе татар (Б), сочетания аллелей *GPX1* (rs1050450) G и *GSTP1* (rs1695) A в группе женщин, русских по этнической принадлежности (В)

Fig. 1. Kaplan-Meier Plot showing the prognostic significance for overall survival of the *GPX4* (rs713041) T allele in men (A), *GSR* (rs1002149) TT genotype among Tatars (B), *GPX1* (rs1050450) G and *GSTP1* (rs1695) A combination in Russian women (C)

В то же время были выявлены этнические особенности в распространении частот генотипов по полиморфным локусам генов *GPX1* (rs1050450) и *GPX8* (rs381852) (табл. 2). Кроме того, установлены как общие, так и этноспецифические ассоциации разных генетических маркеров с долголетием и выживаемостью в преклонном возрасте (табл. 4-5, рис. 1-2).

Аллель (rs1050450) А ассоциирован со сниженной активностью гена *GPX1* и соответственно с низким уровнем белка, с понижением концентрации селена в крови, а также с рядом патологий возраста в разных популяциях мира [19]. Полученная в группах женщин русской и башкирской этнической принадлежности ассоциация аллеля *GPX1* (rs1050450) G с долголетием подтверждает участие данного полиморфного маркера в формировании фенотипа долгожителя, устойчивого к возрастзависимым заболеваниям. Гетерозиготный генотип *GPX1* (rs1050450) AG оказался вовлечен в формирование патологического фенотипа, связанного с цереброваскулярными событиями и смертностью (рис. 2А). Интересно, что наличие даже одного аллеля *GPX1* (rs1050450) А повышало риск и степень развития заболеваний возраста [19]. При этом на модельных объектах показано участие нормальной и высокой активности GPx1 в защите от окислительного стресса именно в тканях нервной системы [12]. Можно предположить, что полиморфный маркер *GPX1* (rs1050450) вовлечен в формирование адаптивных механизмов при развитии сосудистых патологий головного мозга на поздних этапах онтогенеза, способствующих выживаемости в очень преклонном возрасте.

Ассоциация полиморфизма *GPX1* (rs1050450) с долголетием и показателями смертности дополнительно наблюдалась и в сочетании с *GSTP1* (rs1695) (табл. 5, рис. 1В, 2Б), что может свидетельствовать о критической роли GPX1 и GSTP1 в качестве регуляторов редокс-гомеостаза для клеточной выживаемости на поздних

этапах онтогенеза. Полиморфизм rs1695 гена *GSTP1* ассоциирован с сердечно-сосудистыми заболеваниями и раком [13, 18, 21, 22], а также с болезнью Альцгеймера [23]. В то же время было установлено снижение частоты аллеля *GSTP1* (rs1695) G с возрастом у итальянских долгожителей [31], что согласуется с нашими результатами, согласно которым аллель *GSTP1* (rs1695) А в сочетании с другими аллелями генов семейства GPx ассоциирован с долголетием (табл. 5). Таким образом, *GSTP1* ассоциирован с физиологическими и патологическими возрастными процессами. Это обусловлено тем, что GST способен взаимодействовать с различными киназами и регулировать важнейшие внутриклеточные сигнальные каскады – JNK, ASK1, MAP, участвуя тем самым в апоптозе и стресс-реакциях [8].

GPx4 также является важнейшим регулятором выживаемости клетки, так как способна напрямую восстанавливать гидроперекиси липидов и холестерина [11], запускать AIF-опосредованную клеточную гибель [32] и ингибировать ферроптоз [11, 33]. Из всех известных изоформ GPx только для GPx4 была установлена связь дефицита данного фермента с выживаемостью эмбрионов лабораторных мышей [34]. Полиморфный локус *GPX4* (rs713041) связан с содержанием селенопротеинов в клетке – в условиях дефицита селена концентрация GPx4 лучше поддерживалась у носителей генотипа CC; данный полиморфизм тем самым был определен в качестве маркера восприимчивости к болезням [24]. Так, аллель *GPX4* (rs713041) C ассоциирован с риском развития инсульта, гипертонии, рака [15]. В нашей работе для полиморфного локуса *GPX4* (rs713041) получено наибольшее число ассоциаций, в то же время для разных этнических групп маркеры долголетия различались. Аллель *GPX4* (rs713041) C, для которого показана защитная роль в отношении окислительного повреждения ДНК при нормальном уровне селена [20], ассоциирован с долголетием у башкир, как индивидуальный генетический маркер, так и в мультилокусных паттернах (табл. 4, 5).

Таблица 4

Результаты анализа ассоциаций между полиморфными локусами изученных генов и возрастом

Table 4

Significant results of association analysis between the studied gene polymorphic loci and age

SNP	Модель	Генотип/ аллель	Сравниваемые группы, n (p, %)		OR (95% CI _{OR})	P	AIC
			Контроль	Случай			
			Средний возраст	Старческий возраст			
<i>GPX4</i> (rs713041) Башкиры	Рецессивная	CC+CT TT	144 (77) 43 (23)	222 (84,7) 40 (15,3)	1,00 0,60 (0,37-0,97)	0,04	609,6
<i>GPX1</i> (rs1050450) Женщины русские	Сверхдоминантная	GG+AA GA	73 (60,8) 47 (39,2)	28 (43,1) 37 (56,9)	1,00 2,05 (1,11-3,79)	0,02	238,5
<i>GPX4</i> (rs713041)	Сверхдоминантная	CC+TT CT	581 (52,5) 525 (47,5)	287 (46,7) 327 (53,3)	1,00 1,26 (1,03-1,54)	0,02	2240,4
<i>GPX4</i> (rs713041) Башкиры	Рецессивная	CC+CT TT	144 (77) 43 (23)	91 (89,2) 11 (10,8)	1,00 0,40 (0,20-0,83)	0,008	372,3
<i>GPX4</i> (rs713041) Женщины башкиры	Рецессивная	CC+CT TT	67 (72) 26 (28)	66 (91,7) 6 (8,3)	1,00 0,23 (0,09-0,61)	0,001	219,3
<i>GPX8</i> (rs381852)	Сверхдоминантная	GG+AA GA	801 (73,3) 291 (26,6)	413 (68,3) 192 (31,7)	1,00 1,28 (1,03-1,59)	0,03	2209,9
<i>GPX8</i> (rs381852) Женщины русские	Доминантная	GG GA+AA	83 (71,5) 33 (28,4)	31 (50) 31 (50)	1,00 2,52 (1,33-4,77)	0,005	226,1
<i>GSTP1</i> (rs1695) Женщины русские	Сверхдоминантная	AA+GG AG	81 (66,9) 40 (33,1)	30 (46,9) 34 (53,1)	1,00 2,29 (1,23-4,27)	0,008	235,6
<i>GPX4</i> (rs713041)	Сверхдоминантная	CC+TT CT	612 (53,9) 524 (46,1)	287 (46,7) 327 (53,3)	1,00 1,33 (1,09-1,62)	0,004	2263,8
<i>GPX4</i> (rs713041)	Доминантная	CC CT+TT	438 (38,6) 698 (61,4)	197 (32,1) 417 (67,9)	1,00 1,33 (1,08-1,63)	0,007	2264,6
<i>GPX4</i> (rs713041) Мужчины	Доминантная	CC CT+TT	220 (40,4) 325 (59,6)	51 (29) 125 (71)	1,00 1,66 (1,15-2,4)	0,006	797,9
<i>GPX4</i> (rs713041) Татары	Доминантная	CC CT+TT	280 (41) 403 (59)	130 (32,2) 274 (67,8)	1,00 1,46 (1,13-1,90)	0,004	1430
<i>GSR</i> (rs1002149) Татары	Рецессивная	GG+GT TT	639 (94,1) 40 (5,9)	405 (96,9) 13 (3,1)	1,00 0,51 (0,27-0,97)	0,03	1457,4

Примечание: n – численности носителей аллеля (генотипа); p – частота аллеля (генотипа) (%); OR – показатель соотношения шансов наступления события; CI_{OR} – доверительный интервал показателя соотношения шансов наступления события; P – уровень значимости; AIC – информационный критерий Акаике.

Note: n – number of the allele (genotype) carriers; p – the allele (genotype) frequency (%); OR – odds ratio; CI_{OR} – 95% confidence interval for OR; P – significance level; AIC – Akaike's information criterion.

Таблица 5

Сочетания аллелей/генотипов, ассоциированные с долголетием среди женщин

Table 5

Allele/genotype combinations associated with longevity among women

Сочетания	Группы сравнения (p, %)		OR	95% CI _{OR}	P	P _{FDR}
	Долгожители	Средний возраст				
Башкиры						
<i>GPX1</i> (rs1050450) GG+ <i>GPX4</i> (rs713041) C+ <i>GSR</i> (rs1002149) T	25,35	4,08	7,98	2,57 – 24,82	0,00006	0,02
Русские						
<i>GPX1</i> (rs1050450) G+ <i>GPX8</i> (rs381852) A+ <i>GSTP1</i> (rs1695) A	50,0	19,74	4,07	2,15 – 7,7	0,00001	0,006
<i>GPX1</i> (rs1050450) G+ <i>GPX8</i> (rs381852) AG+ <i>GSTP1</i> (rs1695) A	45,16	16,45	4,18	2,17 – 8,09	0,00002	0,004
<i>GPX1</i> (rs1050450) AG+ <i>GPX8</i> (rs381852) A+ <i>GSTP1</i> (rs1695) A	32,26	9,87	4,35	2,05 – 9,24	0,0001	0,01
<i>GPX1</i> (rs1050450) G+ <i>GPX8</i> (rs381852) AG	45,16	19,08	3,49	1,84 – 6,65	0,0001	0,01
<i>GPX1</i> (rs1050450) G+ <i>GPX8</i> (rs381852) A	50,0	23,03	3,34	1,79 – 6,24	0,0001	0,009
<i>GPX8</i> (rs1050450) A+ <i>GSTP1</i> (rs1695) A	50,0	24,84	3,08	1,66 – 5,71	0,0003	0,01
<i>GPX8</i> (rs1050450) AG+ <i>GSTP1</i> (rs1695) A	53,85	20,51	3,17	1,68 – 5,97	0,0003	0,01
<i>GPX1</i> (rs1050450) AG+ <i>GPX8</i> (rs381852) A	32,26	11,84	3,55	1,72 – 7,32	0,0006	0,02
<i>GPX1</i> (rs1050450) AG+ <i>GPX8</i> (rs381852) AG	29,03	10,53	3,48	1,64 – 7,39	0,001	0,03
<i>GPX1</i> (rs1050450) G+ <i>GSTP1</i> (rs1695) A	93,75	78,34	4,15	1,41 – 12,22	0,003	0,05

Примечание: p – частота встречаемости сочетания; OR – показатель соотношения шансов наступления события; CI_{OR} – 95% доверительный интервал OR; P – уровень значимости; P_{FDR} – уровень значимости после введения поправки на множественность сравнений методом FDR (false discovery rate).

Notes: p – the combination frequency; OR – odds ratio; CI_{OR} – 95% confidence interval for OR; P – significance level; P_{FDR} – significance level corrected for multiple testing using FDR (false discovery rate) method.

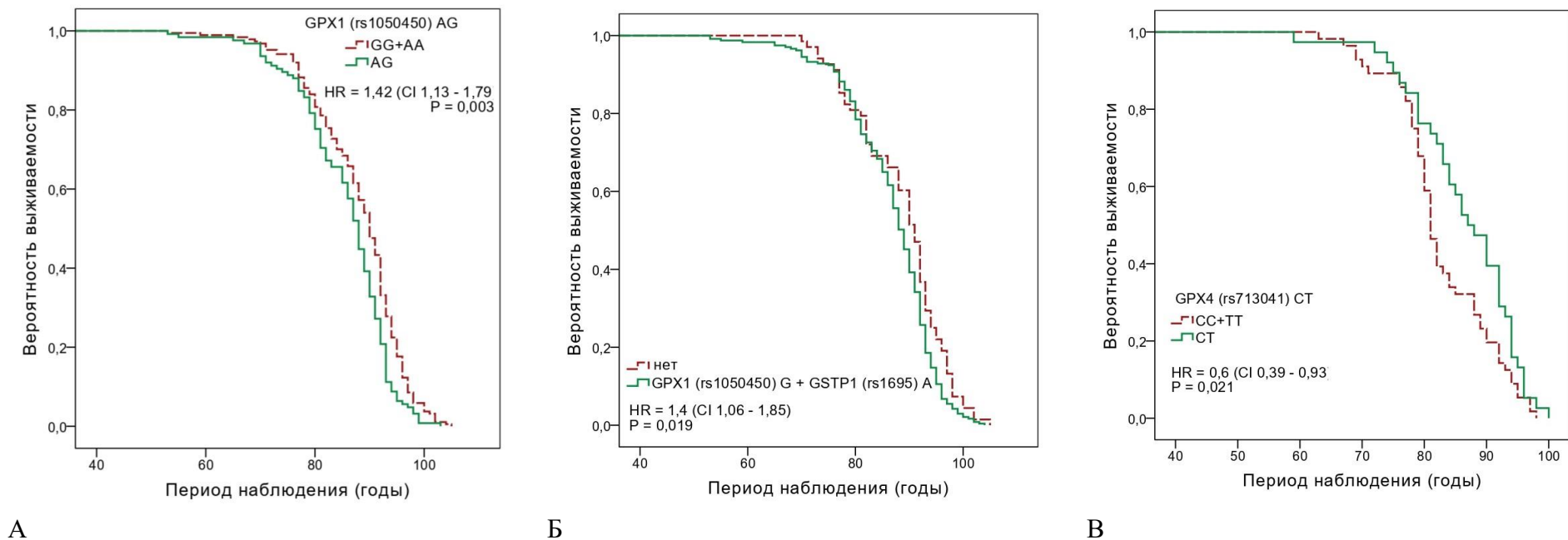


Рис. 2. Графики Каплана-Майера, демонстрирующие прогностическую значимость для выживаемости при cerebrovascularных заболеваниях генотипа *GPX1* (rs1050450) AG (A) и сочетания аллелей *GPX1* (rs1050450) G и *GSTP1* (rs1695) A (Б), а также для выживаемости при коморбидном статусе генотипа *GPX4* (rs713041) CT (B).

Fig. 2. Kaplan-Meier Plot showing the prognostic significance for cerebrovascular diseases-specific survival of the *GPX1* (rs1050450) AG genotype (A), and *GPX1* (rs1050450) G and *GSTP1* (rs1695) A alleles combination (B), and for multimorbidity-specific survival of the *GPX4* (rs713041) CT genotype (C).

Аллель *GPX4* (rs713041) T оказался ассоциирован с долголетием и общей выживаемостью мужчин татарской этнической принадлежности (табл. 4, рис. 1А). Принимая во внимание роль данного полиморфизма в обмене и функционировании селенсодержащих ферментов, можно предположить, что исторически сложившиеся особенности рациона и экологических условий проживания могли сформировать этноспецифические адаптационные молекулярные механизмы [35].

Результаты исследований *GPx8* демонстрируют его участие в различных физиологических процессах, таких как антиоксидантная защита, стресс эндоплазматического ретикулума, апоптоз, регуляция гомеостаза кальция, внутриклеточный сигналинг, а также в опухолеобразовании [36]. В то же время отсутствуют работы по изучению полиморфных вариантов гена *GPX8*. Методом GWAS была установлена ассоциация rs381852 с раком яичников [16]. В нашем исследовании аллель *GPX8* (rs381852) А ассоциирован с долголетием женщин, русских по этнической принадлежности, как отдельно, так и в сочетаниях (табл. 4, 5).

Функциональный полиморфный вариант *GSR* (rs1002149) T ассоциирован с высоким уровнем GSH, который в свою очередь коррелирует с благоприятным физиологическим фоном, способствующим долголетию и устойчивости к развитию заболеваний [9, 14]. Более того, низкая концентрация сывороточного GSH является предиктором когнитивных нарушений, болезни Альцгеймера, мультиморбидного статуса и старения в целом [10, 25]. С другой стороны, аллель (rs1002149) T является аллелем риска для рака груди [9], хронической обструктивной болезни легких [26], коррелирует со снижением минеральной плотности костной ткани в постменопаузе [27] и более того, с выживаемостью среди супердолгожителей [14]. Таким образом, полученные для этнической группы татар

результаты, демонстрирующие снижение частоты встречаемости генотипа (rs1002149) TT среди долгожителей (табл. 4) и повышенный риск смертности (Рис. 1Б), согласуются с таковыми в других европейских популяциях. В то же время у башкир способствующее долголетию сочетание включает аллель (rs1002149) T (табл. 5); каждый элемент сочетания таким образом ассоциирован с высокой активностью кодируемого им фермента, и тем самым вовлечен в поддержание высокого уровня восстановительного потенциала глутатионового компонента антиоксидантной системы.

Заключение. В данном исследовании мы оценили вклад полиморфных вариантов генов глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной системы *GSR* (rs1002149), *GSTP1* (rs1695), *GPX1* (rs1050450), *GPX4* (rs713041) и *GPX8* (rs381852) в формирование фенотипа долгожителя среди основных этнических групп населения Республики Башкортостан. Для аллеля *GPX4* (rs713041) C, связанного с лучшей эффективностью работы *GPx4*, установлено наибольшее число ассоциаций с долголетием и выживаемостью в этнической группе башкир. В то же время в группе татар протективным в отношении выживаемости оказался аллель *GPX4* (rs713041) T, ассоциированный с риском развития многофакторных патологий; этот результат требует дальнейшего изучения этноспецифических молекулярных и биохимических процессов. В группе женщин, русских по этнической принадлежности, аллель *GPX8* (rs381852) А ассоциирован с долголетием как индивидуально, так и в сочетании с другими генетическими маркерами. В этнической группе татар аллель *GSR* (rs1002149) T, который является маркером риска многих возраст-зависимых заболеваний, в гомозиготном варианте повышает риск смертности от всех причин. Среди женщин, русских по этнической принадлежности, аллели *GPX1* (rs1050450) G и *GSTP1* (rs1695) А, связанные с нормальной и высокой активностью

кодируемых белковых продуктов, способствуют достижению долголетия, но в то же время демонстрируют эффект антагонистической плейотропии, поскольку ассоциированы с риском смертности именно в возрасте долголетия, и особенно при развитии цереброваскулярных патологий.

Таким образом, пол и этническая принадлежность способны модифицировать эффекты работы генов глутатион-зависимых ферментов клеточной антиоксидантной защиты. Кроме того, изученные полиморфные локусы выступают маркерами уязвимости или устойчивости к развивающимся с возрастом патологиям, и могут зависеть от гормонального и физиологического статуса, характерного для определенного возрастного этапа. При этом, поскольку эффекты отдельных генов реализуются в многоуровневых и разветвленных сигнальных молекулярных путях, их влияние на выживаемость может меняться в зависимости от генетического окружения.

В целом, исследованные полиморфные локусы ассоциированы с выживаемостью при различных физиологических и патологических состояниях, а также с долголетием, и являются частью сложной динамичной сети молекулярных внутриклеточных взаимодействий.

Информация о финансировании

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00179 (<https://rscf.ru/project/24-25-00179/>).

Financial support

This study was supported by the Russian Science Foundation (Grant no. 24-25-00179, <https://rscf.ru/project/24-25-00179/>).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Castruita PA, Piña-Escudero SD, Rentería ME, et al. Genetic, Social, and Lifestyle Drivers of Healthy Aging and Longevity. *Current Genetic Medicine Reports*. 2022;10:25-34. <https://doi.org/10.1007/s40142-022-00205-w>
2. Karagianni C, Bazopoulou D. Redox regulation in lifespan determination. *Journal of Biological Chemistry*. 2024;300(3):105761. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2024.105761>
3. Diaz-Del Cerro E, Martinez de Toda I, Félix J, et al. Components of the Glutathione Cycle as Markers of Biological Age: An Approach to Clinical Application in Aging. *Antioxidants*. 2023;12(8):1529. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12081529>
4. Ferreira MJ, Rodrigues TA, Pedrosa AG, et al. Glutathione and peroxisome redox homeostasis. *Redox Biology*. 2023;67:102917. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102917>
5. Liu T, Sun L, Zhang Y, et al. Imbalanced GSH/ROS and sequential cell death. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2022;36(1):e22942. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbt.22942>
6. Pelton R. The Glutathione Theory of Aging. *Altern Ther Health Med*. 2024;30(10):54-58.
7. Giustarini D, Milzani A, Dalle-Donne I, et al. How to Increase Cellular Glutathione. *Antioxidants*. 2023;12(5):1094. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12051094>
8. Alope C, Onisuru OO, Achilonu I. Glutathione S-transferase: A versatile and dynamic enzyme. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2024;734:150774. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.150774>
9. Kopp TI, Vogel U, Dragsted LO, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in the antioxidant genes CAT, GR and SOD1, erythrocyte enzyme activities, dietary and life style factors and breast cancer risk in a Danish, prospective cohort study. *Oncotarget*. 2017;8(38):62984-62997. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18062>
10. Lapenna D. Glutathione and glutathione-dependent enzymes: From biochemistry to gerontology and successful aging. *Ageing Research Reviews*. 2023;92:102066. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.102066>
11. Forcina GC, Dixon SJ. GPX4 at the Crossroads of Lipid Homeostasis and Ferroptosis. *Proteomics*. 2019;19(18):e1800311. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.201800311>

12. Pei J, Pan X, Wei G, et al. Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxitation. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1147414. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414>
13. Kalinina E. Glutathione-dependent pathways in cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(15):8423. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25158423>
14. Soerensen M, Dato S, Tan Q, et al. Human longevity and variation in GH/IGF-1/insulin signaling, DNA damage signaling and repair and pro/antioxidant pathway genes: cross sectional and longitudinal studies. *Experimental Gerontology*. 2012;47(5):379-387. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.02.010>
15. Barbosa P, Abo El-Magd NF, Hesketh J, et al. The Role of rs713041 Glutathione Peroxidase 4 (GPX4) Single Nucleotide Polymorphism on Disease Susceptibility in Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(24):15762. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms232415762>
16. Permuth JB, Pirie A, Ann Chen Y, et al. Exome genotyping arrays to identify rare and low frequency variants associated with epithelial ovarian cancer risk. *Human Molecular Genetics*. 2016;25(16):3600-3612. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw196>
17. Yang Q, Huang W, Yin D, et al. EPHX1 and GSTP1 polymorphisms are associated with COPD risk: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Genetics*. 2023;14:1128985. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1128985>
18. Grussy K, Łaska M, Moczurad W, et al. The importance of polymorphisms in the genes encoding glutathione S-transferase isoenzymes in development of selected cancers and cardiovascular diseases. *Molecular Biology Reports*. 2023;50(11):9649-9661. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08894-4>
19. Ferreira RR, Carvalho RV, Coelho LL, et al. Current understanding of human polymorphism in selenoprotein genes: a review of its significance as a risk biomarker. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(3):1402. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25031402>
20. Gautrey H, Nicol F, Sneddon AA, et al. A T/C polymorphism in the GPX4 3'UTR affects the selenoprotein expression pattern and cell viability in transfected Caco-2 cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2011;1810(6):284-291. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.03.016>
21. Simeunovic D, Odanovic N, Pljesa-Ercegovac M, et al. Glutathione Transferase P1 Polymorphism Might Be a Risk Determinant in Heart Failure. *Disease Markers*. 2019;2019:6984845. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/6984845>
22. Song Y, Chen J, Liu K, et al. Glutathione S-Transferase Pi 1 (GSTP1) Gene 313 A/G (rs1695) polymorphism is associated with the risk of urinary bladder cancer: Evidence from a systematic review and meta-analysis based on 34 case-control studies. *Gene*. 2019;719:144077. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144077>
23. Wang M, Li Y, Lin L, et al. GSTM1 Null Genotype and GSTP1 Ile105Val Polymorphism Are Associated with Alzheimer's Disease: a Meta-Analysis. *Molecular Neurobiology*. 2016;53(2):1355-1364. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9092-7>
24. Méplan C, Crosley LK, Nicol F, et al. Functional effects of a common single-nucleotide polymorphism (GPX4c718t) in the glutathione peroxidase 4 gene: interaction with sex. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2008;87(4):1019-1027. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.4.1019>
25. Pérez LM, Hooshmand B, Mangialasche F, et al. Glutathione Serum Levels and Rate of Multimorbidity Development in Older Adults. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*. 2019;75(6):1089-1094. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/glz101>
26. Korytina GF, Akhmadishina LZ, Aznabaeva YG, et al. Associations of the NRF2/KEAP1 pathway and antioxidant defense gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease. *Gene*. 2019;692:102-112. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.12.061>
27. Mlakar SJ, Osredkar J, Prezelj J, et al. Antioxidant enzymes GSR, SOD1, SOD2, and CAT gene variants and bone mineral density values in postmenopausal women: a genetic association analysis. *Menopause*. 2012;19(3):368-376. DOI: <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e31822d5b10>
28. González JR, Armengol L, Solé X, et al. SNPAssoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics*. 2007;23(5):644-645. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm025>
29. Favorov AV, Andriewski TV, Sudomoina MA, et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. *Genetics*. 2005;171(4):2113-2121. DOI: <https://doi.org/10.1534/genetics.105.048090>

30. Erdman V, Tuktarova I, Nasibullin T, et al. Polygenic markers of survival and longevity in the antioxidant genes PON1, PON2, MTHFR, MSRA, SOD1, NQO1, and CAT in a 20-year follow-up study in the population from the Volga-Ural region. *Gene*. 2024;919:148510. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2024.148510>

31. Scarfò M, Sciandra C, Ruberto S, et al. GSTT1, GSTP1 and XPC genes are associated with longevity in an Italian cohort. *Annals of Human Biology*. 2021;48(5):443-447. DOI: <https://doi.org/10.1080/03014460.2021.1985170>

32. Seiler A, Schneider M, Förster H, et al. Glutathione Peroxidase 4 Senses and Translates Oxidative Stress into 12/15-Lipoxygenase Dependent- and AIF-Mediated Cell Death. *Cell Metabolism*. 2008;8(3):237-248. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.07.005>

33. Zhang W, Liu Y, Liao Y, et al. GPX4, ferroptosis, and diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2024;174:116512. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116512>

34. Yant LJ, Ran Q, Rao L, et al. The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults. *Free Radical Biology and Medicine*. 2003;34(4):496-502. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01360-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01360-6)

35. Титов А, Казнина Н, Карапетян Т, и др. Роль селена в жизнедеятельности растений, животных и человека. *Успехи современной биологии*. 2021;141(5):443-456. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0042132421050094>

36. Zou YW, Cheng Y, Liu ZL, et al. GPX8 as a potential prognostic marker in gastric and colorectal cancer. *Medicine*. 2025;104(3):e39815. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000039815>

References

1. Castruita PA, Piña-Escudero SD, Rentería ME, et al. Genetic, Social, and Lifestyle Drivers of Healthy Aging and Longevity. *Current Genetic Medicine Reports*. 2022;10:25-34. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40142-022-00205-w>

2. Karagianni C, Bazopoulou D. Redox regulation in lifespan determination. *Journal of Biological Chemistry*. 2024;300(3):105761. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2024.105761>

3. Diaz-Del Cerro E, Martinez de Toda I, Félix J, et al. Components of the Glutathione Cycle as Markers of Biological Age: An Approach to Clinical Application in Aging. *Antioxidants*. 2023;12(8):1529. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12081529>

4. Ferreira MJ, Rodrigues TA, Pedrosa AG, et al. Glutathione and peroxisome redox homeostasis. *Redox Biology*. 2023;67:102917. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102917>

5. Liu T, Sun L, Zhang Y, et al. Imbalanced GSH/ROS and sequential cell death. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2022;36(1):e22942. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbt.22942>

6. Pelton R. The Glutathione Theory of Aging. *Altern Ther Health Med*. 2024;30(10):54-58.

7. Giustarini D, Milzani A, Dalle-Donne I, et al. How to Increase Cellular Glutathione. *Antioxidants*. 2023;12(5):1094. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12051094>

8. Alope C, Onisuru OO, Achilonu I. Glutathione S-transferase: A versatile and dynamic enzyme. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2024;734:150774. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.150774>

9. Kopp TI, Vogel U, Dragsted LO, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in the antioxidant genes CAT, GR and SOD1, erythrocyte enzyme activities, dietary and life style factors and breast cancer risk in a Danish, prospective cohort study. *Oncotarget*. 2017;8(38):62984-62997. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18062>

10. Lapenna D. Glutathione and glutathione-dependent enzymes: From biochemistry to gerontology and successful aging. *Ageing Research Reviews*. 2023;92:102066. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.102066>

11. Forcina GC, Dixon SJ. GPX4 at the Crossroads of Lipid Homeostasis and Ferroptosis. *Proteomics*. 2019;19(18):e1800311. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.201800311>

12. Pei J, Pan X, Wei G, et al. Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxidation. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1147414. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414>

13. Kalinina E. Glutathione-dependent pathways in cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(15):8423. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25158423>

14. Soerensen M, Dato S, Tan Q, et al. Human longevity and variation in GH/IGF-1/insulin signaling, DNA damage signaling and repair and pro/antioxidant pathway genes: cross sectional and longitudinal studies. *Experimental Gerontology*. 2012;47(5):379-387. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.02.010>

15. Barbosa P, Abo El-Magd NF, Hesketh J, et al. The Role of rs713041 Glutathione Peroxidase 4 (GPX4) Single Nucleotide Polymorphism on Disease Susceptibility in Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(24):15762. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms232415762>
16. Permuth JB, Pirie A, Ann Chen Y, et al. Exome genotyping arrays to identify rare and low frequency variants associated with epithelial ovarian cancer risk. *Human Molecular Genetics*. 2016;25(16):3600-3612. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw196>
17. Yang Q, Huang W, Yin D, et al. EPHX1 and GSTP1 polymorphisms are associated with COPD risk: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Genetics*. 2023;14:1128985. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1128985>
18. Grussy K, Łaska M, Moczurad W, et al. The importance of polymorphisms in the genes encoding glutathione S-transferase isoenzymes in development of selected cancers and cardiovascular diseases. *Molecular Biology Reports*. 2023;50(11):9649-9661. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08894-4>
19. Ferreira RR, Carvalho RV, Coelho LL, et al. Current understanding of human polymorphism in selenoprotein genes: a review of its significance as a risk biomarker. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(3):1402. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25031402>
20. Gautrey H, Nicol F, Sneddon AA, et al. A T/C polymorphism in the GPX4 3'UTR affects the selenoprotein expression pattern and cell viability in transfected Caco-2 cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2011;1810(6):284-291. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.03.016>
21. Simeunovic D, Odanovic N, Pljesa-Ercegovac M, et al. Glutathione Transferase P1 Polymorphism Might Be a Risk Determinant in Heart Failure. *Disease Markers*. 2019;2019:6984845. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/6984845>
22. Song Y, Chen J, Liu K, et al. Glutathione S-Transferase Pi 1 (GSTP1) Gene 313 A/G (rs1695) polymorphism is associated with the risk of urinary bladder cancer: Evidence from a systematic review and meta-analysis based on 34 case-control studies. *Gene*. 2019;719:144077. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144077>
23. Wang M, Li Y, Lin L, et al. GSTM1 Null Genotype and GSTP1 Ile105Val Polymorphism Are Associated with Alzheimer's Disease: a Meta-Analysis. *Molecular Neurobiology*. 2016;53(2):1355-1364. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9092-7>
24. Méplan C, Crosley LK, Nicol F, et al. Functional effects of a common single-nucleotide polymorphism (GPX4c718t) in the glutathione peroxidase 4 gene: interaction with sex. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2008;87(4):1019-1027. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.4.1019>
25. Pérez LM, Hooshmand B, Mangialasche F, et al. Glutathione Serum Levels and Rate of Multimorbidity Development in Older Adults. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*. 2019;75(6):1089-1094. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/glz101>
26. Korytina GF, Akhmadishina LZ, Aznabaeva YG, et al. Associations of the NRF2/KEAP1 pathway and antioxidant defense gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease. *Gene*. 2019;692:102-112. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.12.061>
27. Mlakar SJ, Osredkar J, Prezelj J, et al. Antioxidant enzymes GSR, SOD1, SOD2, and CAT gene variants and bone mineral density values in postmenopausal women: a genetic association analysis. *Menopause*. 2012;19(3):368-376. DOI: <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e31822d5b10>
28. González JR, Armengol L, Solé X, et al. SNPAssoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics*. 2007;23(5):644-645. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm025>
29. Favorov AV, Andreewski TV, Sudomoina MA, et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. *Genetics*. 2005;171(4):2113-2121. DOI: <https://doi.org/10.1534/genetics.105.048090>
30. Erdman V, Tuktarova I, Nasibullin T, et al. Polygenic markers of survival and longevity in the antioxidant genes PON1, PON2, MTHFR, MSRA, SOD1, NQO1, and CAT in a 20-year follow-up study in the population from the Volga-Ural region. *Gene*. 2024;919:148510. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2024.148510>
31. Scarfò M, Sciandra C, Ruberto S, et al. GSTT1, GSTP1 and XPC genes are associated with longevity in an Italian cohort. *Annals of Human Biology*. 2021;48(5):443-447. DOI: <https://doi.org/10.1080/03014460.2021.1985170>
32. Seiler A, Schneider M, Förster H, et al. Glutathione Peroxidase 4 Senses and Translates Oxidative Stress into 12/15-Lipoxygenase Dependent- and AIF-Mediated Cell Death. *Cell Metabolism*. 2008;8(3):237-248. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.07.005>

33. Zhang W, Liu Y, Liao Y, et al. GPX4, ferroptosis, and diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2024;174:116512. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116512>

34. Yant LJ, Ran Q, Rao L, et al. The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults. *Free Radical Biology and Medicine*. 2003;34(4):496-502. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01360-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01360-6)

35. Titova AF, Kaznina NM, Karapetyan TA, et al. The Role of Selenium in the Life of Plants, Animals and Human. *Advances in Modern Biology*. 2021;141(5):443-456. Russian. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0042132421050094>

36. Zou YW, Cheng Y, Liu ZL, et al. GPX8 as a potential prognostic marker in gastric and colorectal cancer. *Medicine*. 2025;104(3):e39815. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000039815>

Статья поступила в редакцию 15 апреля 2025 г.
Поступила после доработки 27 мая 2025 г.
Принята к печати 2 июня 2025 г.

Received 15 April 2025

Revised 27 May 2025

Accepted 2 June 2025

Информация об авторах

Вера Викторовна Эрдман, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук; доцент кафедры биологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: danivera@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1219-3458>.

Ильсияр Авхатовна Туктарова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: iltuk@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6928-648X>.

Анна Александровна Петинцева, младший научный сотрудник Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа, Российская

Федерация, E-mail: anna_petinseva@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-3526-9691>.

Янина Римовна Тимашева, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук; доцент кафедры медицинской генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: ianina_t@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9918-6962>.

Тимур Русланович Насибуллин, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: nasibullintr@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8823-8678>.

Information about the authors

Vera V. Erdman, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS; Associate Professor at the Department of Biology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: danivera@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1219-3458>.

Isiar A. Tuktarova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia, E-mail: iltuk@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6928-648X>.

Anna A. Petintseva, Junior Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia, E-mail: anna_petinseva@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-3526-9691>.

Yanina R. Timasheva, Cand. Sci. (Medicine), Senior Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS; Associate Professor at the Department of Medical Genetics and Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: ianina_t@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9918-6962>.

Timur R. Nasibullin, Cand. Sci. (Medicine), Senior Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia, E-mail: nasibullintr@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8823-8678>.

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ PHARMACOLOGY



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-4

УДК 615:32

Вторичные метаболиты *Reynoutria sachalinensis* – потенциальный резерв фармакологических препаратов (обзор)

Е.Г. Жничкова , Т.А. Кроль , Д.Н. Балеев 

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений»,
ул. Грина, д. 7, стр. 1, г. Москва, 117216, Российская Федерация
Автор для переписки: Е.Г. Жничкова (emili-07@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Литературный обзор посвящен многолетнему травянистому растению *Reynoutria sachalinensis* семейства *Polygonaceae*. Во многих странах данный вид считается инвазивным и ведется поиск не только методов борьбы с ним, но и вариантов его использования, как лекарственного, медоносного, декоративного, пищевого и кормового растения. **Цель исследования:** Систематизировать современные научные данные в области химического состава *R. sachalinensis*, механизмов действия его основных биологически активных соединений и обоснованию их терапевтического использования. **Материалы и методы:** Для достижения поставленной цели проводился анализ источников отечественной и иностранной литературы по данной проблеме за период с 2000 г. по 2025 г. Использовались базы данных научных электронных библиотек Google Scholar, eLibrary, PubMed, Web of Science, ScienceDirect, Scopus. **Результаты:** В обзоре обобщены результаты исследований в области изучения химического состава, биологической активности как различных экстрактов, так и индивидуальных соединений, а также механизмов действия основных биологически активных веществ *R. sachalinensis*. В настоящее время из данного вида выделено и идентифицировано более 277 соединений. Метаболиты *R. sachalinensis* относятся к фенольным соединениям, тритерпеноидам, азотсодержащим соединениям, пигментам и алифатическим спиртам. В исследованиях последних десятилетий показано, что суммарные экстракты и высокоочищенные фракции соединений из различных органов *R. sachalinensis* обладают антиоксидантной, противовирусной, фунгицидной и противоопухолевой активностью, ингибирующим действием на β -глюкозидазу, ацетилхолинэстеразу, ксантинооксидазу и нейропротективными свойствами. Знание пространственной структуры комплексов клеточных белков, мембранных рецепторов и растительных вторичных метаболитов, их лигандов раскрывает механизм действия биологически активных веществ, но не исключает необходимости его подтверждения и проведения эксперимента *in vitro* и *in vivo*.

Заключение: Растительное сырье *R. sachalinensis* можно рассматривать как источник биологически активных метаболитов, имеющих широкий спектр использования.

Ключевые слова: рейнуртия сахалинская; вторичные метаболиты; цитотоксичность; противовирусное действие; молекулярный докинг

Для цитирования: Жничкова ЕГ, Кроль ТА, Балеев ДН. Вторичные метаболиты *Reynoutria sachalinensis* – потенциальный резерв фармакологических препаратов (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(3):414-438. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-4

Secondary metabolites of *Reynoutria sachalinensis* – a potential reserve of pharmacological drugs (review)

Elena G. Zhnichkova , Tatyana A. Krol , Dmitry N. Baleev 

All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants,
7 Grina St., Bldg. 1, Moscow, 117216, Russia

Corresponding author: Elena G. Zhnichkova (emili-07@mail.ru)

Abstract

Background: This literature review focuses on the perennial herbaceous plant *Reynoutria sachalinensis*, which belongs to the Polygonaceae family. This species is considered invasive in many countries, and research is ongoing into methods to combat it and its potential use as a medicinal, honey-bearing, ornamental, food and fodder plant. **The aim of the study:** To systematize modern scientific data in the field of the chemical composition of *R. sachalinensis*, the mechanisms of action of its main biologically active compounds and the justification of their therapeutic use. **Materials and methods:** To achieve this goal, an analysis of the sources of national and foreign literature on this issue was carried out for the period from 2000 to 2025. Databases of scientific electronic libraries Google Scholar, eLibrary, PubMed, Web of Science, ScienceDirect, Scopus were used. **Results:** The review summarizes the results of research in the field of studying the chemical composition, biological activity of both various extracts and individual compounds, as well as the mechanisms of action of the main biologically active substances of *R. sachalinensis*. Currently, more than 277 compounds have been isolated and identified from this species. The metabolites of *R. sachalinensis* are phenolic compounds, triterpenoids, nitrogenous compounds, pigments and aliphatic alcohols. Studies in recent decades have shown that total extracts and highly purified fractions of compounds from various organs of *R. sachalinensis* have antioxidant, antiviral, fungicidal, and antitumor activity, inhibitory effects on beta-glucosidase, acarbose, acetylcholinesterase, xanthine oxidase, and neuroprotective properties. Knowledge of the spatial structure of complexes of cellular proteins, membrane receptors, and plant secondary metabolites, as well as their ligands, reveals the mechanism of action of biologically active substances, but does not exclude the need to confirm it and conduct experiments *in vitro* and *in vivo*. **Conclusion:** The plant raw materials of *R. sachalinensis* can be considered as a source of biologically active metabolites with a wide range of uses.

Keywords: *Reynoutria sachalinensis*; secondary metabolites; cytotoxicity; antiviral effect; molecular docking

For citation: Zhnichkova EG, Krol TA, Baleev DN. Secondary metabolites of *Reynoutria sachalinensis* – a potential reserve of pharmacological drugs (review). Research Results in Biomedicine. 2026;12(3):414-438. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-4

Введение. Лекарственные растения играют важную роль в мировом здравоохранении и глобальной экономике [1]. В настоящее время индустрия фитотерапии переживает активный рост [2]. Только в США более 25% рецептурных лекарств содержат активные вещества, полученные из растений [3]. В России доля рынка фитопрепаратов меньше по сравнению со странами Евросоюза [4, 5, 6]. При этом Российская Федерация обладает определенным потенциалом для производства фитопрепаратов [7, 8]. Исследования, проводимые в области поиска и изучения механизма действия вторичных метаболитов лекарственных растений, являются актуальными [9].

Reynoutria sachalinensis (F. Schmidt) Nakai (син. *Polygonum sachalinensis* F. Schmidt ex Maxim., *Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) Ronse Decr.) – Рейнутрия сахалинская – многолетнее травянистое растение высотой до 4 метров с крупными овально-продолговатыми, с сердцевидным основанием и острой или заостренной верхушкой листьями, длина которых варьирует от 15 до 45 см. [10, 11, 12]. Данный вид принадлежит семейству *Polygonaceae* [13]. Корневище утолщенное, ветвистое. Цветки мелкие, собраны в короткие, плотные метелки длиной до 10 см. В природе данный вид распространен на Курильских островах, островах Сахалин, Хоккайдо, Хонсю, Корейском полуострове [11, 14]. Вторичный ареал располагается на территории США, Индии, Австралии, Африки и Европы [11]. Для данного вида характерна полиплоидия. Встречаются популяции с наличием тетраплоидного ($2n=44$), гексаплоидного ($2n=66$), октоплоидного ($2n=88$) и додекаплоидного числа хромосом ($2n=132$) [10, 11, 15].

В 19 веке данный вид был завезен в Европу в качестве декоративного растения [12]. *R. sachalinensis* встречается на территории 29 европейских стран, в 18 из

них считается инвазивным видом [10, 16]. Данный вид не требователен к составу почв и способен расти практически в любых условиях, образуя монодоминантные заросли [15, 17]. Произрастает по берегам рек, на опушках леса, вблизи дорог, на свалках, строительных площадках, железнодорожных насыпях и заброшенных полях. Ведется поиск мер борьбы с этим растением, а также поиск путей его использования [18].

R. sachalinensis используется как лекарственное, медоносное, декоративное, пищевое и нетрадиционное кормовое растение [19]. Возможно его применение в фиторемедиации загрязненных территорий, в пищевой и бумажной промышленности [20, 21]. Экстракты данного вида используют в качестве стимулятора роста растений и фунгицида [22]. Спиртовое извлечение из листьев оказывает стимулирующее действие при прорастании семян и росте растений пшеницы *Triticum aestivum* L. [23]. Из экстракта растений *R. sachalinensis* получен биопестицид [24]. Однако в настоящее время он не был зарегистрирован ни в одной стране ЕС [25]. В Японии и Китае применяется в традиционной медицине [26].

Цель исследования. Данный литературный обзор посвящен систематизации современных научных данных в области химического состава *R. sachalinensis*, изучению механизмов действия его основных биологически активных соединений и обоснованию их терапевтического использования.

Материалы и методы исследования. Для информационно-аналитического поиска использовали научные данные, размещенные на электронных ресурсах Google Scholar, eLibrary, PubMed, Web of Science, ScienceDirect, Scopus. Поиск осуществляли за период с 2000 г. по 2025 г. по ключевым словам: «*Reynoutria sachalinensis*», «*Fallopia sachalinensis*», «giant knotweed», «рейнутрия сахалинская», «ботаническое описание

рейнутрии сахалинской», «экстракт рейнутрии сахалинской», «фенольные соединения рейнутрии сахалинской», «химический состав рейнутрии сахалинской», «фармакологическое действие рейнутрии сахалинской», «цитотоксичность», «противовирусное действие», «антибактериальное действие», «противоопухолевое действие».

Профиль биоактивных соединений

Фитохимические исследования рода *Reynoutria* выявили наличие более

277 химических компонентов [27]. *R. sachalinensis* содержит большое количество разнообразных биологически активных веществ: фенольные соединения (антрахиноны, стильбены, флавоноиды, фенилпропаноиды, проантоцианидины, гидролизуемые танины, фенольные кислоты), каротиноиды, хлорофиллы, тритерпеноиды, азотсодержащие соединения и алифатические спирты (табл. 1) [28, 29].

Таблица 1 (начало)

Вторичные метаболиты *Reynoutria sachalinensis*

Beginning of Table 1

Secondary metabolites of *Reynoutria sachalinensis*

№ п/п	Вторичный метаболит, выделенный из <i>Reynoutria sachalinensis</i>	MW	Орган растения, где синтезируется БАВ	Авторы
Терпены				
1	(E)- β -оцимен	136,2	лист, зараженный <i>Popillia japonica</i>	[34]
2	линалоол	154,2	лист, зараженный <i>Popillia japonica</i>	[34]
3	(E)-4,8-диметил-1,3,7-нонатриен	150,3	лист, зараженный <i>Popillia japonica</i>	[34]
4	(E,E)- α -фарнезен	204,3	лист, зараженный <i>Popillia japonica</i>	[34]
Тритерпеноиды				
5	β -амирин	426,7	стебель, цветок	[35]
6	урсоловая кислота	456,7	стебель, лист, корневище	[36]
7	олеаноловая кислота	456,7	стебель, лист, корневище	[36]
8	бетулиновая кислота	456,7	стебель, лист, корневище	[36]
Стероиды				
9	кампестерол	400,7	стебель, цветок	[35]
10	эргостеролпероксид	428,6	стебель, цветок	[35]
11	даукостерол	576,9	стебель, цветок	[35]
Стильбены				
12	ресвератрол	228,2	корневище	[30, 32, 36]
13	ресвератрол-гексозид	390,4	корневища	[30]
14	полидатин	390,4	корневище, корень	[31, 37]
15	пицеид	390,4	стебель, лист, корневище	[26, 30, 32, 37]
16	ресвератролозид	390,4	стебель, корневище	[26, 30, 31, 32]
17	пицеатаннола-3-O- глюкозид	406,4	корневище	[26, 30, 31]
18	ресвератрол-галлоил-глюкозид	542,5	корневище	[26]
Фенилпропаноиды				
19	коричная кислота	148,2	надземная часть	[33]
20	лапатолизид D	634,6	корень	[38, 39]
21	гидропиперозид	780,7	стебель, цветок, корень	[31]
22	лапатолизид C	810,7	корень	[38, 39]
23	ваникозид C	822,8	стебель, корень	[31]
24	ваникозид B	954,9	стебель, корень	[12, 31]
25	лапатолизид A	986,9	корень	[38, 39]
26	ваникозид A	998,9	корень	[38, 39]

Таблица 1 (продолжение)
Continuation of Table 1

Вторичные метаболиты *Reynoutria sachalinensis*
Secondary metabolites of *Reynoutria sachalinensis*

№ п/п	Вторичный метаболит, выделенный из <i>Reynoutria sachalinensis</i>	MW	Орган растения, где синтезируется БАВ	Авторы
Флавоноиды				
Производные лютеолина				
27	лютеолин-7-О-рамнозид	432,4	лист	[26]
28	лютеолин-7-О-галактозид	448,4	стебель, лист	[26]
29	лютеолин-7-О-глюкозид	448,4	стебель, лист	[26, 31]
Производные кемпферола				
30	кемпферол-3-О-глюкозид	448,4	стебель, лист, корневище	[31]
Производные кверцетина				
31	кверцетин	302,2	стебель, лист, цветок	[26, 31, 35]
32	кверцетин пентозид	434,3	стебель, лист	[26, 31]
33	кверцетин-3-О-арабинопиранозид	434,3	цветок	[40]
34	кверцетин-3-О- α -арабинофуранозид	434,3	цветок	[40]
35	кверцетин-3-рамнозид	448,4	стебель, лист	[31]
36	кверцетин 3- β -D-глюкозид	464,4	цветок	[35, 40]
37	кверцетин-3-О- α -D-галактопиранозид	464,4	цветок	[40]
38	кверцетин-ацетилгексозид	506,4	стебель, лист	[36]
39	кверцетин-3-О-рамнозид-глюкозид	610,5	стебель, лист	[36]
Флаван-3-олы				
40	катехин	290,3	стебель, лист, корень,	[29, 36, 41]
41	эпикатехин	290,3	лист, корень,	[29, 41]
42	эпикатехин-3-О-галлат	442,4	стебель, лист, корневище	[29, 30, 31, 41]
43	катехин галлат	442,4	стебель, лист, корень	[29, 36, 41]
44	катехин глюкозид	452,4	стебель, лист, корень	[36]
45	галлокатехин галлат	458,4	лист, корень	[29, 41]
46	димер процианидина, тип В	578,1	стебель, лист, корневище	[26, 29, 30, 31, 41]
47	димер процианидина галлат	730,6	корневище	[30, 41]
48	тример процианидина, тип В	866,8	лист, корневище	[29, 30, 41]
49	димер процианидина дигаллат, тип В	882,2	лист, корневище	[30, 41]
50	тример процианидина галлат	1018,2	корневище	[30]
51	тетрамер процианидина, тип В	1154,3	стебель, лист, корневище	[26, 30, 41]
52	тример процианидина дигаллат	1170,2	корневище	[30]
53	тетрамер процианидина галлат	1306,3	лист, корневище	[30, 41]
54	пентамер процианидина	1442,3	лист, корневище	[30, 41]
55	пентамер процианидина галлат	1594,3	лист, корневище	[41]
56	октамер процианидина	2306,5	лист, корневище	[30, 41]
57	гептамер процианидина	2018,5	лист, корневище	[30, 41]
58	неамер процианидина	2594,6	лист, корневище	[41]
59	декамер процианидина	2882,6	лист, корневище	[41]

Таблица 1 (окончание)

Вторичные метаболиты *Reynoutria sachalinensis*

End of Table 1

Secondary metabolites of *Reynoutria sachalinensis*

№ п/п	Вторичный метаболит, выделенный из <i>Reynoutria sachalinensis</i>	MW	Орган растения, где синтезируется БАВ	Авторы
Гидролизуемые танины				
60	моногаллоил-глюкоза	332,3	стебель, лист, корень	[26]
Фенольные кислоты				
61	галловая кислота	170,1	надземная часть, корень	[33]
62	кафтаровая кислота	312,2	стебель, лист, корневище	[26]
63	<i>p</i> -кумароилхинная кислота	338,3	стебель, лист, корневище	[26]
64	неохлорогеновая кислота	354,3	надземная часть, стебель, лист, корневище	[26, 33]
65	ди- <i>O</i> -кофеоилхинная кислота	516,5	стебель, лист, корневище	[26]
66	ферулоилхинная кислота	368,3	стебель, лист, корневище	[26]
Хиноны				
67	торахризон	246,3	стебель, корень	[31]
68	эмодин	270,2	корень	[31, 37]
69	фисцион	284,3	корень	[37]
70	квестин	284,3	корень	[31]
71	торахризон глюкозид	408,4	корневище	[38, 42]
72	эмодин-8- <i>O</i> - β -D-глюкопиранозид	432,4	стебель, цветок, корень	[30, 35, 37, 38, 42]
73	фисцион-8- <i>O</i> - β -D-глюкопиранозид	446,4	корень	[37, 42]
74	эмодин-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -малонил)-D-глюкозид	518,4	стебель, корневище	[31]
Диантроны				
75	эмодин диантрон	510,5	корневище	[42]
76	фаллопион	524,5	корневище	[42]
77	фисцион диантрон	538,5	корневище	[42]
каротиноиды и их производных				
78	неохром	600,9	лист, корневище	[36]
79	лютеин-5,6 эпоксид	584,9	лист, корневище	[36]
80	лютеин	568,9	лист, корневище	[36]
81	зеаксантин	568,9	лист, корневище	[36]
82	виолаксантин	600,9	лист, корневище	[36]
83	каротин	536,9	лист, корневище	[36]
азотсодержащие соединения				
84	<i>N</i> - транс -ферулоилтирамин	313,3	корневище	[30]
85	<i>N</i> -ферулоил-метокситирамин	343,4	корневище	[30]
алифатические спирты				
86	1-деканол	158,3	стебель, цветок	[35]

По данным Nawrot-Hadzik I. фракция этилацетата наиболее богата полифенолами (640,7 мг/г) и танинами (528,3 мг/г) [30]. Содержание стильбенов в корневище *R. sachalinensis* составляет до 27,04 мг/г, в том числе содержание транс-полидатына – 17,06 мг/г [31]. В молодых весенних побегах накапливается 154 мг/кг

ресвератролозида, 64 мг/кг сухой массы пiceiда и 68 мг/кг сухой массы ресвератрола [32]. Ваникозид В и С в корнях накапливается до 21,5 и 6,5 мг/г сухого вещества соответственно, а стеблях – 14,3 и 0,6 мг/г сухого вещества [31]. По данным Stafiniak M. с соавторами для *R. sachalinensis* характерно более

высокое содержание гидропиперозида, ваникозидов, чем в *R. japonica* и *R. x bohemica* [18]. В надземной части преобладают неохлорогеновая кислота и рутин [33]. Содержание галловой кислоты в надземной части достигает 21,99 мг/кг, что в 3,3 больше по сравнению с корневищем [33]. В листьях *R. sachalinensis* кверцитрин является основным соединением (до 13,96 мг/г сухого вещества) [31]. По данным Vrchotova N. с соавторами содержание катехина и эпикатехина в молодых весенних побегах достигает 167 и 674 мг/кг сухой массы соответственно [32].

В настоящее время основные исследования направлены на изучение

фитохимического состава корневища [29].

Молекулярный докинг вторичных метаболитов R. sachalinensis

Зная пространственную структуру комплексов клеточных белков, мембранных рецепторов и растительных вторичных метаболитов, их лигандов можно предположить механизм их действия, используя молекулярный докинг.

Эфиры фенилпропаноиддисахаридов, присутствующие у *Reynoutria* с преобладающим количеством ваникозидов В и А (рис. 1), до сих пор остаются малоизученными химическими веществами с точки зрения их биологической активности.

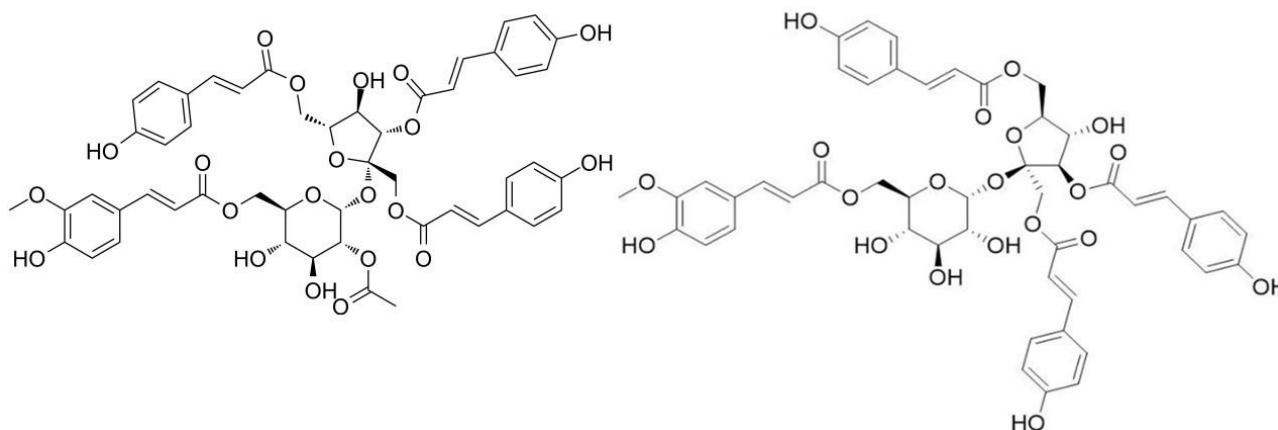


Рис. 1. Химическая структура ваникозида А (слева) и ваникозида В (справа) из *R. sachalinensis*

Fig. 1. Chemical structure of vanicoside A (left) and vanicoside B (right) from *R. sachalinensis*

Для оценки возможного противоопухолевого действия проводили молекулярный докинг ваникозидов А и В с активным центром киназы BRAFV600E (ключевой онкоген с мутацией, неправильный сигналинг BRAF из-за мутации V600E может приводить к

избыточной клеточной пролиферации и к ошибочной устойчивости к апоптозу) и MEK-1 (MAP-extracellular regulated kinase) (программное обеспечение GOLD, версия 5.7.2, Кембриджский центр кристаллографических данных, Кембридж, Великобритания) [43] (табл. 2).

Таблица 2

Взаимодействие ваникозидов А и В с киназами BRAF (V600E) и MEK1 [43]

Table 2

Interaction of vanicosides A and B with BRAF (V600E) and MEK1 kinases [43]

Цель	Лигандные взаимодействия	Ваникозид А	Ваникозид В
Киназа BRAF(V600E) (лиганд: PLX4032)	Asp594, Phe595, Trp531	Asp594, Cys532, Thr529, Ser465	Asp594, Cys532, Lys483, Asn581
Киназа MEK-1 (лиганд: UCB135377)	Lys97, Asp208, Val211, Ser212	Lys97, Asp208, Ser194, Asn195, Cys207	Lys97, Asp208, Ser194, Asn195, Glu144

Ваникозиды А и В образуют четыре водородные связи с остатками киназы BRAF. Среди них присутствует взаимодействие с остатком Asp594, и это является решающим взаимодействием в случае исходного лиганда. Известно, что аминокислотные остатки Lys483 и Cys532 являются важными для связывания потенциальных ингибиторов BRAF [43].

Ваникозид В взаимодействует с ними обоими, тогда как ваникозид А только с Cys532. В случае MEK1 оба ваникозида образуют пять водородных связей с этой киназой. Эти результаты позволяют предположить, что оба ваникозида можно рассматривать как потенциальные ингибиторы этих мишеней, а также проводить дальнейшие экспериментальные испытания [44].

Аналогичный эффект наблюдался и в отношении главной протеазы *Mpro SARS-CoV-2* (3CL pro), которая признана ключевой мишенью для профилактики и лечения инфекционных заболеваний, вызванных коронавирусами.

Биологически активные соединения *R. sachalinensis* были пристыкованы к сайту связывания протеазы *SARS-CoV-2* и рассчитано среднеквадратичное отклонение с наилучшим положением и закреплением лиганда (RMSD = 1.6369 Å). В таблице 3 представлены лучшие ингибиторы протеазы (общие взаимодействия с лигандом отмечены жирным шрифтом), балл стыковки больше 90. Известно, чем больше водородных и π -связей, тем устойчивее комплекс [43].

Таблица 3

Взаимодействие некоторых вторичных метаболитов *R. sachalinensis* с *Mpro SARS-CoV-2* [45]

Table 3

Interaction of some secondary metabolites of *R. sachalinensis* with *Mpro SARS-CoV-2*

№ п/п	Ингибитор <i>Mpro</i>	Лигандные взаимодействия
1	ваникозид А	Водородные связи: Cys145, Glu166, Gln189, Thr190 , Thr26; π -связи: His41 , Leu27.
2	ваникозид В	Водородные связи: Cys145, Gln189 , His164, Asn142, Leu141, Tyr54, Cys44; π -связи: His41 , Met165
3	эмодин	Водородные связи: Cys145, Glu166 , Met165, Tyr54, His41; π -связи: His41 ; Met165
4	ресвератрол	Водородные связи: Gln 192; π -связи: His41 , Pro168, Met165
5	пицеид	Водородные связи: Cys145 , Gln192 π -связи: His41 , Met165, Pro168
6	эпикатехин	Водородные связи: Ser144, Glu166, Gly143 , His164, Thr190 π -связи: Met165, His163, Cys145

Недавние исследования с использованием молекулярного докинга показали, что стильбены в целом и ресвератрол в том числе, могут быть использованы для лечения *COVID-19* [46].

Стильбены, действуя как ингибитор на рецептор ACE2 (ангиотензин-превращающий фермент II), который является функциональным клеточным рецептором для коронавирусов *SARS-CoV* и *SARS-CoV-2* (*COVID-19*), а также *HCov-NL63* [47, 48, 49], предотвращают

образование комплекса S1:ACE2 и проникновение вируса в клетки хозяина.

Исследования молекулярного докинга, проведенные Maroli N. [50], показали, что процианидины также могут быть потенциальными ингибиторами *Mpro SARS-CoV-2*, а также ACE2 [51, 52, 53, 54, 55].

Биологическая активность экстрактов R. sachalinensis

Спиртовые и водные экстракты *R. sachalinensis* традиционно используют в странах Восточной Азии для лечения

артралгий, кашля, желтухи, аменореи, ожогов, травм, карбункулов и язв [35]. А другой близкий вид семейства Polygonaceae – *R. japonica* на протяжении многих лет применяют при различных хронических заболеваниях из-за его

антиоксидантных, противовоспалительных и противоопухолевых свойств [56]. Вторичные метаболиты *R. sachalinensis* могут стать источниками для разработки компонентов различных терапевтических препаратов (табл. 4).

Таблица 4 (начало)

Биологическая активность некоторых экстрактов и фракций *R. sachalinensis*

Beginning of Table 4

Biological activity of some extracts and fractions of *R. sachalinensis*

Экстракт	Орган растения	Вторичный метаболит	Биологический объект/метод	Механизм действия	Авторы
<i>антиоксидантная активность</i>					
метанольный экстракт	цветок	флавоноиды	метод удаления свободных радикалов; супероксидных радикалов; Cu^{2+} -опосредованного окисления липополипротеинов низкой плотности	антиоксидантная активность основана на способности поглощать радикалы (ABTS) и радикалы кислорода (ORAC).	[30, 33, 40]
метанольный экстракт	надземная часть	галловая кислота, хлорогеновая кислота, транскоричная кислота, рутин, гиперозид и изокверцитрин			
метанольный экстракт	корневище	галловая кислота и 6,7-дигидроизофлаван			
ацетоновый экстракт и этилацетатная фракция	корневище	проантоцианидины			
<i>нейропротекторное действие</i>					
фракция н-гексана	стебель	деканол, кампестерол, пероксид эргостерола, кверцетин и изокверцитрин	клетки HT22 (иммортиализованные клетки гиппокампа мыши)	нейропротекторная активность связана с антиоксидантной активностью	[35]
этилацетатная фракция	цветок				
<i>антигликооксидантные свойства</i>					
ацетоновый экстракт и фракции (этилацетат, диэтиловый эфир)	корневище	фенилпропаноидные дисахаридные эфиры, свободные и олигомерные флаван-3-олы	флуорисцентный анализ трех этапов гликирования: реакция гликирования (ранняя и поздняя); окисление бычьего или человеческого альбумина и агрегация β -амилоида; измерение карбонильных групп белков модифицированным методом Райс-Эванса; измерение тиоловых групп	ингибирует гликирование белков, защищает белки от окисления и образования β -амилоида	[57]

Таблица 4 (окончание)

Биологическая активность некоторых экстрактов и фракций *R. sachalinensis*
End of Table 4
Biological activity of some extracts and fractions of *R. sachalinensis*

Экстракт	Орган растения	Вторичный метаболит	Биологический объект/метод	Механизм действия	Авторы
			модифицированным методом Элмана; определение агрегации β -амилоида с помощью тиофлавина Т и определение с помощью конго красного		
<i>противовирусное действие</i>					
метанольный экстракт	корневище	ваникозиды А и В	клетки RD (эмбриональная рабдомиосаркома), PVI (энтеровирус, полиовирус), EV-A71 (энтеровирус), EV-D68 (энтеровирус), COVID-19	ингибиторование протеаз вируса и рецептора ACE (мембранный белок, экзопептидаза, катализирующая превращение ангиотензина)	[45, 58]
<i>противоопухолевая активность</i>					
ацетоновый экстракт	корневище	ваникозиды А и В	клетки A375, C32 (меланома человека), MCF (Michigan Cancer Foundation – эпителиоподобная клеточная линия, полученная из инвазивной аденокарциномы протоков молочной железы человека)	- ваникозиды, из-за наличия глюкозы в молекуле, могут конкурировать с глюкозой за доступ к GLUT, что приводит к снижению поглощения глюкозы раковой клеткой - индукция апоптоза - в отдельных случаях индукция апоптоза и некроза одновременно - способствуют окислительному стрессу в раковых клетках	[43, 59, 60]

Антиоксидантная активность и нейропротекторное действие. Описана антиоксидантная активность метанольных экстрактов различных органов *R.*

sachalinensis [39]. Исследование антиоксидантной активности методом ВЭЖХ показало, что и надземная часть, и корни имеют антиоксидантный потенциал,

который составляет $3,85 \pm 0,09$ и $3,59 \pm 0,09$ мг/г в эквиваленте Тролокса соответственно [33]. За антиоксидантную активность отвечают различные биологически активные соединения, содержащиеся в данном виде. Так, выделенные из метанольного экстракта цветков *R. sachalinensis* флавоноиды кверцетин-3-О- α -L-арабинофуранозид, кверцетин-3-О- β -D-галактопиранозид и кверцетин-3-О- β -D-глюкуронопиранозид показали значительную антиоксидантную активностью со значениями IC_{50} 64,3, 54,7 и 46,2 мкМ (удаление DPPH), значениями IC_{50} 6,0, 6,7 и 4,4 мкМ (удаление супероксидных радикалов) и значения IC_{50} 3,8, 3,2 и 5,4 мкМ против окисления липопротеинов низкой плотности соответственно [40]. Эмодин, фисцион, квестин и их производные также обладают антиоксидантной активностью [31]. Nawrot-Hadzik I. с соавторами показал, что проантоцианидины, представляющие собой фенольные полимеры, в основном состоящие из субъединиц флаван-3-ола, также вносят значительный вклад в общую антиоксидантную способность [30], что может быть обусловлено их восстановительной способностью, связанной с лабильными фенольными гидроксильными группами [61].

В настоящее время профилактика с помощью антиоксидантов является одной из самых инновационных терапевтических стратегий при нейродегенеративных заболеваниях [62]. Eom M. с соавторами также связывают нейропротекторную активность, таких соединений как 1-деканол, кампестерол, пероксид эргостерола, кверцетин и изокверцитрин, выделенных из *R. sachalinensis*, с антиоксидантной способностью, так как эти соединения снижают уровень активных форм кислорода, а также показали антиоксидантную активность с радикалом DPPH и в анализе поглощения H_2O_2 [35].

Известно, что ключевую роль в развитии болезни Альцгеймера играет избыточная продукция и накопление β -амилоидного пептида, являющегося

основным компонентом сенильных бляшек в ткани мозга. Данный пептид имеет широкий спектр нейротоксических эффектов, включающий окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию, нарушение работы ионного транспорта, синаптическую дисфункцию, апоптоз нейронов [63, 64].

В работе Li W. с соавторами показано, что эмодин, который является производным антрахинона и характерен для многих видов семейства Polygonaceae, может быть перспективным кандидатом для лечения болезни Альцгеймера, за счет способности данного соединения препятствовать апоптозу клеток, вызванному β -амилоидом 1-42 *in vitro*, и β -амилоидом *in vivo* у трансгенных мышей APP/PS1. Авторы связывают эти эффекты также с антиоксидантной активностью эмодина [49]. Антиоксидантные свойства катехинов, содержащиеся в листьях, стеблях и корнях рейнунтрии сахалинской, защищают от нейродегенеративных заболеваний [65] за счет удаления свободных радикалов и регулирования реакции на окислительный стресс [66]. Эпигаллокатехингаллат способствует нейрогенезу гиппокампа взрослого человека, а также играет важную роль в развитии нервной системы и в формировании связей между нейронами [67].

Противовирусная активность. Противовирусная активность *R. sachalinensis* во многом обусловлена содержанием в различных органах данного вида таких соединений, как эмодин, ресвератрол, ваникозид В и катехинов. Противовирусное действие ресвератрола связано с подавлением внутриклеточного сигнального пути, центральным компонентом которого является транскрипционный фактор NF- κ B (nuclear factor κ B) [68]. Активность эпигаллокатехин галлата связывают с наличием пирогаллольных и галлоильных фрагментов [69].

Вирус простого герпеса человека. Для эмодина, извлеченного из корневища

R. japonica, была обнаружена ингибирующая активность в отношении вируса простого герпеса человека типа 1 у морских свинок [70]. Эпикатехин и эпикатехин-3-галлат также показали высокий уровень ингибирующей активности [71]. Ресвератрол и флавоноиды, относящиеся к стильбенам, могут подавлять репликацию вирусов путем снижения количества вирусных адгезивных клеток и ингибирования реактивации вируса [72]. Установлено, что ресвератрол в отношении вируса простого герпеса типа 1 влияет на экспрессию вирусных генов, синтез ДНК в эпителиальных клетках и регулирует путь серин/треонинкиназа AMP-активируемая протеинкиназа-Sirtuin1 (SIRT1), предотвращая апоптоз в нейронах [73].

Вирус Эпштейна-Барр (гаммагерпесвирус человека 4). Эпигаллокатехин галлат при использовании в концентрациях выше 50 М эффективно подавляет экспрессию литических белков вируса Эпштейна-Барр, но не влияет на экспрессию EBNA-1 [74]. Спиртовой экстракт другого близкого вида (*R. japonica*) ингибирует литический цикл и снижает выработку вирусных частиц [75].

Вирус Коксаки В4. В работе Liu Z. с соавторами показано, что эмодин, выделенный из *R. japonica*, в зависимости от концентрации и времени способен ингибировать проникновение и репликацию вируса Коксаки В4 [76].

Коронавирусы. Как известно инфекция SARS-CoV-2 начинается с проникновения вируса в клетку посредством взаимодействия вирусного белка Spike (S) с рецептором клеточной поверхности ACE2 (ангиотензинпревращающий фермент 2) и праймирования белка S клеточной протеазой TMPRSS2 (трансмембранная сериновая протеаза 2) [77]. Протеолитическая обработка белка S TMPRSS2 приводит к образованию фрагментов S1 и S2, которые остаются нековалентно связанными. Полипептид S1

взаимодействует с рецептором ACE2 через домен связывания рецептора (RBD), а полипептид S2 облегчает слияние вируса с клеточной мембраной [78]. Интернализированный вирус транслирует РНК-геном в полипептид, за которым следует высокорегулируемая и скоординированная протеолитическая обработка основной протеазой (Mpro/3CLpro), химотрипсин-подобной протеазой, и расщепление субстратных полипептидов [79, 80]. Блокирование процесса созревания вирусных полипротеинов нарушает репликацию вируса в клетках-хозяина [81], поэтому вирусные и клеточные белки представляют собой мишени, воздействуя на которые становится возможным лечение и профилактика SARS-CoV-2.

Установлено значительное ингибирование Mpro SARS-CoV-2 при действии ацетонового экстракта *R. sachalinensis*, характеризующегося высоким содержанием процианидинов и фенилпропаноидных эфиров дисахарида [45, 51, 82, 83].

Бутанольные фракции *R. sachalinensis* показали ингибирование Mpro SARS-CoV-2 с IC₅₀ = 4,031 мкг/мл [45]. В работе Yang M. с соавторами показано, что ресвератрол способен значительно ингибировать репликацию SARS-CoV-2 с EC₅₀ = 4,48 мкМ [84]. Водные и этанольные экстракты *R. japonica* значительно ингибируют проникновение псевдовируса SARS-CoV-2 за счет блокирования взаимодействия белка ACE2/S и ингибирования протеазы 3CL [85].

Эмодин способен ингибировать взаимодействие спайкового белка SARS-CoV и человеческого ACE2 [52] и нарушать выход вируса SARS-CoV и HCoV-OC43, благодаря блокировке ионного канала, посредством которого происходит высвобождение вируса из инфицированной клетки [86].

Эпигаллокатехин галлат отвечает за подавление активности главной протеазы в SARS-CoV-2 и репликации вируса

in vitro [87]. Ваникозид В также оказывает умеренное ингибирующее действие на протеазы вируса SARS-CoV-2 [45].

Установлено, что олигомерные проантоцианидины обладают ингибирующей активностью в отношении протеиназы TMPRSS2 [88].

Вирус иммунодефицита человека. Ресвератрол и эмодин-8-О-β-D-глюкозид способны ингибировать образование синцития, вызванное ВИЧ-1 с EC₅₀ = 4,37 и 11,29 мкг/мл соответственно [89, 90]. Эпигаллокатехин галлат является ингибитором обратной транскриптазы ВИЧ, ингибирует проникновение ВИЧ в клетки-мишени и вызывает снижение способности вирионов инфицировать клетки [91].

Вирус гепатита С. В работе Calland N. с соавторами показано, что (2)-эпигаллокатехин-3-галлат, эпикатехин-3-галлат и эпигаллокатехин обладают противовирусной активностью HCV на ранней стадии жизненного цикла вируса [92]. Установлено, что (-)-эпигаллокатехин-3-галлат подавляет вирус, прикрепляясь к целевой клетке и предотвращая распространение инфекции на другие клетки [92].

Энтеровирус. Эпигаллокатехин галлат и галлокатехин галлат способны подавлять репликацию энтеровируса EV71. Установлено, что ваникозид В защищает клетки RD (эмбриональная рабдомиосаркома) от EV-A71 и EV-D68 при концентрации 20 мкМ [45], а также является ингибитором активности фермента, необходимого для репликации EV.

Полиовирус. В работе Arita M. указывается, что ваникозид В, выделенный из метанольного экстракта корня *R. sachalinensis*, обладает антиполиовирусным действием [46, 93], ингибируя фермент PI4KB (фосфатидилинозит-4-киназа бета), который является его прямой мишенью [93]. Однако антипролиферативный эффект на лимфоциты [94] и летальность у мышей [95] вызывают сомнения по поводу

безопасности использования соединения *in vivo*.

Противоопухолевая активность и цитотоксическое действие. Известно действие ваникозидов А и В, выделенных из корневищ *Reynoutria sachalinensis*, на две линии клеток меланомы человека (амеланотическая – С32 и меланотическая – А375, которые содержали эндогенную мутацию BRAFV600E) и две нормальные клеточные линии человека (кератиноциты (HaCaT) и фибробласты). Ваникозид А (5,0 мкМ) показал более сильную цитотоксичность в отношении клеточной линии С32, при этом жизнеспособность клеток снизилась на 45% уже после 72-часовой инкубации, что возможно объясняется дополнительной ацетильной группой в молекуле [43].

Механизм действия ваникозидов на клетки меланомы более сложный, чем просто индукция апоптоза [60]. В некоторых случаях, таких как повреждение клеток кислородными радикалами, два механизма гибели клеток – апоптоз и некроз – происходят одновременно. Кроме того, ваникозиды, как и другие полифенолы, могут способствовать окислительному стрессу в раковых клетках [60].

Ваникозиды вызывают гибель клеток меланомы в концентрациях от 2,5 до 50 мкМ, не нанося вреда первичной линии фибробластов. Линия клеток кератиноцитов HaCaT более чувствительна к ваникозидам, чем фибробласты, показывая явное снижение жизнеспособности после инкубации с 25 мкМ ваникозидов А, но без измеримой флуоресценции, связанной с гибелью клеток. Поэтому необходимы дальнейшие исследования, чтобы гарантировать селективность в отношении раковых клеток и безопасность [43].

В настоящее время известно, что ваникозиды проявляют цитотоксичность и на клеточную линию MCF (Michigan Cancer Foundation – эпителиоподобная клеточная линия, полученная из инвазивной аденокарциномы протоков молочной

железы человека) при субмикромольных дозах [96]. А Ваникозид В ингибирует двухэтапный канцерогенез опухоли кожи у мышей, индуцированной 12-О-тетрадеcanoилфорбол-13-ацетатом, путем подавления активности фермента циклин-зависимой киназы [97].

Прочие виды активности. Фенилпропаноидные гликозиды ваникозидов А и В обладают ингибирующим действием на β -глюкозидазу [40, 58], метанольный экстракт и изокверцитрин ингибируют активность ацетилхолинэстеразы и α/β -глюкозидазы [35, 39], метанольные экстракты корней и листьев – активность ксантиноксидазы [98], 3-О- β -D-галактопиранозид кверцетина, лапатолизид D и N-транс-ферулоилтирамин – активность акарбозы [39], торахризон и торахризонглюкозид способны ингибировать α -амилазу [31]. Эмодин, фисцион, квестин и их производные обладают противомикробной и противовоспалительной активностью [31].

Таким образом, растительное сырье вида *R. sachalinensis* можно рассматривать как источник биологически активных метаболитов, имеющих подтвержденный широкий спектр использования, в том числе противовирусное и противоопухолевое средство, но необходимы дальнейшие работы по выделению и наработке значимых вторичных метаболитов и оценке их механизма действия *in vitro* и *in vivo*.

Информация о финансировании

Работа выполнена согласно государственному заданию в ФГБНУ ВИЛАР «Исследование механизма синтеза конденсированных таннинов лекарственных растений и их биоактивные свойства FGUU-2025-0005».

Financial support

This work was carried out as part of the government-funded research project 'Investigation of the Synthesis Mechanism of Condensed Tannins in Medicinal Plants and Their Bioactive Properties' (FGUU-2025-

0005) at the Federal State Budgetary Scientific Institution "All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants" ..

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Ahmadu T, Ahmad K. An Introduction to Bioactive Natural Products and General Applications. In: Pal D, Nayak AK, editors. Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications. Advanced Structured Materials. Cham: Springer; 2021. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-54027-2_2
2. Bhattacharjee B, Sandhanam K, Ghose S, et al. Market Overview of Herbal Medicines for Lifestyle Diseases. In: Dhara AK, Mandal SC, editors. Role of Herbal Medicines. Singapore: Springer; 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-99-7703-1_30
3. Bareetseng S. The worldwide herbal market: trends and opportunities. Journal of Biomedical Research and Environmental Sciences. 2022;3(5):575-584. DOI: <https://doi.org/10.37871/jbres1482>
4. Коротченко СЕ, Побыванец РИ, Карташов ЕВ. Современные тенденции и возможности производства растительных лекарственных препаратов в России. В: Волков АА, Тюрина ЕА, Усова МВ, редакторы. Новая экономика, бизнес и общество. Материалы Апрельской научно-практической конференции молодых учёных, Владивосток; 23 марта - 16 2023 г. Владивосток: Дальневосточный федеральный университет; 2023. DOI: <https://doi.org/10.24866/7444-5516-3>
5. Буданцев АЛ. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растений, их компонентный состав и биологическая активность. Дополнения к 1 тому. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК; 2018.
6. Сафонова НВ, Трофимова ЕО. Обзор российского рынка растительных препаратов [Электронный ресурс]. Ремедиум. 2021 [дата обращения: 15.10.2023];3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/obzor-rossiyskogo-rynka-rastitelnyh-preparatov>
7. Тихомирова ЛИ, Щербакова ЛВ, Ильчева ТН, и др. Получение лекарственного

- растительного сырья с заданным химическим составом и антибактериальной активностью. Химия растительного сырья. 2021;2:309-318. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021029043>
8. Беленовская, ЛМ, Буданцев АЛ, Битюкова НВ. *Gynostemma pentaphyllum* (Cucurbitaceae): компонентный состав и биологическая активность. Растительные ресурсы. 2018;54(4):443-495. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0033994618040015>
9. Ларикова ЮС, Маликова НА. Вторичные метаболиты лекарственных растений. Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. 2022;6:138-141.
10. Vinogradova Y, Kuklina A, Ryabchenko A. Taxonomic Characteristics of Vegetative Organs for Invasive Species of *Reynoutria* Hook. Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality. 2021;5(1):160-168. DOI: <https://doi.org/10.15414/ainhlq.2021.0015>
11. Park CW, Bhandari GS, Won H, et al. Polyploidy and introgression in invasive giant knotweed (*Fallopia sachalinensis*) during the colonization of remote volcanic islands. Scientific Reports. 2018;8(1):16021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34025-2>
12. Kato-Noguchi H. Allelopathy of knotweeds as invasive plants. Plants. 2021;11(1):3. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/plants11010003>
13. Raman G, Park KT, Nam GH, et al. Characterization of the complete chloroplast genome sequence of the giant knotweed, *Fallopia sachalinensis* from the volcanic island Dokdo, Republic of Korea. Mitochondrial DNA Part B: Resources. 2019;4(2):2972-2973. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/23802359.2019.1663769>
14. Békési-Kallenberger H, Horváth G, Bencsik T, et al. Comparative Histological and Phytochemical Study of *Fallopia* species. Natural Product Communications. 2016;11(2):251-254.
15. Drazan D, Smith AG, Anderson NO, et al. History of knotweed (*Fallopia spp.*) invasiveness. Weed Science. 2021;69(6):617-623. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/wsc.2021.62>
16. Воронкова НМ, Холина АБ, Журавлев ЮН, и др. Размножение растений российского Дальнего Востока. Владивосток: ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН; 2023.
17. Dusz MA, Martin FM, Dommanget F, et al. Review of Existing Knowledge and Practices of Tarping for the Control of Invasive Knotweeds. Plants. 2021;10(10):2152. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10102152>
18. Stafiniak M, Bielecka M, Kujawa K, et al. Integrative morphological, phytochemical, and molecular identification of three invasive and medicinal *Reynoutria* species. Scientific Reports. 2025;15(1):6001. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-90494-2>
19. Cirlig N, Iurcu-Straistaru E, Titey V, et al. Assessment of the specific diseases in *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai Under the Influence of Environmental conditions of the republic of Moldova. Scientific Papers Series A. Agronomy. 2023;66(1):279-285.
20. Kim YJ, Park K, Jang BK, et al. Classification of dormancy types and breakout conditions in *Reynoutria sachalinensis* exhibiting seed dormancy polymorphism. Horticulture, Environment, and Biotechnology. 2024;65:997-1007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13580-024-00626-2>
21. Lu X, Yamaji K, Haruma T, et al. Metal Accumulation and Tolerance in *Artemisia indica* var. *maximowiczii* (Nakai) H. Hara. and *Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) Ronse Decr., a Naturally Growing Plant Species at Mine Site. Minerals. 2021;11(8):806. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/min11080806>
22. Bailey JP, Conolly AP. Prize-winners to pariahs-a history of Japanese knotweed sl (Polygonaceae) in the British Isles. Watsonia. 2000;23:93-110.
23. Šerá B, Doshi P, Věchet L. Extracts from the leaves of knotweeds (*Reynoutria spp.*) have a stimulating effect on the germination and initial growth of wheat grains. Science of Nature. 2024;111(6):61. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00114-024-01946-0>
24. European Food Safety Authority (EFSA). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Reynoutria sachalinensis* extract. EFSA Journal. 2015;13(9):4221. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4221>
25. Margaritopoulou T, Toufexi E, Kizis D, et al. *Reynoutria sachalinensis* extract elicits SA-dependent defense responses in courgette genotypes against powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii*. Scientific Reports. 2020;10:3354. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60148-6>
26. Lachowicz S, Oszmiański J, Wojdyło A, et al. UPLC-PDA-Q/TOF-MS identification of bioactive compounds and on-line UPLC-ABTS

assay in *Fallopia japonica* Houtt and *Fallopia sachalinensis* (F.Schmidt) leaves and rhizomes grown in Poland. European Food Research and Technology. 2019;245:691-706. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3191-4>

27. Zhang ZL, Li YZ, Wu GQ, et al. A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Reynoutria* genus. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2022;74(12):1718-1742. DOI: <https://doi.org/10.1093/jpp/rgac068>

28. Pogačnik L. Bioactive substances from invasive knotweed species. Journal of EcoAgriTourism. 2020;16(1):21-25.

29. Bensa M, Glavnik V, Vovk I. Leaves of invasive plants – Japanese, Bohemian and giant knotweed – the promising new source of flavan-3-ols and proanthocyanidins. Plants. 2020;9(1):118. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9010118>

30. Nawrot-Hadzik I, Slusarczyk S, Granica S, et al. Phytochemical diversity in rhizomes of three *Reynoutria* species and their antioxidant activity correlations elucidated by LC-ESI-MS/MS analysis. Molecules. 2019;24(6):1136. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24061136>

31. Suprun AR, Kiselev KV, Aleynova OA, et al. Analysis of Phenolic Compounds of *Reynoutria sachalinensis* and *Reynoutria japonica* Growing in the Russian Far East. Plants. 2024;13(23):3330. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13233330>

32. Vrchotová N, Šerá B, Tríska J. The stilbene and catechin content of the spring sprouts of *Reynoutria* species. Acta Chromatographica. 2007;19:21-28.

33. Alrikabi AY, Protska V, Burda N, et al. The Study of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Raw Materials of *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai. ACTA Pharmaceutica Scientia. 2021;59(4):549-558 DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13233330>

34. Noge K, Abe M, Tamogami S. Phenylacetonitrile from the giant knotweed, *Fallopia sachalinensis*, infested by the Japanese beetle, *Popillia japonica*, is induced by exogenous methyl jasmonate. Molecules. 2011;16(8):6481-6488. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules16086481>

35. Eom MR, Weon JB, Jung YS, et al. Simultaneous Determination of Four Compounds, Campesterol, Emodin-8-O-β-D-Glucopyranoside, Quercetin, and Isoquercitrin in *Reynoutria sachalinensis* by High-performance Liquid

Chromatography-Diode Array Detector. Pharmacognosy Magazine. 2017;13:258-261. DOI: https://doi.org/10.4103/pm.pm_289_16

36. Lachowicz S, Oszmiański J. Profile of bioactive compounds in the morphological parts of wild *Fallopia japonica* (Houtt) and *Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) and their antioxidative activity. Molecules. 2019;24(7):1436. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24071436>

37. Khalil AAK, Akter KM, Kim HJ, et al. Comparative inner morphological and chemical studies on *Reynoutria* species in Korea. Plants. 2020;9(2):222. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9020222>

38. Fan P, Hay AE, Marston A, et al. Chemical variability of the invasive neophytes *Polygonum cuspidatum* Siebold et Zucc. and *Polygonum sachalinensis* F. Schmidt ex Maxim. Biochemical Systematics Ecology 2009;27(1):24-34. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2008.11.018>

39. Fan P, Terrier L, Hay AE, et al. Antioxidant and enzyme inhibition activities and chemical profiles of *Polygonum sachalinensis* F. Schmidt ex Maxim. (Polygonaceae). Fitoterapia. 2010;81(2):124-131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.08.019>

40. Zhang X, Thuong PT, Jin W, et al. Antioxidant activity of anthraquinones and flavonoids from flower of *Reynoutria sachalinensis*. Archives of Pharmacal Research. 2005;28:22-27. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf02975130>

41. Bensa M, Glavnik V, Vovk I. Flavan-3-ols and proanthocyanidins in Japanese, Bohemian and giant knotweed. Plants. 2021;10(2):402. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10020402>

42. Piola F, Bellvert F, Meiffren G, et al. Invasive *Fallopia* × *bohemica* interspecific hybrids display different patterns in secondary metabolites. Ecoscience, 2013;20(3):230-239. DOI: <https://doi.org/10.2980/20-3-3597>

43. Nawrot-Hadzik I, Choromańska A, Abel R, et al. Cytotoxic effect of vanicosides a and b from *Reynoutria sachalinensis* against melanotic and amelanotic melanoma cell lines and in silico evaluation for inhibition of brafv600e and mek1. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(13):4611. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21134611>

44. Thomford NE, Senthebane DA, Rowe A, et al. Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: Innovations for Novel Drug Discovery. International Journal of Molecular

- Sciences. 2018;19(6):1578. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19061578>
45. Nawrot-Hadzik I, Zmudzinski M, Matkowski A, et al. *Reynoutria* Rhizomes as a Natural Source of SARS-CoV-2 Mpro Inhibitors- Molecular Docking and In Vitro Study. *Pharmaceuticals*. 2021;14(8):742. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14080742>
46. Verma S, Twilley D, Esmear T, et al. Anti-SARS-CoV Natural Products With the Potential to Inhibit SARS-CoV-2 (COVID-19). *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:561334. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.561334>
47. Jia HP, Look DC, Shi L, et al. ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *Journal of Virology*. 2005;79(23):14614-14621. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.79.23.14614-14621.2005>
48. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-273. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
49. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-454. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature02145>
50. Maroli N, Bhasuran B, Natarajan J, et al. The potential role of procyanidin as a therapeutic agent against SARS-CoV-2: A text mining, molecular docking and molecular dynamics simulation approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2022;40(3):1230-1245. DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1823887>
51. Kulkarni SA, Nagarajan SK, Ramesh V, et al. Computational evaluation of major components from plant essential oils as potent inhibitors of SARS-CoV-2 spike protein. *Journal of Molecular Structure*. 2020;1221:128823. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128823>
52. Ho TY, Wu SL, Chen JC, et al. Emodin blocks the SARS coronavirus spike protein and angiotensin-converting enzyme 2 interaction. *Antiviral Research*. 2007;74(2):92-101. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.04.014>
53. Gescher K, Hensel A, Hafezi W, et al. Oligomeric proanthocyanidins from *Rumex acetosa* L. inhibit the attachment of herpes simplex virus type-1. *Antiviral Research*. 2011;89(1):9-18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2010.10.007>
54. Khan A, Ali SS, Khan MT, et al. Combined drug repurposing and virtual screening strategies with molecular dynamics simulation identified potent inhibitors for SARS-CoV-2 main protease (3CLpro). *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2021;39(13):4659-4670. DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1779128>
55. Kim SJ, Lee JW, Eun YG, et al. Pretreatment with a grape seed proanthocyanidin extract downregulates proinflammatory cytokine expression in airway epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *Molecular Medicine Reports*. 2019;19(4):3330-3336. DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.9967>
56. Van Brummelen R, Van Brummelen AC. The potential role of resveratrol as supportive antiviral in treating conditions such as COVID-19— a formulator's perspective. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2022;148:112767. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112767>
57. Dołowacka-Jóźwiak A, Matkowski A, Nawrot-Hadzik I. Antglycoxidative Properties of Extracts and Fractions from *Reynoutria* Rhizomes. *Nutrients*. 2021;13(11):4066. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13114066>
58. Kawai Y, Kumagai H, Kurihara H, et al. β -Glucosidase inhibitory activities of phenylpropanoid glycosides, vanicoside A and B from *Polygonum sachalinense* rhizome. *Fitoterapia*. 2006;77(6):456-459. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.05.008>
59. Nawrot-Hadzik I, Matkowski A, Fast M, et al. The combination of pro-oxidative acting vanicosides and GLUT1 inhibitor (WZB117) exerts a synergistic cytotoxic effect against melanoma cells. *Fitoterapia*. 2023;171:105702. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105702>
60. Arakawa S, Nakanomio I, Kudo-Sakamoto Y, et al. Identification of a novel compound that inhibits both mitochondria-mediated necrosis and apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015;467(4):1006-1011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.10.022>
61. Andersen-Civil AIS, Arora P, Williams AR. Regulation of enteric infection and immunity by dietary proanthocyanidins. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:637603. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.637603>
62. Ortega-Arellano HF, Jimenez-Del-Rio M, Velez-Pardo C. Neuroprotective effects of

- methanolic extract of avocado *Persea americana* (var. Colinred) peel on paraquat-induced locomotor impairment, lipid peroxidation and shortage of life span in transgenic knockdown parkin drosophila melanogaster. *Neurochemical Research*. 2019;44:1986-1998. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02835-z>
63. Мухамедьяров МА, Зефиоров АЛ. Влияние β -амилоидного пептида на функции возбудимых тканей: физиологические и патологические аспекты. *Успехи физиологических наук*. 2013;44:55-71. DOI: <https://doi.org/10.23868/gc120465>
64. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *The New England journal of Medicine*. 2010;362:329-44. DOI: <https://doi.org/10.1056/nejmra0909142>
65. Afzal O, Dalhat MN, Altamimi ASA, et al. Green tea catechins attenuate neurodegenerative diseases and cognitive deficits. *Molecules*. 2022;27(21):7604. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27217604>
66. Romeo L, Intrieri M, D'Agata V, et al. The major green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, induces heme oxygenase in rat neurons and acts as an effective neuroprotective agent against oxidative stress. *Journal of the American College of Nutrition*. 2009;28(4):492S-499S. DOI: <https://doi.org/10.1080/07315724.2009.10718116>
67. Unno K, Pervin M, Taguchi K, et al. Green tea catechins trigger immediate-early genes in the hippocampus and prevent cognitive decline and lifespan shortening. *Molecules*. 2020;25(7):1484. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25071484>
68. Chen X, Song X, Zhao X, et al. Insights into the Anti-inflammatory and Antiviral Mechanisms of Resveratrol. *Mediators of Inflammation*. 2022;2022(1):7138756. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/7138756>
69. Xu J, Xu Z, Zheng W. A review of the antiviral role of green tea catechins. *Molecules*. 2017;22(8):1337. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22081337>
70. Wang Z, Huang T, Guo S, et al. Effects of emodin extracted from *Rhizoma polygoni cuspidati* in treating HSV-1 cutaneous infection in guinea pigs. *Journal of Anhui Traditional Chinese Medical College*. 2003;22:36-38.
71. Lyu SY, Rhim JY, Park WB. Antiherpetic activities of flavonoids against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) in vitro. *Archives of Pharmacal Research*. 2005;28:1293-1301. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf02978215>
72. Docherty JJ, Fu MM, Stiffler BS, et al. Resveratrol inhibition of herpes simplex virus replication. *Antiviral Research*. 1999;43(3):145-155. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(99\)00042-x](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(99)00042-x)
73. Kohandel Z, Darrudi M, Naseri K, et al. The role of resveratrol in aging and senescence: a focus on molecular mechanisms. *Current Molecular Medicine*. 2024;24(7):867-875. DOI: <https://doi.org/10.2174/1566524023666230602162949>
74. Chang LK, Wei TT, Chiu Y-F, et al. Inhibition of Epstein-Barr virus lytic cycle by (-)-epigallocatechin gallate. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2003;301(4):1062-1068. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(03\)00067-6](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(03)00067-6)
75. Yiu CY, Chen SY, Huang CW, et al. Inhibitory effects of *Polygonum cuspidatum* on the Epstein-Barr virus lytic cycle. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2011;19(2):3. DOI: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2234>
76. Liu Z, Wei F, Chen LJ, et al. In vitro and in vivo studies of the inhibitory effects of emodin isolated from *Polygonum cuspidatum* on Coxsackievirus B4. *Molecules*. 2013;18(10):11842-11858. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules181011842>
77. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
78. Wang C, Horby PW, Hayden FG, et al. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *The Lancet*. 2020;395(10223):470-473. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30185-9)
79. Hilgenfeld R. From SARS to MERS: Crystallographic Studies on Coronaviral Proteases Enable Antiviral Drug Design. *FEBS Journal*. 2014;281(18):4085-4096. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.12936>
80. Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, et al. Coronavirus Main Proteinase (3CLpro) Structure: Basis for Design of Anti-SARS Drugs. *Science*. 2003;300(5626):1763-1767. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1085658>
81. Jin Y, Yang H, Ji W, et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of

COVID-19. *Viruses*. 2020;12(4):372. DOI: <https://doi.org/10.3390/v12040372>

82. Dwarka D, Agoni C, Mellem JJ, et al. Identification of potential SARS-CoV-2 inhibitors from South African medicinal plant extracts using molecular modelling approaches. *South African Journal of Botany*. 2020;133:273-284. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.035>

83. Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, et al. A new class of hepatitis B and D virus entry inhibitors, proanthocyanidin and its analogs, that directly act on the viral large surface proteins. *Hepatology*. 2017;65(4):1104-1116. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.28952>

84. Yang M, Wei J, Huang T, et al. Resveratrol inhibits the replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in cultured Vero cells. *Phytotherapy Research*. 2021;35(3):1127-1129. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6916>

85. Lin S, Wang X, Tang RW, et al. The Extracts of *Polygonum cuspidatum* Root and Rhizome Block the Entry of SARS-CoV-2 Wild-Type and Omicron Pseudotyped Viruses via Inhibition of the S-Protein and 3CL Protease. *Molecules*. 2022;27(12):3806. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27123806>

86. Schwarz S, Wang K, Yu W, et al. Emodin inhibits current through SARS-associated coronavirus 3a protein. *Antiviral Research*. 2011;90(1):64-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.02.008>

87. Jang M, Park R, Park YI, et al. EGCG, a green tea polyphenol, inhibits human coronavirus replication in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2021;547:23-28. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.02.016>

88. Chen HF, Wang WJ, Chen CY, et al. The natural tannins oligomeric proanthocyanidins and punicalagin are potent inhibitors of infection by SARS-CoV-2. *eLife*. 2023;12:e84899. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.84899>

89. Lin HW, Sun MX, Wang YH, et al. Anti-HIV activities of the compounds isolated from *Polygonum cuspidatum* and *Polygonum multiflorum*. *Planta Medica*. 2010;76(9):889-892. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0029-1240796>

90. Liu S, Zhang R, Zhang X, et al. The Invasive Species *Reynoutria japonica* Houtt. as a Promising Natural Agent for Cardiovascular and Digestive System Illness. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:863707. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.863707>

91. Yamaguchi K, Honda M, Ikigai H, et al. Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin gallate on the life cycle of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). *Antiviral Research*. 2002;53(1):19-34. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(01\)00189-9](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(01)00189-9)

92. Calland N, Albecka A, Belouzard S, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate is a new inhibitor of hepatitis C virus entry. *Hepatology*. 2012;55(3):720-729. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.24803>

93. Arita M, Fuchino H. Characterization of Anti-Poliovirus Compounds Isolated from Edible Plants. *Viruses*. 2023;15(4):903. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15040903>

94. Lamarche MJ, Borawski J, Bose A, et al. Anti-hepatitis C virus activity and toxicity of type III phosphatidylinositol-4-kinase beta inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012;56(10):5149-5156. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.00946-12>

95. Spickler C, Lippens J, Laberge MK, et al. Phosphatidylinositol 4-Kinase III Beta Is Essential for Replication of Human Rhinovirus and Its Inhibition Causes a Lethal Phenotype In Vivo. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013;57(7):3358-3368. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.00303-13>

96. Zimmermann ML, Sneden AT. Vanicosides A and B, protein kinase C inhibitors from *Polygonum pensylvanicum*. *Journal of Natural Products*. 1994;57(2):236-242. DOI: <https://doi.org/10.1021/np50104a007>

97. Kim D, Wang CY, Hu R, et al. Antitumor Activity of Vanicoside B Isolated from *Persicaria dissitiflora* by Targeting CDK8 in Triple-Negative Breast Cancer Cells. *Journal of Natural Products*. 2019;82(11):3140-3149. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00720>

98. Vasas A, Orbán-Gyapai O, Hohmann J. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;175:198-228. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.001>

References

1. Ahmadu T, Ahmad K. An Introduction to Bioactive Natural Products and General Applications. In: Pal D, Nayak AK, editors. *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications*. Advanced Structured Materials. Cham: Springer; 2021. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-54027-2_2

2. Bhattacharjee B, Sandhanam K, Ghose S, et al. Market Overview of Herbal Medicines for Lifestyle Diseases. In: Dhara AK, Mandal SC, editors. Role of Herbal Medicines. Singapore: Springer; 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-99-7703-1_30
3. Baretseng S. The worldwide herbal market: trends and opportunities. Journal of Biomedical Research and Environmental Sciences. 2022;3(5):575-584. DOI: <https://doi.org/10.37871/jbres1482>
4. Korotchenko SE, Pobyvanets RI, Kartashov EV. Modern trends and possibilities of production of herbal medicines in Russia. In: Volkov AA, Tyurina EA, Usova MV, editors. New economy, business and society. Proceedings of the April scientific and practical conference of young scientists, Vladivostok; March 23 – 16, 2023. Vladivostok: Far Eastern Federal University; 2023. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24866/7444-5516-3>
5. Budantsev AL. Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Supplements to volume 1. SPb.; Moscow: KMK Scientific Publications Partnership; 2018. Russian.
6. Safonova NV, Trofimova EO. Review of the Russian market of herbal preparations [Internet]. Remedium. 2021 [cited 2023 Oct 15];3. Russian. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/obzor-rossijskogo-rynka-rastitelnyh-preparatov>
7. Tikhomirova LI, Shcherbakova LV, Ilcheva TN, et al. Obtaining medicinal plant raw materials with a given chemical composition and antibacterial activity. Chemistry of plant raw materials. 2021;2:309-318. Russian. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021029043>
8. Belenovskaya, LM, Budantsev AL, Bitjukova NV. Gynostemma pentaphyllum (Cucurbitaceae): component composition and biological activity. Plant Resources. 2018;54(4):443-495. Russian. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0033994618040015>
9. Larikova YuS, Malikova NA. Secondary metabolites of medicinal plants. Medicine. Sociology. Philosophy. Applied research. 2022;6:138-141. Russian.
10. Vinogradova Y, Kuklina A, Ryabchenko A. Taxonomic Characteristics of Vegetative Organs for Invasive Species of Reynoutria Hook. Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality. 2021;5(1):160-168. DOI: <https://doi.org/10.15414/ainhlq.2021.0015>
11. Park CW, Bhandari GS, Won H, et al. Polyploidy and introgression in invasive giant knotweed (*Fallopia sachalinensis*) during the colonization of remote volcanic islands. Scientific Reports. 2018;8(1):16021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34025-2>
12. Kato-Noguchi H. Allelopathy of knotweeds as invasive plants. Plants. 2021;11(1):3. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/plants11010003>
13. Raman G, Park KT, Nam GH, et al. Characterization of the complete chloroplast genome sequence of the giant knotweed, *Fallopia sachalinensis* from the volcanic island Dokdo, Republic of Korea. Mitochondrial DNA Part B: Resources. 2019;4(2):2972-2973. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/23802359.2019.1663769>
14. Békési-Kallenberger H, Horváth G, Bencsik T, et al. Comparative Histological and Phytochemical Study of *Fallopia* species. Natural Product Communications. 2016;11(2):251-254.
15. Drazan D, Smith AG, Anderson NO, et al. History of knotweed (*Fallopia* spp.) invasiveness. Weed Science. 2021;69(6):617-623. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/wsc.2021.62>
16. Voronkova NM, Kholina AB, Zhuravlev YuN, et al. Reproduction of plants of the Russian Far East. Vladivostok: FNC Biodiversity FEB RAS; 2023. Russian.
17. Dusz MA, Martin FM, Dommanget F, et al. Review of Existing Knowledge and Practices of Tarping for the Control of Invasive Knotweeds. Plants. 2021;10(10):2152. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10102152>
18. Stafiniak M, Bielecka M, Kujawa K, et al. Integrative morphological, phytochemical, and molecular identification of three invasive and medicinal *Reynoutria* species. Scientific Reports. 2025;15(1):6001. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-90494-2>
19. Cirlig N, Iurcu-Straistaru E, Titey V, et al. Assessment of the specific diseases in *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai Under the Influence of Environmental conditions of the republic of Moldova. Scientific Papers Series A. Agronomy. 2023;66(1):279-285.
20. Kim YJ, Park K, Jang BK, et al. Classification of dormancy types and breakout conditions in *Reynoutria sachalinensis* exhibiting seed dormancy polymorphism. Horticulture, Environment, and Biotechnology. 2024;65:997-1007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13580-024-00626-2>

21. Lu X, Yamaji K, Haruma T, et al. Metal Accumulation and Tolerance in *Artemisia indica* var. *maximowiczii* (Nakai) H. Hara. and *Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) Ronse Decr., a Naturally Growing Plant Species at Mine Site. *Minerals*. 2021;11(8):806. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/min11080806>
22. Bailey JP, Conolly AP. Prize-winners to pariahs—a history of Japanese knotweed s.l. (Polygonaceae) in the British Isles. *Watsonia*. 2000;23:93-110.
23. Šerá B, Doshi P, Věchet L. Extracts from the leaves of knotweeds (*Reynoutria* spp.) have a stimulating effect on the germination and initial growth of wheat grains. *Science of Nature*. 2024;111(6):61. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00114-024-01946-0>
24. European Food Safety Authority (EFSA). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Reynoutria sachalinensis* extract. *EFSA Journal*. 2015;13(9):4221. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4221>
25. Margaritopoulou T, Toufexi E, Kizis D, et al. *Reynoutria sachalinensis* extract elicits SA-dependent defense responses in courgette genotypes against powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii*. *Scientific Reports*. 2020;10:3354. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60148-6>
26. Lachowicz S, Oszmiański J, Wojdyło A, et al. UPLC-PDA-Q/TOF-MS identification of bioactive compounds and on-line UPLC-ABTS assay in *Fallopia japonica* Houtt and *Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) leaves and rhizomes grown in Poland. *European Food Research and Technology*. 2019;245:691-706. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3191-4>
27. Zhang ZL, Li YZ, Wu GQ, et al. A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Reynoutria* genus. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2022;74(12):1718-1742. DOI: <https://doi.org/10.1093/jpp/rgac068>
28. Pogačnik L. Bioactive substances from invasive knotweed species. *Journal of EcoAgriTourism*. 2020;16(1):21-25.
29. Bensa M, Glavnik V, Vovk I. Leaves of invasive plants – Japanese, Bohemian and giant knotweed – the promising new source of flavan-3-ols and proanthocyanidins. *Plants*. 2020;9(1):118. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9010118>
30. Nawrot-Hadzik I, Slusarczyk S, Granica S, et al. Phytochemical diversity in rhizomes of three *Reynoutria* species and their antioxidant activity correlations elucidated by LC-ESI-MS/MS analysis. *Molecules*. 2019;24(6):1136. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24061136>
31. Suprun AR, Kiselev KV, Aleynova OA, et al. Analysis of Phenolic Compounds of *Reynoutria sachalinensis* and *Reynoutria japonica* Growing in the Russian Far East. *Plants*. 2024;13(23):3330. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13233330>
32. Vrchotová N, Šerá B, Tříška J. The stilbene and catechin content of the spring sprouts of *Reynoutria* species. *Acta Chromatographica*. 2007;19:21-28.
33. Alrikabi AY, Protska V, Burda N, et al. The Study of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Raw Materials of *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai. *ACTA Pharmaceutica Scientia*. 2021;59(4):549-558 DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13233330>
34. Noge K, Abe M, Tamogami S. Phenylacetonitrile from the giant knotweed, *Fallopia sachalinensis*, infested by the Japanese beetle, *Popillia japonica*, is induced by exogenous methyl jasmonate. *Molecules*. 2011;16(8):6481-6488. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules16086481>
35. Eom MR, Weon JB, Jung YS, et al. Simultaneous Determination of Four Compounds, Campesterol, Emodin-8-O- β -D-Glucopyranoside, Quercetin, and Isoquercitrin in *Reynoutria sachalinensis* by High-performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector. *Pharmacognosy Magazine*. 2017;13:258-261. DOI: https://doi.org/10.4103/pm.pm_289_16
36. Lachowicz S, Oszmiański J. Profile of bioactive compounds in the morphological parts of wild *Fallopia japonica* (Houtt) and *Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) and their antioxidative activity. *Molecules*. 2019;24(7):1436. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24071436>
37. Khalil AAK, Akter KM, Kim HJ, et al. Comparative inner morphological and chemical studies on *Reynoutria* species in Korea. *Plants*. 2020;9(2):222. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9020222>
38. Fan P, Hay AE, Marston A, et al. Chemical variability of the invasive neophytes *Polygonum cuspidatum* Siebold et Zucc. and *Polygonum sachalinensis* F. Schmidt ex Maxim. *Biochemical Systematics Ecology* 2009;27(1):24-34. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2008.11.018>

39. Fan P, Terrier L, Hay AE, et al. Antioxidant and enzyme inhibition activities and chemical profiles of *Polygonum sachalinensis* F. Schmidt ex Maxim. (Polygonaceae). *Fitoterapia*. 2010;81(2):124-131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.08.019>
40. Zhang X, Thuong PT, Jin W, et al. Antioxidant activity of anthraquinones and flavonoids from flower of *Reynoutria sachalinensis*. *Archives of Pharmacal Research*. 2005;28:22-27. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf02975130>
41. Bensa M, Glavnik V, Vovk I. Flavan-3-ols and proanthocyanidins in Japanese, Bohemian and giant knotweed. *Plants*. 2021;10(2):402. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10020402>
42. Piola F, Bellvert F, Meiffren G, et al. Invasive *Fallopia* × *bohemica* interspecific hybrids display different patterns in secondary metabolites. *Ecoscience*, 2013;20(3):230-239. DOI: <https://doi.org/10.2980/20-3-3597>
43. Nawrot-Hadzik I, Choromańska A, Abel R, et al. Cytotoxic effect of vanicosides a and b from *Reynoutria sachalinensis* against melanotic and amelanotic melanoma cell lines and in silico evaluation for inhibition of brafv600e and mek1. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(13):4611. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21134611>
44. Thomford NE, Senthebane DA, Rowe A, et al. Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: Innovations for Novel Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(6):1578. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19061578>
45. Nawrot-Hadzik I, Zmudzinski M, Matkowski A, et al. *Reynoutria* Rhizomes as a Natural Source of SARS-CoV-2 Mpro Inhibitors- Molecular Docking and In Vitro Study. *Pharmaceuticals*. 2021;14(8):742. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14080742>
46. Verma S, Twilley D, Esmear T, et al. Anti-SARS-CoV Natural Products With the Potential to Inhibit SARS-CoV-2 (COVID-19). *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:561334. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.561334>
47. Jia HP, Look DC, Shi L, et al. ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *Journal of Virology*. 2005;79(23):14614-14621. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.79.23.14614-14621.2005>
48. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-273. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
49. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-454. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature02145>
50. Maroli N, Bhasuran B, Natarajan J, et al. The potential role of procyanidin as a therapeutic agent against SARS-CoV-2: A text mining, molecular docking and molecular dynamics simulation approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2022;40(3):1230-1245. DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1823887>
51. Kulkarni SA, Nagarajan SK, Ramesh V, et al. Computational evaluation of major components from plant essential oils as potent inhibitors of SARS-CoV-2 spike protein. *Journal of Molecular Structure*. 2020;1221:128823. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128823>
52. Ho TY, Wu SL, Chen JC, et al. Emodin blocks the SARS coronavirus spike protein and angiotensin-converting enzyme 2 interaction. *Antiviral Research*. 2007;74(2):92-101. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.04.014>
53. Gescher K, Hensel A, Hafezi W, et al. Oligomeric proanthocyanidins from *Rumex acetosa* L. inhibit the attachment of herpes simplex virus type-1. *Antiviral Research*. 2011;89(1):9-18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2010.10.007>
54. Khan A, Ali SS, Khan MT, et al. Combined drug repurposing and virtual screening strategies with molecular dynamics simulation identified potent inhibitors for SARS-CoV-2 main protease (3CLpro). *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2021;39(13):4659-4670. DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1779128>
55. Kim SJ, Lee JW, Eun YG, et al. Pretreatment with a grape seed proanthocyanidin extract downregulates proinflammatory cytokine expression in airway epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *Molecular Medicine Reports*. 2019;19(4):3330-3336. DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.9967>
56. Van Brummelen R, Van Brummelen AC. The potential role of resveratrol as supportive antiviral in treating conditions such as COVID-19— a formulator's perspective. *Biomedicine and*

- Pharmacotherapy. 2022;148:112767. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112767>
57. Dołowacka-Jóźwiak A, Matkowski A, Nawrot-Hadzik I. Antiglycoxidative Properties of Extracts and Fractions from *Reynoutria* Rhizomes. *Nutrients*. 2021;13(11):4066. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13114066>
58. Kawai Y, Kumagai H, Kurihara H, et al. β -Glucosidase inhibitory activities of phenylpropanoid glycosides, vanicoside A and B from *Polygonum sachalinense* rhizome. *Fitoterapia*, 2006;77(6):456-459. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.05.008>
59. Nawrot-Hadzik I, Matkowski A, Fast M, et al. The combination of pro-oxidative acting vanicosides and GLUT1 inhibitor (WZB117) exerts a synergistic cytotoxic effect against melanoma cells. *Fitoterapia*. 2023;171:105702. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105702>
60. Arakawa S, Nakanomio I, Kudo-Sakamoto Y, et al. Identification of a novel compound that inhibits both mitochondria-mediated necrosis and apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015;467(4):1006-1011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.10.022>
61. Andersen-Civil AIS, Arora P, Williams AR. Regulation of enteric infection and immunity by dietary proanthocyanidins. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:637603. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.637603>
62. Ortega-Arellano HF, Jimenez-Del-Rio M, Velez-Pardo C. Neuroprotective effects of methanolic extract of avocado *Persea americana* (var. Colinred) peel on paraquat-induced locomotor impairment, lipid peroxidation and shortage of life span in transgenic knockdown parkin drosophila melanogaster. *Neurochemical Research*. 2019;44:1986-1998. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02835-z>
63. Mukhamedyarov MA, Zefirov AL. Effect of β -amyloid peptide on the functions of excitable tissues: physiological and pathological aspects. *Advances in Physiological Sciences*. 2013;44:55-71. Russian. DOI: <https://doi.org/10.23868/gc120465>
64. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *The New England journal of Medicine*. 2010;362:329-44. DOI: <https://doi.org/10.1056/nejmra0909142>
65. Afzal O, Dalhat MN, Altamimi ASA, et al. Green tea catechins attenuate neurodegenerative diseases and cognitive deficits. *Molecules*. 2022;27(21):7604. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27217604>
66. Romeo L, Intrieri M, D'Agata V, et al. The major green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, induces heme oxygenase in rat neurons and acts as an effective neuroprotective agent against oxidative stress. *Journal of the American College of Nutrition*. 2009;28(4):492S-499S. DOI: <https://doi.org/10.1080/07315724.2009.10718116>
67. Unno K, Pervin M, Taguchi K, et al. Green tea catechins trigger immediate-early genes in the hippocampus and prevent cognitive decline and lifespan shortening. *Molecules*. 2020;25(7):1484. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25071484>
68. Chen X, Song X, Zhao X, et al. Insights into the Anti-inflammatory and Antiviral Mechanisms of Resveratrol. *Mediators of Inflammation*. 2022;2022(1):7138756. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/7138756>
69. Xu J, Xu Z, Zheng W. A review of the antiviral role of green tea catechins. *Molecules*. 2017;22(8):1337. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22081337>
70. Wang Z, Huang T, Guo S, et al. Effects of emodin extracted from *Rhizoma polygoni cuspidati* in treating HSV-1 cutaneous infection in guinea pigs. *Journal of Anhui Traditional Chinese Medical College*. 2003;22:36-38.
71. Lyu SY, Rhim JY, Park WB. Antiherpetic activities of flavonoids against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) in vitro. *Archives of Pharmacal Research*. 2005;28:1293-1301. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf02978215>
72. Docherty JJ, Fu MM, Stiffler BS, et al. Resveratrol inhibition of herpes simplex virus replication. *Antiviral Research*. 1999;43(3):145-155. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(99\)00042-x](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(99)00042-x)
73. Kohandel Z, Darrudi M, Naseri K, et al. The role of resveratrol in aging and senescence: a focus on molecular mechanisms. *Current Molecular Medicine*. 2024;24(7):867-875. DOI: <https://doi.org/10.2174/1566524023666230602162949>
74. Chang LK, Wei TT, Chiu Y-F, et al. Inhibition of Epstein-Barr virus lytic cycle by (-)-epigallocatechin gallate. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2003;301(4):1062-1068. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(03\)00067-6](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(03)00067-6)

75. Yiu CY, Chen SY, Huang CW, et al. Inhibitory effects of *Polygonum cuspidatum* on the Epstein-Barr virus lytic cycle. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2011;19(2):3. DOI: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2234>
76. Liu Z, Wei F, Chen LJ, et al. In vitro and in vivo studies of the inhibitory effects of emodin isolated from *Polygonum cuspidatum* on Coxsackievirus B4. *Molecules*. 2013;18(10):11842-11858. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules181011842>
77. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
78. Wang C, Horby PW, Hayden FG, et al. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *The Lancet*. 2020;395(10223):470-473. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30185-9)
79. Hilgenfeld R. From SARS to MERS: Crystallographic Studies on Coronaviral Proteases Enable Antiviral Drug Design. *FEBS Journal*. 2014;281(18):4085-4096. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.12936>
80. Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, et al. Coronavirus Main Proteinase (3CLpro) Structure: Basis for Design of Anti-SARS Drugs. *Science*. 2003;300(5626):1763-1767. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1085658>
81. Jin Y, Yang H, Ji W, et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses*. 2020;12(4):372. DOI: <https://doi.org/10.3390/v12040372>
82. Dwarka D, Agoni C, Mellem JJ, et al. Identification of potential SARS-CoV-2 inhibitors from South African medicinal plant extracts using molecular modelling approaches. *South African Journal of Botany*. 2020;133:273-284. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.035>
83. Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, et al. A new class of hepatitis B and D virus entry inhibitors, proanthocyanidin and its analogs, that directly act on the viral large surface proteins. *Hepatology*. 2017;65(4):1104-1116. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.28952>
84. Yang M, Wei J, Huang T, et al. Resveratrol inhibits the replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in cultured Vero cells. *Phytotherapy Research*. 2021;35(3):1127-1129. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6916>
85. Lin S, Wang X, Tang RW, et al. The Extracts of *Polygonum cuspidatum* Root and Rhizome Block the Entry of SARS-CoV-2 Wild-Type and Omicron Pseudotyped Viruses via Inhibition of the S-Protein and 3CL Protease. *Molecules*. 2022;27(12):3806. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27123806>
86. Schwarz S, Wang K, Yu W, et al. Emodin inhibits current through SARS-associated coronavirus 3a protein. *Antiviral Research*. 2011;90(1):64-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.02.008>
87. Jang M, Park R, Park YI, et al. EGCG, a green tea polyphenol, inhibits human coronavirus replication in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2021;547:23-28. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.02.016>
88. Chen HF, Wang WJ, Chen CY, et al. The natural tannins oligomeric proanthocyanidins and punicalagin are potent inhibitors of infection by SARS-CoV-2. *eLife*. 2023;12:e84899. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.84899>
89. Lin HW, Sun MX, Wang YH, et al. Anti-HIV activities of the compounds isolated from *Polygonum cuspidatum* and *Polygonum multiflorum*. *Planta Medica*. 2010;76(9):889-892. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0029-1240796>
90. Liu S, Zhang R, Zhang X, et al. The Invasive Species *Reynoutria japonica* Houtt. as a Promising Natural Agent for Cardiovascular and Digestive System Illness. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:863707. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.863707>
91. Yamaguchi K, Honda M, Ikgai H, et al. Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin gallate on the life cycle of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). *Antiviral Research*. 2002;53(1):19-34. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(01\)00189-9](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(01)00189-9)
92. Calland N, Albecka A, Belouzard S, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate is a new inhibitor of hepatitis C virus entry. *Hepatology*. 2012;55(3):720-729. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.24803>
93. Arita M, Fuchino H. Characterization of Anti-Poliovirus Compounds Isolated from Edible Plants. *Viruses*. 2023;15(4):903. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15040903>
94. Lamarche MJ, Borawski J, Bose A, et al. Anti-hepatitis C virus activity and toxicity of type III phosphatidylinositol-4-kinase beta inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012;56(10):5149-5156. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.00946-12>

95. Spickler C, Lippens J, Laberge MK, et al. Phosphatidylinositol 4-Kinase III Beta Is Essential for Replication of Human Rhinovirus and Its Inhibition Causes a Lethal Phenotype In Vivo. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013;57(7):3358-3368. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.00303-13>

96. Zimmermann ML, Sneden AT. Vanicosides A and B, protein kinase C inhibitors from *Polygonum pensylvanicum*. *Journal of Natural Products*. 1994;57(2):236-242. DOI: <https://doi.org/10.1021/np50104a007>

97. Kim D, Wang CY, Hu R, et al. Antitumor Activity of Vanicoside B Isolated from *Persicaria dissitiflora* by Targeting CDK8 in Triple-Negative Breast Cancer Cells. *Journal of Natural Products*. 2019;82(11):3140-3149. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00720>

98. Vasas A, Orbán-Gyapai O, Hohmann J. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;175:198-228. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.001>

Статья поступила в редакцию 16 апреля 2025 г.
Поступила после доработки 25 мая 2025 г.
Принята к печати 9 июня 2025 г.

Received 16 April 2025

Revised 25 May 2025

Accepted 9 June 2025

Информация об авторах

Елена Григорьевна Жничкова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории геномики и биохимии лекарственных растений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», г. Москва, Российская Федерация,

E-mail: emili-07@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2260-293X>.

Татьяна Анатольевна Кроть, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией геномики и биохимии лекарственных растений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: tatianakroll1@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4642-651X>.

Дмитрий Николаевич Балеев, доктор сельскохозяйственных наук, заместитель директора ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», г. Москва, Российская Федерация, E-mail: dbaleev@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1228-0594>.

Information about the authors

Elena G. Zhnichkova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Laboratory of Genomics and Biochemistry of Medicinal Plants, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia, E-mail: emili-07@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2260-293X>.

Tatyana A. Krol, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Head of the Laboratory of Genomics and Biochemistry of Medicinal Plants, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia, E-mail: tatianakroll1@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4642-651X>.

Dmitry N. Baleev, Doct. Sci. (Agriculture), Deputy Director, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia, E-mail: dbaleev@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1228-0594>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-5

УДК 615

Immunomodulatory effect of saponins from *Agave brittoniana* subsp. *brachypus* (Trel.) in a model of fetal alcohol toxicity

Yisel González-Madariaga¹ , Dayamis Rega-Echavarría² ,
Arelia Pizarro-Espin¹ , Milene Águila-Castillo¹ 

¹ University of Medical Sciences of Villa Clara,
80 7th St., Santa Clara, 50200, Cuba

² Jose Luis Miranda Paediatric Hospital,
26 July Ave., Santa Clara, 50100, Cuba

Corresponding author: Yisel González-Madariaga (yiselmadariaga@gmail.com)

Abstract

Background: Prenatal exposure to ethanol can result in immunosuppression in the foetus due to alterations in tissue architecture and cellular composition, as well as reduced immune system function. This highlights the urgent need to identify new immunomodulatory agents. A variety of natural products and their metabolites are a significant source of molecules with such properties. *Agave brittoniana* subsp. *brachypus* (Trel.) A. Álvarez is a species known to produce steroidal saponins, which have demonstrated immunomodulatory activity. **The aim of the study:** To examine the immunomodulatory effects of saponins derived from the *A. brittoniana* species. **Materials and methods:** A fetal alcohol toxicity model was developed. Progenitor rats were orally administered 40 % alcohol (5 g/kg/day on gestational days 3-21), followed by treatment with three doses of saponin-enriched extracts (25, 50 and 100 mg/kg bw) and folic acid, which served as a control. The cellular and humoral response of the immune system was evaluated in neonates at 15, 21 and 31 days after birth. **Results:** In neonates with fetal alcohol toxicity, an increase in leukocytes at the expense of lymphocytes was observed in the group with the highest dose of saponins. The humoral response of these neonates was characterised by increased IgG at all three doses, with a restoration of C3 values only observed in the 100 mg/kg *A. brittoniana* saponin group. **Conclusion:** Steroidal saponins from *A. brittoniana* species have high immunomodulatory potential in immunocompromised animals.

Keywords: steroidal saponin; ethanol; immune system; natural product

Acknowledgements: The authors would like to thank Yuliet González Madariaga, English Language Specialist at the Department of English Language, Faculty of Humanities, Central University “Marta Abreu” of Las Villas, for her expert linguistic review of this work. Her meticulous analysis of the English manuscript and expert suggestions significantly enhanced the linguistic quality and clarity of our scientific presentation. The professional language editing service was essential in ensuring the precision required for effective international academic communication.

For citation: González-Madariaga Y, Rega-Echavarría D, Pizarro-Espin A, et al. Immunomodulatory effect of saponins from *Agave brittoniana* subsp. *brachypus* (Trel.) in a model of fetal alcohol toxicity. Research Results in Biomedicine. 2026;12(3):439-450. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-5

Introduction. Immunomodulators are substances that modify the ability of the immune system to exert one or more of its functions, including antibody production, antigen recognition, and the secretion of inflammatory mediators. Their activity indicates a biological or pharmacological effect on humoral or cellular factors involved in the immune response. The stimulation or suppression of these factors may contribute to the maintenance of good health [1].

It is estimated that millions of individuals worldwide are afflicted with diseases that compromise the immune system, including cancer [2]. The use of immunomodulatory drugs provides an additional therapeutic tool to conventional therapy in individuals with impaired immune function. Furthermore, they are employed in the treatment of inflammatory diseases, allergic conditions, diabetes mellitus, acquired immune deficiency syndrome (AIDS), as well as viral infections that affect the immune system, including the COVID-19 pandemic [1, 3].

Alcohol consumption represents the third leading risk factor for disease and disability globally. In the Americas, it is the primary contributor to these health issues. The mean quantity of alcohol consumed per capita in Cuba is less than the regional mean for the Americas, as indicated in reports from 2018 [4]. Conversely, there has been a disconcerting global surge in alcohol intoxication among young women and women of reproductive age, a phenomenon that has also been observed in our country [5].

Although studies of alcohol-induced toxicity have traditionally focused on the neurological, hepatic and gastric damage that it causes, the negative effect on the immune system is also known [6]. Immune system disorders are a common occurrence in the paediatric age group, with some evidence suggesting a potential link to prenatal alcohol consumption [7].

Fetal alcohol syndrome (FAS) is a condition characterised by a range of physical, cognitive and developmental disorders

resulting from prenatal alcohol exposure. Immunosuppression results from the direct and indirect exposure of the developing immune system to the toxic alcohol metabolites acetaldehyde and acetate. This exposure leads to persistent alterations in tissue architecture, cellular composition, and the immune system's functional capacity [8].

Chronic alcohol consumption has been associated with increased levels of proinflammatory cytokines [9]. This finding suggests that chronic alcohol consumption during pregnancy may expose the foetus to an increased oxidative environment and dysregulation of inflammatory responses. This increase may compromise the integrity of fetal innate and acquired immunity [10].

The diminished innate response in the FAS is reflected in impaired macrophage and neutrophil function, partly due to mitochondrial damage caused by intense oxidative stress and glutathione depletion [11]. It has been demonstrated that immune dysfunction can result in a decline in lymphocyte levels. This stage is consequent to interference with signalling pathways associated with lymphocyte differentiation and activation [12]. Consequently, lymphopenia and an imbalance of critical subpopulations, which impact on humoral immunity with decreased immunoglobulins, as well as reduced cellular response due to decreased leukocyte subpopulations, are pathognomonic for immune dysfunction in the context of FAS [12, 13].

It has been demonstrated through experimental studies that ethanol and its metabolites can induce alterations in the processes involved in the selection of T-lymphocyte within the thymus. Ethanol-induced immune dysfunction has also been accompanied by a reduction in the number of CD4+ and CD8+ clones present in the peripheral blood [14, 15]. Consequently, numerous biomedical researchers are engaged in the pursuit of novel, less toxic, plant-derived compounds with the potential to stimulate the immune response in immunocompromised patients [16, 17].

The search for natural products and their components represents a significant source of discovery in the field of immunomodulatory drugs and their novel mechanisms of action. In this context, a considerable number of studies have been published demonstrating the immunomodulatory activity of plants such as *Boerhaavia diffusa* (Nyctaginaceae), *Curcuma longa* (Zingiberaceae), *Asparagus racemosus* (Asparagaceae), *Panax ginsengs* (Araliaceae), *Arnica montana* (Compositae), *Echinacea purpurea* (Asteraceae) and *Calendula officinalis* (Asteraceae) [18].

The species *Agave brittoniana* Trel. subspecies *brachypus* (fam. Asparagaceae), described by Trelease in 1913 and updated by Álvarez de Zayas [19] has been the subject of phytochemical studies. *Agave brittoniana* T contains significant quantities of glycosylated steroidal saponins [20, 21]. The presence of these metabolites has been associated with the plant's anti-inflammatory potential in acute and chronic models [22, 23] as well as in ulcerative colitis model in rats [24]. However, these compounds have not been studied in relation to their effect on the immune system. Nevertheless, in other species where they are present, this property has been demonstrated [25].

Plant extracts with high saponin content have been demonstrated to regulate both innate and acquired immune responses [26]. Saponin-based adjuvants stimulate cell-mediated immunity and enhance antibody production. They also have the advantage that only low doses are required for adjuvant activity. Research has demonstrated that these metabolites, when utilised alone or in conjunction with aluminium salts, liposomes or lipid/protein complexes, function as immunostimulants and adjuvants within vaccine formulations [27].

Saponins have been demonstrated to regulate a variety of immune cells through the secretion of related cytokines and specific antigens. Activation of macrophages and natural killer cells is necessary for the neutralisation of harmful agents and subsequent release of pro-inflammatory

cytokines that contribute to the amplification of the immune response [26]. This phenomenon is promoted by saponins, such as those extracted from *Panax notoginseng* species [28] or platycodin D extracted from the stem bark of *Albizia julibrissin* [29].

A number of studies have indicated that saponins possess anti-inflammatory properties, which may be attributed to their capacity to suppress the secretion of cytokines and acute phase reactants, which are involved in the inflammatory response [28]. As has been demonstrated in multiple studies, an inflammatory environment occurs during the immune response due to the reaction of components of the immune system to recognise and inactivate antigenic molecules [3]. It is therefore logical to conclude that molecules with an effect on these mediators could modulate the immunogenic response.

The present research explores the immunomodulatory potential of the species' saponins for the first time. Consequently, the research seeks to assess the impact of these molecules on the leukocyte population and antibodies, as the most visible expression of innate and acquired immunity.

The aim of the study. To examine the immunomodulatory effect of saponin-enriched extracts (SEE) from the species *A. brittoniana* in an experimental model of fetal alcohol toxicity (FAT), which results in the development of immunodeficiency in neonates.

Materials and Methods. The present study evaluated the immunomodulatory effects of three dose levels of *A. brittoniana* saponins, isolated through butanolic fractionation, in neonatal rats subjected to FAT. The leaves of *A. brittoniana* were collected from the Cubanacán protected area, located on the periphery of Santa Clara city. The botanical identification of the species was conducted at the Research Center of the Botanical Garden, Central University "Marta Abreu" of Las Villas, where the specimen was matched with the serial number HPVC 5445.

Obtaining the saponins-enriched extracts (SEE)

Leaves exhibiting optimal phytosanitary conditions (absence of mechanical or chemical damage) were selected for subsequent processing. Following the methodology established in previous work [22], they were first dried and pulverised. The finely cut plant material was dried for 7 days at 40 °C in an oven. The dried material was then milled in a cutting mill (IKA-MF 10B, Germany) at 3000 rpm. The resulting product was then sieved through a sieve with an internal diameter of 3 mm.

In order to obtain the hydroalcoholic extract, 300 g of the dried leaf powder were extracted three times with 1 L of 70 % ethanol by maceration at room temperature in the dark conditions. The solvent was removed by using an IKA® RV 10 basic rotoevaporator at 40°C and steam pressure. The syrupy extract (10 g) was resuspended in a single portion of distilled water, placed in a separatory funnel and 36 ml of water-saturated n-butanol was added. The mixture was left for 24 hours and then the organic phase was concentrated under steam pressure at the conditions previously mentioned [22].

Saponin predominance was corroborated by phytochemical screening in accordance with the methodology proposed by Miranda and Cuellar [30]. In addition, the SEE were evaluated on thin-layer chromatography (TLC) using methanol:chloroform (3:7) as the mobile phase, and then 50 % H₂SO₄ was used as a developer. The products of the saponin-enriched extracts were compared with the diosgenin standard and purified yucagenin (from the UCLV Organic Chemistry Laboratory), in line with prior studies that identified these steroidal compounds as the principal aglycons present in Agabrittonosides (steroidal saponins of *Agave brittoniana* species) [20, 21].

Animals

Wistar rats were obtained from National Center for Laboratory Animal Production (CENPALAB Spanish acronym) and maintained under controlled environmental conditions (12-hour light/dark cycle, 20±2°C,

50 – 70% relative humidity), with conventional feeding and water *ad libitum*. The study involved thirty-six *Wistar* rats (with weights ranging between 180 and 200 g) and sixteen males weighing between 200 and 270 g, which served as the progenitor population. The first day of gestation was determined by the presence of spermatozoa in the vaginal smear in the early morning hours.

Experimental Model of Fetal Alcohol Toxicity

The ethanol administration scheme was designed to take into account the previously reported toxic effects on prenatal alcohol exposure [31, 32]. The model reported by Wang et al. was modified to achieve a toxic effect of ethanol on maternal rats without causing mortality or serious teratogenic effects [33].

A total of six experimental groups were established, each consisting of six dam rats (n=6). The groups were designated as follows: I: healthy group, lacking the induction of FAT, without any further intervention II: negative control, FAT induction without treatment, III: FAT induction with folic acid administration at a dose of 5 mg/kg bw. This was followed by treatment with SEE at 25 mg/kg bw IV; 50 mg/kg bw in group V and 100 mg bw in group VI.

Induction of the model and treatment was initiated on the third day post-mating, continuing until parturition in a single daily dosage. Ethanol 40 % was administered orally to all pregnant rats in groups II to VI at a dose of 5 mL/kg bw. Two hours later, the respective oral treatments were initiated.

The sample for immune response studies consisted of 72 male neonates, 12 from each group. Blood samples were collected at 15, 21 and 31 days of postnatal life for the purpose of cellular and humoral immunological studies. The pups were maintained with their mothers until weaning, which occurred 21 days after birth.

Subsequently, the subjects received unrestricted access to water and diet for their specific species until 31 days post-natal life. Upon reaching this age, the subjects were euthanised via an overdose of an inhalational

anaesthetic, which was followed by a cervical dislocation.

Assessing the development of immune system dysfunction.

In order to ascertain the effect on the immune system of neonates exposed to ethanol prenatally, the cellular response was quantified by specific techniques for each determination, using heparin as an anticoagulant [34]. To assess potential dysfunction in the humoral response, serum samples were centrifuged at 3500 rpm for 10 minutes to quantify immunoglobulins (IgA, IgM and IgG) and complement fractions (C3 and C4). The quantification techniques were performed using an immunoturbidimetric method [35] provided by Roche, on a Roche/Hitachi Autoanalyser – cobas c 311. In all biochemical determinations, the PreciControl ClinChem Multi 1 and 2 controls were employed, along with the Calibrator f.a.s. Proteins (C.f.a.s.) calibrator.

Statistical processing of the data

The data were subjected to statistical processing using the statistical software program SPSS for Windows, version 22.0. The mean and standard deviation were calculated

for each variable under investigation. The Kruskal-Wallis test was employed to ascertain whether there were any statistically significant differences between the groups in each of the experiments. The Mann-Whitney test was employed to ascertain whether there were statistically significant differences between the groups. The variation in the parameters before and after treatment was evaluated using the Wilcoxon test. The following significance levels were considered: $p < 0.05$ (significant) and $p < 0.01$ (highly significant).

Results. In the study evaluating neonates prenatally exposed to alcohol toxicity, blood samples were collected at 15, 21, and 31 days postpartum, corresponding to the lactation, weaning, and postnatal developmental stages. Analysis revealed no significant differences in cellular or humoral immune responses between groups at 15 days, suggesting that prenatal alcohol exposure does not induce immediate immune system impairment during this early postnatal phase.

The results of the cellular immune response during the weaning stage and 31 days postnatal life are presented in the following Table 1.

Table 1

Cellular immune response in neonatal rats exposed to prenatal alcohol toxicity treated with SEE of *A. brittoniana*. The data are presented as mean \pm standard deviation

Group	Leukocyte ($10^9/L$)		Neutrophils (%)		Lymphocyte (%)	
	W	F	W	F	W	F
I	8.7 \pm 1.1 ^a	9.8 \pm 0.4 ^a	35.0 \pm 3.5 ^a	39.3 \pm 13.0 ^a	65.0 \pm 3.9 ^a	63.4 \pm 8.7 ^a
II	7.7 \pm 1.0 ^b	7.4 \pm 0.6 ^b	42.5 \pm 8.6 ^a	39.8 \pm 5.2 ^a	56.4 \pm 8.0 ^a	59.2 \pm 6.3 ^a
III	8.3 \pm 0.3 ^a	8.8 \pm 0.1 ^a	34.7 \pm 6.3 ^a	28.6 \pm 7.8 ^b	63.2 \pm 5.6 ^a	71.4 \pm 7.8 ^b
IV	9.1 \pm 0.8 ^{a,b}	9.2 \pm 1.2 ^a	34.8 \pm 5.1 ^a	36.3 \pm 10.3 ^a	62.8 \pm 9.3 ^a	60.2 \pm 9.2 ^a
V	8.5 \pm 0.6 ^a	8.9 \pm 0.1 ^c	47.7 \pm 9.0 ^b	33.3 \pm 5.3 ^a	49.3 \pm 9.9 ^b	61.8 \pm 6.8 ^a
VI	9.8 \pm 1.6 ^{a,b}	9.5 \pm 0.9 ^a	44.2 \pm 4.8 ^b	28.3 \pm 1.5 ^b	54.2 \pm 3.8 ^b	71.5 \pm 1.5 ^b

Note: I: Healthy Group, II: Negative Control, III: Folic Acid, IV: SEE group (dose 25 mg/kg bw), V: SEE group (dose 50 mg/kg bw), VI: SEE group (dose 100 mg/kg bw). Different superscripts in the same column mean significant differences between groups (U-Mann Whitney). W (weaning): Corresponds to the second sampling at 21 days of age. F (final): Corresponds to the third sampling at 31 days after birth.

The experimental data show significant changes in the parameters under investigation at 21 and 31 days post-weaning and post-natal, respectively. Despite eosinophils and monocytes being part of the differential leukocyte count, the table above does not include their values. This is because the figures

found were not statistically significant. The low cell count for these lineages remained within the normative range for the species: monocytes ranged from 0 to 5, and eosinophils from 1 to 5.

Comparative analysis between the healthy and the negative control group

revealed a reduction in the number of leukocytes at 21 days ($p=0.001$). This finding provides evidence that alcohol consumption is associated with an immunosuppressive response.

Prenatally ethanol-exposed group receiving folic acid supplementation combined with low-dose of SEE exhibited no significant alteration in the cellular response of neonates. In contrast, medium and high-dose SEE groups demonstrated increased neutrophil values ($p=0.024$ and $p=0.009$, respectively) and decreased lymphocyte values ($p=0.024$ and $p=0.026$, respectively).

While the cellular response in plant saponin-treated groups (21 days post-exposure) failed to demonstrate significant activation relative to the healthy control group, all treated groups exhibited a consistent preventive trend against leukocyte reduction, which was recorded in the negative control

group. Furthermore, in the case of the 25 and 100 mg/kg doses, the leukocyte values were statistically higher than in the untreated group ($p=0.013$ and $p=0.048$, respectively).

After 31 days, it was notable that all groups treated with different doses of SEE from *A. brittoniana* and folic acid showed a significant increase in leukocytes compared to the negative control group ($p = 0.05$). A marked increase in lymphocyte values was observed in groups treated with folic acid ($p = 0.008$ in both cases) and the higher dose of SEE ($p = 0.043$ and $p = 0.002$, respectively), compared to the healthy group and negative control group.

Table 2 illustrates the behaviour of the immunoglobulins in the experimental model. The values of immunoglobulin IgA are not displayed in the table as they fall below the detection limits of the test.

Table 2

Immunoglobulin values (g/L) in neonatal rats exposed to prenatal alcohol toxicity treated with SEE of *A. brittoniana*. The data are presented as mean \pm standard deviation

Group	IgM		IgG	
	W	F	W	F
I	0.074 \pm 0.04 ^a	0.116 \pm 0.08 ^a	0.194 \pm 0.07 ^a	0.185 \pm 0.16 ^a
II	0.069 \pm 0.04 ^a	0.076 \pm 0.04 ^a	0.271 \pm 0.15 ^a	0.145 \pm 0.06 ^a
III	0.072 \pm 0.05 ^a	0.064 \pm 0.05 ^a	0.191 \pm 0.11 ^a	0.294 \pm 0.20 ^b
IV	0.058 \pm 0.05 ^a	0.073 \pm 0.05 ^a	0.642 \pm 0.19 ^b	0.175 \pm 0.20 ^a
V	0.075 \pm 0.05 ^a	0.100 \pm 0.0 ^a	0.840 \pm 0.13 ^b	0.148 \pm 0.04 ^a
VI	0.082 \pm 0.04 ^a	0.070 \pm 0.05 ^a	0.857 \pm 0.25 ^b	0.226 \pm 0.03 ^a

Note: I: Healthy Group, II: Negative Control, III: Folic Acid, IV: SEE group (dose 25 mg/kg bw), V: SEE group (dose 50 mg/kg bw), VI: SEE group (dose 100 mg/kg bw). Different superscripts in the same column mean significant differences between groups (U-Mann Whitney). W (weaning): Corresponds to the second sampling at 21 days of age. F (final): Corresponds to the third sampling at 31 days after birth.

A comparison of the healthy group at 21 days with the remaining groups revealed a significant increase in IgG values in all groups treated with SEE of *A. brittoniana* at doses of 25 mg/kg ($p=0.008$), 50 mg/kg ($p=0.036$) and 100 mg/kg ($p=0.036$). Furthermore, higher levels of this immunoglobulin were observed in the SEE-treated groups when compared to the negative control ($p < 0.05$).

Table 3 illustrates the behaviour of serum complement in neonatal rats exposed to prenatal alcohol toxicity.

A significant decrease in C3 values was observed in the negative control group after 21

days ($p=0.01$), as well as in groups treated with SEE of *A. brittoniana* ($p<0.05$) and folic acid ($p=0.009$). No significant differences were observed in complement C4 at 21 days when the experimental groups were compared.

At the conclusion of the study (31 days postpartum), a reduction in C3 and C4 levels was observed in almost all of the experimental groups compared to the healthy group. Doses of 100 mg/kg of SEE produced values that were comparable to those of the healthy group ($p > 0.05$), with levels of this fraction recovering by the end of the study.

Table 3

Serum complement (g/L) in neonatal rats exposed to prenatal alcohol toxicity treated with SEE of *A. brittoniana*. The data are presented as mean ± standard deviation

Group	C3		C4	
	W	F	W	F
I	0.221±0.03 ^a	0.313 ±0.12 ^a	0.022±0.00 ^a	0.050±0.01 ^a
II	0.114±0.05 ^b	0.231± 0.06 ^b	0.025±0.01 ^a	0.028±0.00 ^b
III	0.140±0.06 ^b	0.150± 0.03 ^c	0.025±0.01 ^a	0.020±0.01 ^b
IV	0.113±0.01 ^b	0.191±0.02 ^b	0.028±0.01 ^a	0.020±0.01 ^b
V	0.127±0.01 ^b	0.190±0.04 ^b	0.028±0.01 ^a	0.025±0.01 ^b
VI	0.118±0.08 ^b	0.286±0.08 ^a	0.015±0.01 ^a	0.021±0.01 ^b

Note: I: Healthy Group, II: Negative Control, III: Folic Acid, IV: SEE group (dose 25 mg/kg bw), V: SEE group (dose 50 mg/kg bw), VI: SEE group (dose 100 mg/kg bw). Different superscripts in the same column mean significant differences between groups (U-Mann Whitney). W (weaning): Corresponds to the second sampling at 21 days of age. F (final): Corresponds to the third sampling at 31 days after birth.

Discussion. Prenatal exposure to alcohol can result in a broad range of physical and behavioural abnormalities. These are categorised into a particular pattern of birth defects known as fetal alcohol syndrome [35].

Pregnancy is a period of immunosuppression in women due to the necessity for the mother's immune system to tolerate the foetus. In this context, it has been demonstrated that the consumption of alcohol, specifically ethanol, and its metabolite, acetaldehyde, has the capacity to interfere with fetal development. The mechanisms by which these substances exert their detrimental effects include the disruption of cell differentiation and growth, the alteration of DNA and protein synthesis, and the inhibition of cell migration. Furthermore, both modify the intermediary metabolism of carbohydrates, proteins and fats, decrease the transfer of amino acids, glucose, folic acid, zinc and other nutrients across the placental barrier, and indirectly affect fetal growth due to intrauterine nutrient deprivation [36, 37].

The outcomes demonstrated in the present study are in accordance with observations recorded in human clinical practice, occurring independent of any infectious agent or allergenic triggers. The immune system may be affected by alterations in neutrophil polymorphonuclear cell mobility and adhesion, as well as in the late hypersensitivity response or type IV. Nevertheless, these values remain within the

physiological range reported for the species [38].

Cellular immune response results demonstrate various agave dosage groups potentially counteract alcohol-induced leukocyte reduction [36]. Furthermore, the increase in lymphocytes observed in both the group administered the highest dose of SEE and folic acid suggests that cell proliferation may be activated, thereby enhancing the immunogenicity of the antigenic proteins [37]. This stage, in turn, makes the antigen-presenting action of the macrophages more effective

Among the principal secondary metabolites isolated from *A. brittoniana* T. subsp. *brachypus* are saponins, which have demonstrated immunomodulatory activity in other species containing this metabolite [25, 27]. In studies with rats immunised with a suspension of ram red blood cells, where hydroalcoholic extracts of *Phenax rugosus* plant containing saponins in its phytochemical composition were administered, there were statistically significant increases in total leukocyte and lymphocyte counts ($p < 0.05$). Other plants that also contain saponins among their secondary metabolites, such as *Solanum dolichosepalum* also demonstrated increases in leukocyte, lymphocyte and monocyte counts [39]. Sheng et al. [40] observed that the immune system of rats was stimulated by the increase in total leukocyte count observed after 8 weeks of supplementation with cat's claw

(*Uncaria tomentosa*) containing saponins. In a shorter time frame (21 days), the crude saponins from *A. brittoniana* T. (25 and 100 mg/kg) were observed to increase plasma leukocyte levels.

Guerra and collaborators [20, 21] had proved that the butanolic fraction of the hydroalcoholic extract of *A. brittoniana*, obtained following the same scheme described in this research, contain steroidal saponins as its major metabolites together with reducing sugars. Other metabolites have been detected in butanolic fraction but at lower concentrations, in different species of agave genus [41, 42].

The negative control group, which was exposed to alcohol toxicity from prenatal age and without treatment, demonstrated a decrease in complement C3 and C4. Maternal alcohol consumption results in a reduction in the blood concentration of various micronutrients, including potassium, magnesium, zinc, phosphorus, calcium, and others. Additionally, the generation of free radicals caused by alcohol intake can lead to structural and functional damage to cells. These alterations, which occur through placental communication, have consequences for the formation and maturation of fetal structures during the gestational period and also during breastfeeding. The intracellular calcium and magnesium levels depressed by the effects of alcohol would modify numerous cell signalling cascades, including the complement system [7, 36].

In this research, we utilised neonatal rats corresponding to human developmental stages of 3, 5, and 7 months of age [43]. Consequently, the figures may be undetectable due to the young age of the biological models. It is critical to note that the synthesis of immunoglobulin A (IgA) initiates late in life, with serum concentrations increasing progressively until achieving normative titers at 4-5 years [44].

This immunoglobulin may partially explain the reduced complement fraction levels observed, as these factors are essential for activating complement cascade intermediates. Conversely, it has been

demonstrated that ethanol and acetaldehyde, the primary metabolites of alcohol, alter the hepatocyte cell membrane, thereby activating the complement cascade – particularly the C5a fraction, which is a potent chemotactic factor for neutrophils. The accumulation and activation of neutrophils generates the production of free radicals, which attack molecules in their environment [45]. Consequently, complement levels are decreased due to their consumption in an environment that promotes cellular inflammation. The net result is a marked decrease in complement levels and an increase in the cytotoxic effect of alcohol on the body's own cells, which activates a vicious cycle of increased oxidative stress [37].

The reduced levels of complement factors C3 and C4 were maintained after 21 days in groups treated with different doses of the plant extract, as well as in groups treated with folic acid. The group that received the highest dose of saponins demonstrated the most promising results, with C3 values approaching those of the healthy control group after 31 days. The remaining subjects exhibited continued decreases in C3 and C4 values. This result may indicate that this dose is more effective in neutralising the toxic effects of alcohol, particularly in relation to the inflammatory environment. This behaviour could result in the activation of complement as a consequence of cell damage and a decrease in the synthesis of these protein intermediates, which are affected by direct damage to the hepatocyte where they are synthesised [14, 15].

In the context of the acquired immune response, elevated IgG levels are a predominant phenomenon. This result is consistent with the activation of the complement system, which facilitates phagocytosis [44]. Therefore, saponins may have an immunostimulatory effect by increasing IgG production [27].

Saponins have the capacity to stimulate plasma cell receptors, which in turn stimulate the Th1 response. This process results in the production of IFN γ (interferon) and TNF α (tumour necrosis factor), which in turn induces

the production of the immunoglobulin IgG. Saponins, due to their lipid nature, may be able to directly stimulate B cells, thus behaving as T antigen-independent [27].

At the conclusion of the study, the increase in IgG observed in the neonates following the administration of saponins to the progenitor mothers was reversed, with the parameter returning to values comparable to those observed in the healthy group. This phenomenon could be explained by the clearance of saponins from the neonates' bodies. It is understood that after 21 days of age, they are weaned and only the saponins passed during the lactation stage remain circulating.

The literature contains publications that address the mechanisms of action that explain the immunomodulatory activity of saponins and justify their potential use in both therapeutics and vaccine production [17, 41].

The complement system is involved in the modulation of the specific humoral immune response. The C3 component of the complement system is the most significant and prevalent protein. The concentration is reduced in a number of cases, including but not limited to inflammatory and infectious diseases, alcoholic patients and environments that inhibit the synthesis of cascade intermediates [38].

The impact of the SEE of *A. brittoniana* on the immune system of animals with impaired immunity due to alcohol toxicity allows us to observe an increase in the leukocyte response at the expense of lymphocytes at the conclusion of the study. With regard to the humoral response, a dose-dependent increase in IgG can be observed prior to weaning. However, in the group receiving the highest dose, the levels of C3 and C4, which are reduced in the alcohol toxicity model, only recovered to a level similar to that of C3 in the healthy group. C4 remained at lower values. These results suggest that the natural product being investigated could reverse some of the adverse effects associated with alcoholic immunosuppression. Elevating lymphocyte levels and antibody production improves immune system responsiveness to

levels comparable with those achieved through folic acid treatment [44].

The low activation of the immune system after 31 days post-exposure may suggest that a different dosing schedule, which takes into account the postnatal age of the subjects, should be employed to assess the consistency of the immunomodulatory effect of the species' saponins in the FAT model.

The preliminary evaluation of immunomodulatory compounds is typically oriented towards non-specific mechanisms that activate both innate and acquired immunity. Consequently, *in vivo* models are utilised to evaluate the protective capacity of these compounds against immune system injury. Further studies should investigate the type of lymphocyte fraction involved, as well as the specific immunomodulatory mechanism taking into account the type of cytokines involved.

Conclusions. The immunomodulatory capacity of saponin-rich fractions of *A. brittoniana* has been demonstrated by increasing the cellular and humoral immune response of animals immunocompromised by fetal alcohol toxicity.

Financial support

This research was funded by the project 'Evaluation of the immunomodulatory and antineoplastic potential of Agave brittoniana species' (22-002P/F), part of the National Programme of Natural and Traditional Medicine of the Cuban Ministry of Health.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Strzelec M, Detka J, Mieszczak P, et al. Immunomodulation-a general review of the current state-of-the-art and new therapeutic strategies for targeting the immune system. *Frontiers in Immunology*. 2023;14:1127704. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1127704>
2. Hu T, Liu CH, Lei M, et al. Metabolic regulation of the immune system in health and diseases: mechanisms and interventions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*.

- 2024;9(1):268. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01954-6>
3. Rommasi F, Nasiri MJ, Mirsaeidi M. Immunomodulatory agents for COVID-19 treatment: possible mechanism of action and immunopathology features. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2022;477(3):711-726. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04325-9>
 4. Poznyak P, Rekke D. Global Status Report on Alcohol and Health 2018 [Internet]. Geneva: World Health Organ; 2018 [cited 2025 Apr 24]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639>
 5. Fama R, Le Berre AP, Sullivan EV. Alcohol's unique effects on cognition in women: A 2020 (Re)view to envision future research and treatment. *Alcohol Research: Current Reviews*. 2020;40(2):03. DOI: <https://doi.org/10.35946/arcr.v40.2.03>
 6. McMahan RH, Anton P, Coleman LG, et al. Alcohol and immunology: mechanisms of multi-organ damage. Summary of the 2022 alcohol and immunology research interest group (AIRIG) meeting. *Alcohol*. 2023;110:57-63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2023.04.002>
 7. Chung DD, Pinson MR, Bhenderu LS, et al. Toxic and teratogenic effects of prenatal alcohol exposure on fetal development, adolescence, and adulthood. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(16):8785. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22168785>
 8. Cook JL, Green CR, Lilley CM, et al. Fetal alcohol spectrum disorder: a guideline for diagnosis across the lifespan. *Canadian Medical Association Journal*. 2016;188(3):191-197. DOI: <https://doi.org/10.1503/cmaj.141593>
 9. Crews FT, Bechara R, Brown LA, et al. Cytokines and alcohol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2006;30(4):720-730. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00084.x>
 10. Sowell KD, Uriu-Adams JY, Van de Water J, et al. Implications of altered maternal cytokine concentrations on infant outcomes in children with prenatal alcohol exposure. *Alcohol*. 2018;68:49-58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2017.08.006>
 11. Kany S, Janicova A, Relja B. Innate immunity and alcohol. *Journal of Clinical Medicine*. 2019;8(11):1981. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm8111981>
 12. Moro-García MA, Mayo JC, Sainz RM, et al. Influence of inflammation in the process of T lymphocyte differentiation: proliferative, metabolic, and oxidative changes. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:339. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00339>
 13. Pasala S, Barr T, Messaoudi I. Impact of Alcohol Abuse on the Adaptive Immune System. *Alcohol Research: Current Reviews*. 2015;37(2):185-197. DOI: <https://doi.org/10.35946/arcr.v37.2.04>
 14. Ruiz-Cortes K, Villageliu DN, Samuelson DR. Innate lymphocytes: Role in alcohol-induced immune dysfunction. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:934617. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.934617>
 15. Jerrells TR, Weinberg J. Influence of ethanol consumption on immune competence of adult animals exposed to ethanol in utero. *Alcohol, Clinical and Experimental Research*. 1998;22(2):391-400. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1998.tb03665.x>
 16. Hooda P, Malik R, Bhatia S, et al. Phytoimmunomodulators: A review of natural modulators for complex immune system. *Heliyon*. 2023;10(1):e23790. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23790>
 17. Zebeaman M, Tadesse MG, Bachheti RK, et al. Plants and plant-derived molecules as natural immunomodulators. *BioMed Research International*. 2023;2023:7711297. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/7711297>
 18. Parbat AY, Malode GP, Shaikh AR, et al. Ethnopharmacological review of traditional medicinal plants as immunomodulator. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*. 2021;6(2):43-55. DOI: <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2021.6.2.0048>
 19. Álvarez de Zayas A. Los agaves de Cuba central. *Fontqueria*. 1996;44:117-128.
 20. Guerra JO, Meneses A, Simonet A, et al. Saponinas esteroidales de la planta *Agave brittoniana* (Agavaceae) con actividad contra el parásito *Trichomona vaginalis*. *Revista de Biología Tropical*. 2008;56(4):1645-1652.
 21. Guerra JO, Nogueiras LC, Delgado CR, et al. Determinación cuantitativa de saponinas y azúcares reductores del *Agave brittoniana* T. *Revista Cubana de Química*. 2001;13(3):37-42.
 22. González-Madariaga Y, Mena Y, Martín D, et al. *In vivo* anti-inflammatory effect of saponin-enriched fraction from *Agave brittoniana* Trel subspecies *brachypus*. *Ars Pharmaceutica*. 2020;61(4):231-237. DOI: <http://dx.doi.org/10.30827/ars.v61i4.15352>

23. Resino-Ruiz D, González-Madariaga Y, Nieto L, et al. Anti-inflammatory Activity: In silico and In vivo of Sapogenins Present in *Agave brittoniana* subsp. *brachypus* (Trel.). *Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*. 2023;22(1):42-48. DOI: <https://doi.org/10.2174/1871523022666230419103027>
24. González-Madariaga Y, Santiestéban-Muñoz D, Nieto-Reyes L, et al. Experimental pharmacology assessment of *Agave brittoniana* subsp. *brachypus* (Trel.) in ulcerative colitis. *Journal of Research in Pharmacy*. 2024;28(6):870. DOI: <https://doi.org/10.29228/jrp.870>
25. White CS, Dilger RN. Immunomodulatory potential of dietary soybean-derived saponins. *Journal of Animal Science*. 2024;102:skae349. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skae349>
26. Behl T, Kumar K, Brisc C, et al. Exploring the Multifocal Role of Phytochemicals as Immunomodulators. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021;133:110959. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110959>
27. Shen L, Luo H, Fan L, et al. Potential Immunoregulatory mechanism of plant saponins: A review. *Molecules*. 2024;29(1):113. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules29010113>
28. Wijesekara T, Luo J, Xu B. Critical review on anti-inflammation effects of saponins and their molecular mechanisms. *Phytotherapy Research*. 2024;38(4):2007-2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.8164>
29. Xie L, Zhao YX, Zheng Y, Li XF. The pharmacology and mechanisms of platycodin D, an active triterpenoid saponin from *Platycodon grandiflorus*. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1148853. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1148853>
30. Miranda M, Cuéllar A. *Pharmacognosy and Natural Products*. 2nd ed. Havana, Cuba: Editorial Félix Varela; 2001.
31. Bodnar TS, Hill LA., Weinberg J. Evidence for an immune signature of prenatal alcohol exposure in female rats. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2016;58:130-141. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.05.022>
32. Terasaki, LS, Schwarz JM. Effects of moderate prenatal alcohol exposure during early gestation in rats on inflammation across the maternal-fetal-immune interface and later-life immune function in the offspring. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2016;11(4):680-692. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11481-016-9691-8>
33. Wang R, Martin CD, Lei AL, et al. Moderate prenatal ethanol exposure leads to attention deficits in both male and female rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2021;45(5):1122-1135. DOI: <https://doi.org/10.1111/acer.14599>
34. Baur DJ. *Diagnostic methods of the clinical laboratory*. 8th ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1983. Spanish.
35. Bastias CO, Sidgman FG, Rodriguez CR. Immunology laboratory in clinical practice. *Revista Medica Clinica Las Condes*. 2015;26(6):764-775. Spanish. DOI: <https://doi.org/10.1016/oj.rmclc.2015.11.005>
36. Hur YM, Choi J, Park S, et al. Prenatal maternal alcohol exposure: diagnosis and prevention of fetal alcohol syndrome. *Obstetrics and Gynecology Science*. 2022;65(5):385-394. DOI: <https://doi.org/10.5468/ogs.22123>
37. Crotty K, Anton P, Coleman LG, et al. A critical review of recent knowledge of alcohol's effects on the immunological response in different tissues. *Alcohol, Clinical and Experimental Research*. 2023;47(1):36-44. DOI: <https://doi.org/10.1111/acer.14979>
38. Abbas A, Litchman A, Pober J. Cells and tissues of the immune system. In: *Cellular and Molecular Immunology*. 8th ed. Madrid: Mc Graw Hill; 2015.
39. Pérez JE, Isaza GI, Bueno JG, et al. Effect of extracts of *Phenax rugosus*, *Tabebuia chrysantha*, *Althernantera williamsii* and *Solanum dolichosepalum* on leukogram and antibody production in rats. *Revista Médica de Risaralda*. 2004;10(2):7953. Spanish. DOI: <https://doi.org/10.22517/25395203.7953>
40. Sheng Y, Bryngelsson, Pero RW. Enhanced DNA repair, immune function and reduced toxicity of C-MED-100, a novel aqueous extract from *Uncaria tomentosa*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000;69(2):115-126. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(99\)00070-7](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(99)00070-7)
41. Bermúdez-Bazán M, Castillo-Herrera GA, Urias-Silvas JE, et al. Hunting bioactive molecules from the Agave genus: An update on extraction and biological potential. *Molecules*. 2021;26(22):6789. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26226789>
42. Pérez AJ, Calle JM, Simonet AM, et al. Bioactive steroidal saponins from Agave offoyana flowers. *Phytochemistry*. 2013;95:298-307. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.06.020>
43. Jacob FW, Lima CC, Paunksnis MRR, et al. Reference database of hematological

parameters for growing and aging rats. *Aging Male*. 2018;21(2):145-148. DOI:

<https://doi.org/10.1080/13685538.2017.1350156>

44. Abbas A, Litchman A, Pober J. Antibodies and antigens. In: *Cellular and Molecular Immunology*. 8th ed. Madrid: Mc Graw Hill; 2015.

45. Chen M, Zhong W, Xu W. Alcohol and the mechanisms of liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2023;38(8):1233-1240. DOI:

<https://doi.org/10.1111/jgh.16282>

Received 24 April 2025

Revised 1 December 2025

Accepted 9 December 2025

Information about the authors

Yisel González-Madariaga, PhD, Head of the Science and Technological Innovation, Titular

Researcher of the Experimental Toxicology Unit, University of Medical Sciences of Villa Clara, Santa Clara, Cuba, Email: yiselmadariaga@infomed.sld.cu, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0461-0741>.

Dayamis Rega-Echavarría, DM, MSc, Clinical Laboratory Specialist, Jose Luis Miranda Paediatric Hospital, Santa Clara, Cuba, Email: dayamire@infomed.sld.cu, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8355-0144>.

Areliá Pizarro-Espin, MSc, MV, Researcher of the Experimental Toxicology Unit, University of Medical Sciences of Villa Clara, Santa Clara, Cuba, Email: areliape@infomed.sld.cu, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3137-7615>.

Milene Águila-Castillo, Licensed Researcher of the Experimental Toxicology Unit, University of Medical Sciences of Villa Clara, Santa Clara, Cuba, Email: milenaac@infomed.sld.cu, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-5940-1000>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-6

УДК 615

Anti-Proliferative Activity of [Cu(phen)(D-threo)]NO₃ + F⁻ Against Colorectal and Ovarian Cancer Cell Lines

Sharmimi Mahazair¹ , Fong L. Yen² , Ng Ch. Theng³ , Yong Y. Keong¹ ,
Muhammad N. Hakim¹ , Zuraini Ahmad¹ 

¹ University of Putra Malaysia,
Serdang, 43400, Malaysia

² University of Tunku Abdul Rahman,
University St., Kajang, 31900, Malaysia

³ Asian Institute of Medicine, Science and Technology,
½ 3 Batu St., Bedong, 08100, Malaysia

Corresponding author: Muhammad N. Hakim (nazrulh@upm.edu.my)

Abstract

Background: Cancer is a malignant disease characterized by the uncontrolled division of cells, leading to the invasion and destruction of healthy tissues. Copper(II) complexes of 1,10-phenanthroline and its derivatives have demonstrated various biological activities, including anti-tumor, anti-Candida, antimycobacterial, and antimicrobial effects. **The aim of the study:** To investigate the anti-proliferative effect of Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F on the ovarian cancer cell line (A2780) and the colorectal cancer cell line (HT-29). **Materials and methods:** The copper compound was tested against A2780 and HT-29 cells using the MTT assay at concentrations of 1.0, 2.0, 5.0, 10, 15, and 20 μM, followed by incubation for 24, 48, and 72 hours. IC₅₀ values were determined to assess the compound's potency. Subsequently, apoptosis induction was evaluated by quantifying caspase-9 protein expression using a human caspase-9 ELISA kit, and DNA fragmentation activity was assessed through agarose gel electrophoresis. **Results:** The MTT assay revealed that increasing concentrations of the copper compound led to a dose-dependent decrease in cell viability across all incubation periods for both cancer cell lines. The IC₅₀ value for A2780 cells was 1.70±0.26 μM after 72 hours, indicating greater sensitivity compared to HT-29 cells, which exhibited an IC₅₀ of 8.42±0.63 μM. Despite its cytotoxic effects, the compound did not induce apoptosis via the caspase-9 pathway, nor did it promote DNA fragmentation in either cell line, as no significant differences were observed compared to the control group in both assays. **Conclusion:** Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F demonstrated a significant anti-proliferative effect on A2780 and HT-29 cancer cell lines, occurring independently of apoptotic pathways.

Keywords: Copper (II) Complex; Anti-Proliferative Activity; Cancer Cell Lines; IC₅₀; Apoptosis Assay

For citation: Mahazair Sh, Yen FL, Theng NCh, et al. Anti-Proliferative Activity of [Cu(phen)(D-threo)]NO₃ + F⁻ Against Colorectal and Ovarian Cancer Cell Lines. Research Results in Biomedicine. 2026;12(3):451-461. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-6

Introduction. One of the most potent anti-tumor drugs on the market, cisplatin is frequently used to treat solid tumors such as head and neck malignancies, ovarian, lung, and germ cell tumors [1]. It is linked to a number of severe side effects, such as nausea, ototoxicity, and neurotoxicity [2]. Copper has been identified as a more potent and less toxic metal core used in some anticancer drugs. It plays a significant role in endogenous oxidative DNA damage, which is linked to cancer development and aging. As an anti-angiogenic and anticancer agent, a strong copper chelator has demonstrated therapeutic benefits in the treatment of various types of cancer [3].

Copper is a biologically transition metal and it has been extracted for thousands of years; it was known to the Romans as cuprum. The metal is malleable and ductile and an excellent conductor of heat and electricity. Copper is a metal that is usually used to make electrical cables and wires. It contains the element in the +1 and +2 oxidation stress. Copper (I) compounds are mostly white and Copper (II) salts are blue in solution. Numerous proteins and enzymes, including cytochrome oxidase, superoxide dismutase, ascorbate oxidase, and tyrosinase, which are involved in energy metabolism, respiration,

and DNA synthesis, depend on it for proper operation. Primarily as a cofactor in several enzymes that promote oxidation-reduction reactions, copper is essential to biological activities. These reactions typically involve copper interacting directly with molecular oxygen, resulting in the formation of free radicals. Given its high reactivity, maintaining proper copper levels is crucial, requiring tightly regulated homeostatic mechanisms. These processes ensure an adequate supply of copper to support essential physiological functions while preventing the toxic effects that can result from excessive copper accumulation [4].

As they can target DNA, copper complexes of 1,10-phenanthroline (Fig. 1) and its derivatives have been used as DNA nucleases in foot printing agents [5]. A number of anticancer drugs known as casiopeinas have been discovered by the modification of the 1,10-phenanthroline copper complex, and one of the complexes has been demonstrated to cause the death of murine leukemia cell lines. Numerous biological processes are disrupted by 1,10-phenanthroline (1,10-phen), 2,20-bipyridine (2,20-bipy), and their substituted derivatives, both in their metal-free form and as ligands coupled to transition metals [6].

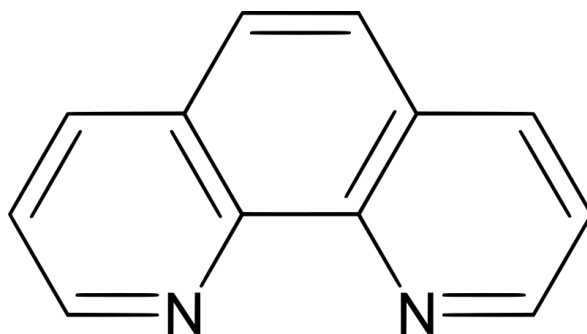


Fig. 1. Chemical structure of 1,10-Phenanthroline

The aim of the study. The effects of copper complexes of 1,10-phenanthroline, particularly on their anti-cancer properties, have not been well studied. Thus, investigating Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F's anti-proliferative impact on colorectal and ovarian cancer cell lines through apoptosis is the main objective of this work.

Materials and Methods

Compound and Cell Lines

Copper (II) complexes of 1,10-phenanthroline and D-threonine associated with NO₃ + F, Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F was supplied by the Department of Chemistry, University of Malaya. Colorectal (HT-29) and ovarian cancer (A2780) cell lines were

purchased from the American Type Culture Collection (ATCC), USA.

Chemicals and Reagents

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), Penicillin/Streptomycin antibiotic, Foetal bovine serum (FBS) were purchased from Gibco, Life Technology, UK. Trypsin-EDTA was obtained from ScienCell™ Research Laboratories; ethidium bromide and other standard laboratory chemicals are from Sigma Aldrich, USA and gel powder from Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai. MTT reagent was purchased from Calbiochem®, Merck. The kits that I used are DNA extraction kit (iNtRON Biotech., Korea) and caspase-9 kit (Chemicon® Japan).

Cell Seeding

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) was used to cultivate both cancer cell lines on a 96-well plate. 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% antibiotics (100U/ml penicillin and 100mg/ml streptomycin) were added to the medium. After cell counting, the cells were prepared based on the concentration that has been set for each well with 1×10^6 cells/mL. 100µL of the mixture of cells with fresh medium was added into the well respectively. Then, the cells were incubated at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ for overnight before the treatment was carried out.

Cell Proliferation Assay and IC₅₀ Value

MTT assay was performed to measure the *in vitro* anti-proliferation effects of copper compound on cancer cell lines. Briefly, cancer cells were seeded into 96-well plates and left for overnight at 37°C. Each cancer cells were treated with copper (II) complex with different concentrations which are 1µM, 2µM, 5µM, 10µM, 15µM and 20µM and then incubated for 24, 48 and 72 hours. Negative control was treated by using fresh supplemented medium. MTT solution (0.5 mg/mL) was added and incubated for 4 hours. The dark blue formazan crystals formed in intact cells were dissolved in DMSO. The concentration of formazan was reflected in optical density (OD), as measured using a fluorescence microplate reader at 570 and 630 nm [7].

IC₅₀ is the concentration of an inhibitory substance that causes 50% inhibition of cell viability. IC₅₀ for each cancer cell lines can be

determined from the dose-response graph as in the result [8].

Human Caspase-9 ELISA Assay

Cancer cells were cultured to a density optimal for apoptosis induction not exceeded 10^6 cells/mL. The cancer cells were treated with copper compound by using IC₅₀ value. Concurrently, a negative control cell population which is non-induced also incubated at the same density. The sample was prepared for each labelling condition. Four populations have been prepared for Unlabeled, induced and non-induced and FLICA-labeled, induced and non-induced.

The Fluorochrome Inhibitors of Caspases (FLICA) are the basis for Caspase-9 In Situ Assay Kits. A green fluorescence is produced by the carboxyfluorescein-labeled fluoromethyl ketone peptide inhibitor of caspase-9 (FAM-LEHD-FMK) used in this experiment. A reactive cysteine residue on the large subunit of the caspase heterodimer will be covalently bound by this inhibitor. The amount of activated caspase-9 in the cell at the moment the reagent was applied is shown by the green fluorescence signal. Detailed protocol is published elsewhere [9]. 100µL of each cell suspension was placed into each of two wells of a black micro titer plate. The absorbance was read by using an excitation wavelength of 490nm and emission wavelength of 520nm

Measurement of DNA fragmentation

Total DNA was isolated from the pelleted cells using a DNA extraction kit. The DNA was subjected to 2.5% agarose gel electrophoresis in Tris-acetate-EDTA running buffer and stained with 0.5 µg/mL ethidium bromide. DNA stained with ethidium bromide on agarose gels may be seen by transillumination with ultraviolet light and captured on camera with an AlphaImager® HP gel picture system [10].

Statistical analysis

The mean ± standard deviation (SD) was used to express all data. The Statistical Package for Social Science (SPSS) version 24.0 was used to analyze the data using one-way analysis of variance (ANOVA) and then Duncan's multiple range test. Data was considered statistically significant at the value of probability less than 0.05 (P<0.05).

Results.

Anti-proliferation effect of copper (II) complex on cancer cell lines

Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F was initially incubated with two cancer cell lines, HT-29 and A2780, at various concentrations. The anti-proliferative effects were assessed using the MTT assay. Data obtained for the copper(II) complex following continuous incubation for 24, 48, and 72 hours were used to calculate IC₅₀ values. The compound demonstrated a

concentration- and time-dependent anti-proliferative profile in both cell lines.

Table shows the IC₅₀ values of copper (II) complex as tested in A2780 and HT-29 cells at different time incubation. The result indicates that the compound has certain effect on cancer cells and exhibit cytotoxic activity toward the tested human cancer cell lines, especially against A2780 cells. A2780 cells appeared to be more sensitive which showed comparatively lower IC₅₀ values compared to IC₅₀ values of HT-29 cells.

Table

IC₅₀ values of Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F towards A2780 and HT-29 cells at various incubation times as determined by using MTT assay

Incubation Time (hours)	IC ₅₀ (μM)	
	A2780 cells	HT-29 cells
24	12.73 ± 0.42 ^a	19.80 ± 0.35 ^a
48	2.32 ± 0.85 ^b	8.77 ± 0.104 ^b
72	1.70 ± 0.26 ^b	8.42 ± 0.63 ^b

Note: The values were the mean of three replicate samples (n=3) and the data were presented as mean ± SD. ^{a-b}mean with different superscript differ significantly (p<0.05).

Based on the MTT assay, exposure of A2780 cells to increasing concentrations of the copper(II) complex resulted in a decrease in cell viability, as shown in Figure 2. The dose-response curves indicated a significant reduction (p<0.05) in the percentage of cell viability after A2780 cells were treated with

various concentrations of the copper(II) complex for 24 hours. A similar decline in cell viability was observed with increasing concentrations of the complex over 48 and 72 hours of incubation. Cell viability was not significantly altered by the 48- or 72-hour treatments.

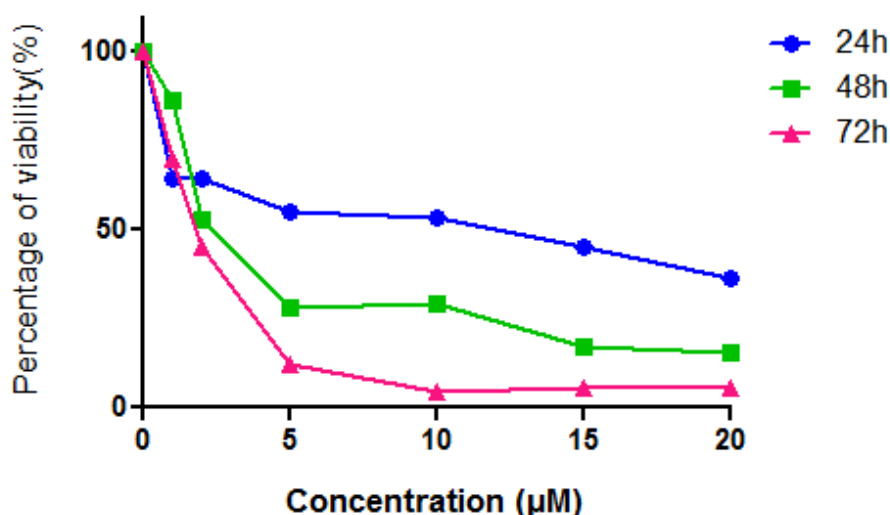


Fig. 2. The effect of copper (II) complex on the viability of A2780 cells after 24-72 hours incubation as determined by MTT assay

Time-course experiments using different concentration of copper (II) complex up to three days showed that its anti-proliferative activity was already evident after 24 hours of treatment.

Figure 3 shows the dose-response curves, demonstrating a decrease in cell viability in HT-29 cells following treatment with the copper (II) complex at increasing concentrations of 1.0, 2.0, 5.0, 10, 15, and

20 μM over a 24-hour incubation period. The figure also illustrates a reduction in cell viability with increasing concentrations of the complex over 48 and 72 hours of incubation.

However, there were no significant differences in cell viability between the 48- and 72-hour treatments at these concentrations.

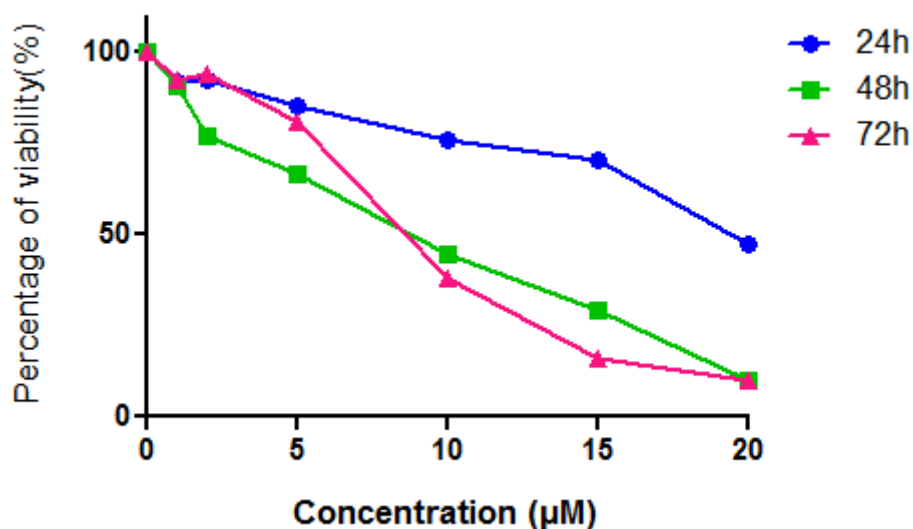


Fig. 3. The effect of copper (II) complex on the viability of HT-29 cells after 24-72 hours incubation as determined by MTT assay

Expression of Caspase-9

The human Caspase-9 ELISA kit was used to measure the amount of caspase activity using a fluorescence microplate reader. The absorbance reading indicates the amount of active caspase-9 present in the cells. Based on

Figure 4, the reading of the absorbance for A2780 cells treated with the concentration $1.7\mu\text{M}$ (IC_{50}) of copper (II) complex was fewer than the reading of the absorbance of control. When compared to the absorbance reading of the negative control, there was no significant change.

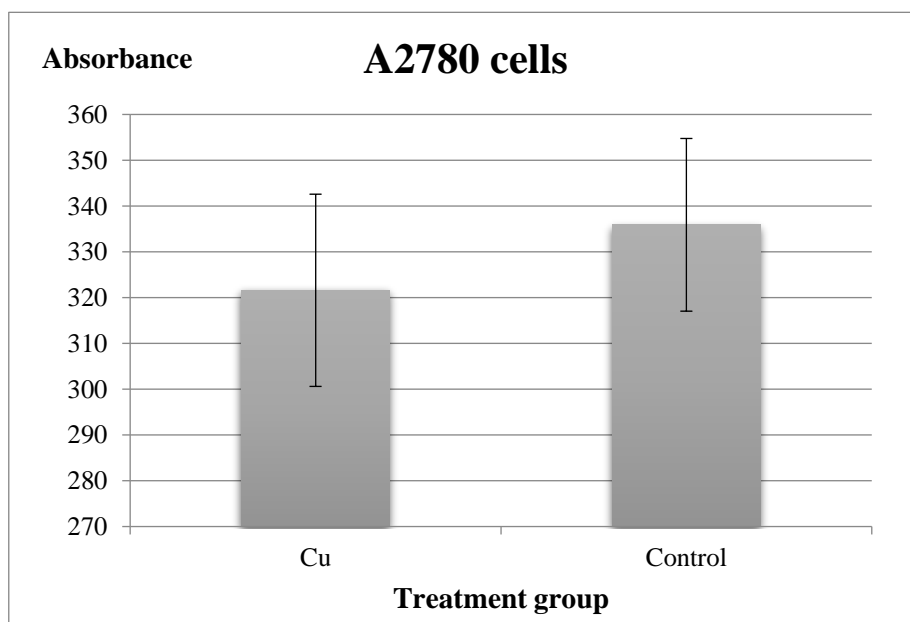


Fig. 4. Caspase activity of A2780 cells after treated with $1.7\mu\text{M}$ (IC_{50}) of copper (II) complex at 72 hours incubation period

DNA fragmentation

After 72 hours of incubation, cells treated with the IC₅₀ concentration of the copper (II) complex were examined for internucleosomal DNA breakage. Agarose gel electrophoresis was used to isolate the DNA

from A2780 cells, which was then stained with ethidium bromide and examined under a UV lamp (Fig. 5). The results showed that DNA from both untreated cells (Lanes 3 and 4) and treated cells (Lanes 5 and 6) remained intact, with no evidence of DNA laddering observed.

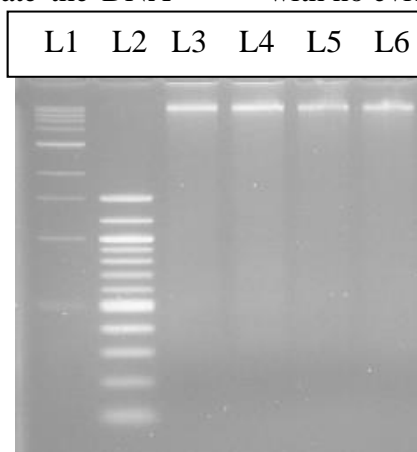


Fig. 5. DNA fragmentation analysis in A2780 cells after treated with the IC₅₀ value of copper (II) complex at 72 hours incubation in 2.5% agarose gel electrophoresis. (L1: 1kb DNA ladder, L2 : 100bp DNA ladder, L3 and L4: Untreated A2780 cells, L5 and L6 : A2780 cells treated at 1.7μM concentration)

Discussion

Anti-proliferative assay (MTT Assay)

The findings of this study demonstrated that increasing concentrations of Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F resulted in decreased cell viability in both ovarian (A2780) and colorectal (HT-29) cancer cell lines across 24, 48, and 72 hours of incubation. Initial viability assays revealed that, after 24 hours of treatment, the IC₅₀ value of the copper(II) complex was significantly higher compared to the IC₅₀ values observed at 48 and 72 hours for both cell lines. However, there was no discernible change in the complex's effects at 48 and 72 hours, suggesting that its anti-proliferative action was already evident at 24 hours, when cell viability had dropped approximately 50%. Therefore, the concentrations of Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F required to achieve 50% growth inhibition in A2780 and HT-29 cells are higher than the respective IC₅₀ values, which are 1.7 μM and 8.42 μM.

Additionally, the findings showed that this compound was acutely toxic to both human ovarian and colorectal cancer cells. The metal-phen complexes were found to be more

potent and to have a cytotoxic effect compared to the most potent simple salt, due to the absence of phen in the simple solvated Cu(II) [11]. The results of the viability study (see Figs. 2, 3 and 4) showed that the Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F displayed a concentration- and time-dependent anti-proliferative effect following 24, 48 and 72 hours of exposure. Furthermore, A2780 cells were shown to be most sensitive, with the Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F compared to HT-29 cells. According to Deegan et al. [12], the copper-phen complex demonstrated the greatest cytotoxic response by inducing a concentration-dependent cytotoxic effect between 3 and 18 times greater than that observed for the metal-based anti-cancer agent, cisplatin. These findings demonstrate that the concentrations of the copper(II) complex required to significantly reduce the viability of cancer cell lines are quite low. For example, 2.8 μM of [Cu(phen)(edda)] was sufficient to decrease the viability of MCF-7 breast cancer cells by 50%, likely due to their higher sensitivity driven by a faster growth rate [12]. Similarly, in this study, the IC₅₀ values for the copper(II) complex were 1.7 μM for A2780

ovarian cancer cells and 8.42 μM for HT-29 colorectal cancer cells, indicating that effective antiproliferative activity occurs at low concentrations.

Human Caspase-9 ELISA Assay

The role of the proteolytic machinery in $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ -induced apoptosis was examined using the carboxyfluorescein-labeled fluoromethyl ketone peptide inhibitor of caspase-9 (FAM-LEHD-FMK). The amount of active caspase-9 in the cells at the moment of reagent addition may be directly determined by the green fluorescent signal that results from this inhibitor's covalent binding to active caspase-9. As shown in Figure 4, the number of active caspase-9 molecules in A2780 cells was lower compared to the control, which exhibited higher fluorescence signals. This indicates that treatment with $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ did not produce a significant increase in caspase-9 activation relative to untreated cells. Therefore, we can conclude that $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ does not induce apoptosis via the caspase-9 pathway. The results are best expressed as the fold increase in caspase activity in apoptotic cells relative to non-induced control cells.

It was found that apoptosome formation in the $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ could still be induced, but subsequent recruitment and activation of caspase-9 by the complex was defective. These results suggest a novel regulation at the level of caspase-9 activation by the apoptosome complex, and this regulation is repressed in the ovarian cancer cells [13]. Copper complexes were also found to inhibit enzymatic activity and induce cell apoptosis [4]. Surprisingly, our data clearly show that the typical apoptotic pathway induced by $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ occurs without activation of known caspases. This conclusion is based on the caspase inhibitors, FAM-LEHD-FMK that clearly inhibit caspase-9 have no effect on apoptosis induced by copper $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ in A2780 cells. Thus, $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ seems to activate a caspase independent pathway resulting in apoptotic pathway. $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ may activate non-caspase-dependent or alternative pathways of

apoptosis, as shown by the comparatively low amount of caspase activation and decreased inhibition by FAM-LEHD-FMK. The mechanism behind the mitochondrial regulation of apoptosis and caspase-independent cell death has been uncovered by recent research. We use the terms caspase-dependent death (apoptosis) and caspase-independent cell death (CICD) to distinguish between these processes, omitting necrosis, which can result from apoptosis failure [14].

Another possible mechanism is that $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ does not directly induce apoptosis in A2780 cells. This may be because caspase-9 is either absent or not activated enough in these cells. Without caspase-9, caspase-3 cannot be activated downstream, which stops the apoptosis cascade from starting. The apoptosome complex activates caspase-9, which acts as an upstream initiator caspase and then triggers caspase-3 [15]. Specifically, active caspase-9 cleaves procaspase-3, converting it into its active form. Active caspase-3 is a key executioner caspase responsible for orchestrating the cellular dismantling characteristic of apoptosis [16]. Therefore, the lack of caspase-9 activation may explain why $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ does not trigger apoptosis in A2780 cells. It has been established that not all known programmed cell deaths need caspase activation, and more attention is focused on key molecules involved in nonapoptotic or caspase-independent programmed cell death pathways [17]. This study greatly supports our assumption that $\text{Cu}(\text{phen})(\text{D-threo})\text{NO}_3 + \text{F}$ may cause caspase-independent cell death. Caspase-independent apoptosis has been observed in several cell types [18]. There are numerous reports of programmed cell death in response to activation of death receptors even when caspases are inhibited, suggesting that caspase-independent pathways can be stimulated by death receptors. Examples include death induced by Fas or TNF α that has been characterized as necrotic [19, 20].

More research has shown that programmed cell death (PCD) may happen even when caspases are completely absent, and

other noncaspase proteases have been shown to be capable of carrying out PCD [21]. Another assumption that can be made about this condition is that Cu(phen)(D-threo)NO₃+F triggered cell death through excessive autophagy. When cells experience excessive autophagy, they die nonapoptotically without caspase activation. It plays a crucial role in cellular remodeling brought on by differentiation, stress, or cytokine-induced damage, and it helps to remove proteins and organelle components [22].

DNA fragmentation

DNA fragmentation is the hallmark of apoptosis and the presence of DNA ladder is a marker for apoptotic cell death. In Figure 5, it has been shown that there was no significant difference between the treated cell and untreated cells (control). The absence of DNA laddering shows that the DNA fragmentation did not occur and we predicted that Cu(phen)(D-threo)NO₃+F was not able to induce apoptosis in A2780 cells through DNA fragmentation. Smearing of the DNA in all treatments could result from necrosis caused by the treatments, or from prolonged apoptosis resulting in secondary necrosis. The increasing drug concentration would cause band smearing, suggesting the possible indication of necrotic cell death [23]. Necrosis-like, caspase-independent programmed cell death is characterised by the absence or marginal presence of chromatin condensation and nuclear fragmentation, as well as the disruption of membrane integrity [24].

The cause of the DNA's failure to break down into oligonucleosomal-length pieces remained unclear and requires further research. Nonetheless, several cell lines have been shown to exhibit no DNA laddering during apoptosis [25]. The presence of big DNA fragments in A2780 cells was verified by field inversion gel electrophoresis. Caspase-9 is the upstream caspase in a protease cascade that activates caspase-3, that induces apoptosis. However, this present study has shown that apoptosis was not triggered by caspase-9. Thus, caspase-3 has not been activated by caspase-9 and apoptosis did not occur. Caspase-3 is required for DNA fragmentation

and some of the typical morphological changes of cells undergoing apoptosis [26]. Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F did not induce apoptosis as lack of internucleosomal DNA fragmentation was observed.

Nevertheless, several publications have demonstrated that some cell lines do not display DNA laddering and instead display the primary characteristics of apoptosis when only high molecular weight (HMW) DNA breakage is present. These consist of several epithelial and mesenchymal cell lines, hepatocytes, and lymphocytic leukemia MOLT-4 cells [25]. Based on Figure 5, the band visible on the agarose gel may represent the larger size of the fragmented DNA. Therefore, Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F may induce apoptosis in the presence of high-molecular-weight DNA cleavage. Kari et al. [25] reported that apoptosis can also occur in the absence of DNA fragmentation. Since oligonucleosomal DNA fragmentation is not necessary for apoptosis to occur, biochemical tests like DNA ladders should not be utilized to characterize this kind of cell death. Although caspase activation may be necessary for the development of the apoptotic morphology, active inhibition of DNA fragmentation or caspase activation frequently shows that these alterations are not necessary for the execution of the cell death program. However, the diagnosis of apoptosis may benefit from the measurement of caspase activity or DNA fragmentation [27].

Moreover, the absence of normal DNA fragmentation in ovarian cancer cells that have undergone apoptosis suggests that there may be a risk of genetic material being transferred from one tumor cell to another or to nearby healthy cells. Since ovarian carcinoma is a heterogeneous cancer [28], it is plausible that genetic information transmission between cancer cells plays a role in the development of aggressive behavior and resistance to immunotherapeutic and chemotherapy treatment regimens [29]. Furthermore, the activation of caspase-3 is not only relies on the activation of caspase-9 but it also influenced by the other factors. According to Tardito et al. [30], apoptosis is not observed in cell death

processes induced by high intracellular copper levels because copper itself inhibits caspase-3 activity. Although there is no direct evidence of a physical interaction between copper and the enzyme, it is plausible that copper interferes with the catalytic cysteine residues within the active site of caspase-3. This inhibitory mechanism supports our findings and leads us to propose that copper may suppress caspase-3 activity, thereby impairing the downstream processes of apoptosis, such as DNA fragmentation.

Conclusion. Cu(phen)(D-threo)NO₃ + F demonstrated potent cytotoxic effects against A2780 and HT-29 cells in a dose- and time-dependent manner. However, apoptosis was not induced via the caspase-9 pathway, and DNA fragmentation was not observed during cell death. While caspase-independent mechanisms, such as mitochondrial-induced apoptosis, cannot be ruled out, their involvement remains uncertain. Therefore, further investigation of alternative pathways for copper-induced apoptosis is required to fully understand the mechanisms underlying its cytotoxic effects.

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. Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic Chemistry*. 2019;88:102925. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>
2. Romani AMP. Cisplatin in cancer treatment. *Biochemical Pharmacology*. 2022;206:115323. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115323>
3. Ji P, Wang P, Chen H, et al. Potential of Copper and Copper Compounds for Anticancer Applications. *Pharmaceuticals*. 2023;16(2):234. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph16020234>
4. Ruiz LM, Libedinsky A, Elorza AA. Role of Copper on Mitochondrial Function and Metabolism. *Frontier Molecular Biosciences*.

2021;24(8):711227. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.711227>

5. Galdino ACM, Viganor L, Pereira MM, et al. Copper(II) and silver(I)-1,10-phenanthroline-5,6-dione complexes interact with double-stranded DNA: further evidence of their apparent multimodal activity towards *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2022;27(1):201-213. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00775-021-01922-3>

6. Rogalewicz B, Czyrkowska A. Recent advances in the discovery of copper(II) complexes as potential anticancer drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2025;292:117702. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.117702>

7. Fong LY, Ng CT, Zakaria ZA, et al. Asiaticoside Inhibits TNF- α -Induced Endothelial Hyperpermeability of Human Aortic Endothelial Cells. *Phytotherapy Research*. 2015;29(10):1501-1508. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.5404>

8. Chiong HS, Yong YK, Ahmad Z, et al. Cytoprotective and enhanced anti-inflammatory activities of liposomal piroxicam formulation in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *International Journal of Nanomedicine*. 2013;8:1245-1255. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S42801>

9. Lee BW, Olin MR, Johnson GL, et al. In Vitro and In Vivo Apoptosis Detection Using Membrane Permeant Fluorescent-Labeled Inhibitors of Caspases. In: Mor G, Alvero AB, editors. *Apoptosis and Cancer. Methods in Molecular Biology™*, vol 414. Humana Press; 2008. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-339-4_10

10. Smith KF, Wood SA, Mountfort DO, et al. Development of a real-time PCR assay for the detection of the invasive clam, *Corbula amurensis*, in environmental samples. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 2012;412:52-57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.10.021>

11. Oliveira Neto JGD, Viana JR, Butarelli ALA, et al. Synthesis, physicochemical properties, and antitumor cytotoxic activity of the Mg(II) coordination complex containing 1,10-phenanthroline and sulfate ligands. *Inorganica Chimica Acta*. 2023;556:121658. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2023.121658>

12. Deegan C, McCann M, Devereux M, et al. *In vitro* cancer chemotherapeutic activity of 1,10-phenanthroline (phen), [Ag₂(phen)₃(mal)]; 2H₂O, [Cu(phen)₂(mal)] • 2H₂O and [Mn(phen)₂(mal)] • 2H₂O (malH₂ = malonic acid) using human cancer cells. *Cancer Letters*.

- 2007;247(2):224-233. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2006.04.006>
13. Alshehri B. Cytochrome c and cancer cell metabolism: A new perspective. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2024;32(12):102194. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2024.102194>
14. Mustafa M, Ahmad R, Tantry IQ, et al. Apoptosis: A Comprehensive Overview of Signaling Pathways, Morphological Changes, and Physiological Significance and Therapeutic Implications. *Cells*. 2024;13(22):1838. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells13221838>
15. Bhadra K. A Mini Review on Molecules Inducing Caspase-Independent Cell Death: A New Route to Cancer Therapy. *Molecules*. 2022;27(19):6401. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27196401>
16. Soni IV, Hardy JA. Caspase-9 Activation of Procaspase-3 but Not Procaspase-6 Is Based on the Local Context of Cleavage Site Motifs and on Sequence. *Biochemistry*. 2021;60(37):2824-2835. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.1c00459>
17. Shen S, Shao Y, Li C. Different types of cell death and their shift in shaping disease. *Cell Death Discovery*. 2023;9:284. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01581-0>
18. Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in Cell Death, Inflammation, and Disease. *Immunity*. 2019;50(6):1352-1364. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.05.020>
19. Montinaro A, Walczak H. Harnessing TRAIL-induced cell death for cancer therapy: a long walk with thrilling discoveries. *Cell Death and Differentiation*. 2023;30:237-249. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41418-022-01059-z4>
20. Dhuriya YK, Sharma D. Necroptosis: a regulated inflammatory mode of cell death. *Journal of Neuroinflammation*. 2018;15:199. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1235-0>
21. Chesnokov MS, Mamedova AR, Zhivotovsky B, et al. A matter of new life and cell death: programmed cell death in the mammalian ovary. *Journal of Biomedical Science*. 2024;31:31. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12929-024-01017-6>
22. Liu SZ, Yao SJ, Yang H, et al. Autophagy: Regulator of cell death. *Cell Death and Disease*. 2023;14:648. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41419-023-06154-8>
23. Rezaei A, Falahati-Pour SK, Mohammadzadeh F, et al. Effect of a Copper (II) Complex on The Induction of Apoptosis in Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2018;19(10):2877-2884. DOI: <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.10.2877>
24. Park W, Wei S, Kim BS, et al. Diversity and complexity of cell death: a historical review. *Experimental and Molecular Medicine*. 2023;55(8):1573-1594. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01078-x>
25. Kari S, Subramanian K, Altomonte IA, et al. Programmed cell death detection methods: a systematic review and a categorical comparison. *Apoptosis*. 2023;27:482-508. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10495-022-01735-y>
26. Costigan A, Hollville E, Martin SJ. Discriminating Between Apoptosis, Necrosis, Necroptosis, and Ferroptosis by Microscopy and Flow Cytometry. *Current Protocols*. 2023;3(12):e951. DOI: <https://doi.org/10.1002/cpz1.951>
27. Yu L, Zhu G, Zhang Z, et al. Apoptotic bodies: bioactive treasure left behind by the dying cells with robust diagnostic and therapeutic application potentials. *Journal of Nanobiotechnology*. 2023;21:218. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01969-1>
28. Peng F, Liao M, Qin R, et al. Regulated cell death (RCD) in cancer: key pathways and targeted therapies. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7:286. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01110-y>
29. Lei ZN, Tian Q, Teng QX, et al. Understanding and targeting resistance mechanisms in cancer. *MedComm*. 2023;4(3):e265. DOI: <https://doi.org/10.1002/mco2.265>
30. Xue Q, Kang R, Klionsky DJ, et al. Copper metabolism in cell death and autophagy. *Autophagy*. 2023;19(8):2175-2195. DOI: <https://doi.org/10.1080/15548627.2023.2200554>

Received 29 April 2025

Revised 21 May 2025

Accepted 16 July 2025

Information about the authors

Sharmimi Mahazair, BSc, Student, University of Putra Malaysia, Serdang, Malaysia, E-mail: sbp3007st@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2594-9269>.

Fong L. Yen, PhD (Physiology), Lecturer at the Department of Pre-clinical Sciences, University of Tunku Abdul Rahman, Kajang, Malaysia, E-mail: fongly@utar.edu.my, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7912-6746>.

Ng Ch. Theng, PhD (Physiology), Lecturer at the Department of Physiology, Asian Institute of Medicine, Science and Technology, Bedong, Malaysia, E-mail: ngchintheng@aimst.edu.my, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6062-2846>.

Yong Y. Keong, PhD (Physiology), Associate Professor at the Department of Human Anatomy, University of Putra Malaysia, Serdang, Malaysia, E-mail: yoke_keong@upm.edu.my, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7912-6746>.

Muhammad N. Hakim, PhD (Pharmacology), Lecturer at the Department of Biomedical Sciences, University of Putra Malaysia, Serdang, Malaysia, E-mail: nazrulh@upm.edu.my, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4710-3467>.

Zuraini Ahmad, PhD (Physiology), Associate Professor at the Department of Biomedical Sciences, University of Putra Malaysia, Serdang, Malaysia, E-mail: sbp3004@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-3363-7127>.







КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА MEDICINE



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-7

УДК 616-08-035

Генетические предикторы эффективности и безопасности терапии клозапином (обзор)

Р.Ф. Насырова¹ , А.В. Кидяева^{1,2} , Н.В. Захарова¹ , Д.С. Пройдина³ ,
А.Ю. Кибирова^{2,4} , Н.А. Шнайдер^{1,5} 

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева», ул. Бехтерева, д. 3, г. Санкт-Петербург, 192019, Российская Федерация

² Государственное казённое учреждение здравоохранения «Психиатрическая больница св. Николая Чудотворца», наб. реки Мойки, д. 126, г. Санкт-Петербург, 190121, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», ул. Аккуратова, д. 2, г. Санкт-Петербург, 197341, Российская Федерация

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова», ул. Кирочная, д.41, г. Санкт-Петербург, 191015, Российская Федерация

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого», ул. Партизана Железняка, д. 1, г. Красноярск, 660022, Российская Федерация

Автор для переписки: А.В. Кидяева (alla.kid@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Клозапин остается незаменимым антипсихотиком для пациентов с терапевтически резистентной шизофренией, но его применение может индуцировать нежелательные реакции. Генетические особенности пациентов объясняют межиндивидуальную вариабельность концентрации клозапина в крови. Предсказать эффективность и безопасность клозапина может помочь предиктивное фармакогенетическое тестирование, определяющее носительство однонуклеотидных вариантов генов, кодирующих ключевые ферменты метаболизма и транспорта. **Цель исследования:** Определить аллельные варианты генов, кодирующих ключевые ферменты метаболизма и ключевые транспортеры клозапина, на основе анализа современной литературы. **Материалы и методы:** Поиск полнотекстовых статей проведен в библиографических базах PubMed, eLIBRARY.RU, Google Scholar. **Результаты:** Генотип AA CYP1A2*1F (rs762551) кодирует форму изофермента CYP1A2 с более высокой активностью в присутствии индуктора, такого как курение. Вариант

rs2472297 ассоциирован с более высокой активностью изофермента CYP1A2, в большей степени также в присутствии индуктора. Вариант *CYP1A2*1C* (rs2069514) ассоциирован со сниженной активностью изофермента CYP1A2 и повышением риска развития нежелательных реакций при приеме клозапина, а вариант *CYP3A4*22* (rs35599367) – со сниженной экспрессией этого изофермента. Противоречивы результаты ассоциативных исследований генотипа *CYP2C19*2/*2*. Не обнаружена связь полиморфизмов гена *CYP2D6* со скоростью метаболизма клозапина. Варианты изоферментов *UGT2B:GA* и *UGT1A4*3* не оказали влияния на эффективность клозапина, но были связаны с вариабельностью скорости глюкуронидации клозапина, что может влиять на его токсичность. Обнаружена достоверная связь между минорным аллелем C rs28379954 гена *NFIB* и сниженной концентрацией клозапина в крови, поэтому пациентам с генотипом rs1045642 CC требуются более высокие дозы этого антипсихотика для достижения тех же концентраций в плазме, что и пациентам с генотипами СТ или ТТ. У пациентов, являющихся носителями нефункциональных вариантов rs2032582 гена *ABCB1*, отмечался более низкий клиренс клозапина, а rs212090 гена *ABCC1* был связан с повышенным уровнем клозапина в сыворотке крови. Нефункциональные варианты rs2231142 гена *ABCG2*, по-видимому, сильнее всего влияют на экспозицию клозапина в головном мозге за счет значительного замедления его эффлюкса. **Заключение:** Генетические предикторы изменения скорости метаболизма и эффлюкса клозапина могут быть полезными для разработки персонализированных терапевтических стратегий при лечении психических расстройств с использованием клозапина.

Ключевые слова: клозапин; фармакогенетическое тестирование; однонуклеотидный вариант; фармакокинетика; фармакодинамика; безопасность; эффективность

Для цитирования: Насырова РФ, Кидяева АВ, Захарова НВ, и др. Генетические предикторы эффективности и безопасности терапии клозапином (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(3):462-480. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-7

Genetic predictors of efficacy and safety of clozapine therapy (review)

Regina F. Nasyrova^{1,2,3} , Alla V. Kidyayeva^{1,2} , Natalia V. Zakharova¹ ,
Darya S. Proydina³ , Alexandra Y. Kibirova^{2,4} , Natalia A. Shnayder^{1,5} 

¹ Bekhterev National Medical Research Center for Psychiatry and Neurology,
3 Bekhterev St., Saint Petersburg, 192019, Russia

² Saint Petersburg State Psychiatric Hospital of St. Nicholas,
126 Moika River Emb., Saint Petersburg, 190121, Russia

³ Almazov National Medical Research Center,
2 Akkuratova St., Saint Petersburg, 197341, Russia

⁴ North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov,
41 Kirochnaya St., Saint Petersburg, 191015, Russia

⁵ Krasnoyarsk State Medical University,
1 Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia
Corresponding author: Alla V. Kidyayeva (alla.kid@mail.ru)

Abstract

Background: Clozapine remains an indispensable antipsychotic for patients with treatment-resistant schizophrenia, but its use can induce adverse drug reactions. Genetic characteristics of patients

explain interindividual variability in clozapine concentration in the blood. Predictive pharmacogenetic testing, which determines the carriage of single-nucleotide variants of genes encoding key enzymes of metabolism and transport, can help predict the efficacy and safety of clozapine for a specific patient. **The aim of the study:** To determine allelic variants of genes encoding key enzymes of metabolism and key transporters of clozapine, based on an analysis of modern literature. **Materials and methods:** A search for full-text articles was conducted in the bibliographic databases PubMed, eLIBRARY.RU, Google Scholar. **Results:** The AA genotype of *CYP1A2*1F* (rs762551) encodes a form of the CYP1A2 isoenzyme with higher activity in the presence of an inducer, such as smoking. The rs2472297 variant is associated with higher activity of the CYP1A2 isoenzyme, to a greater extent also in the presence of an inducer. The *CYP1A2*1C* (rs2069514) variant is associated with reduced activity of the CYP1A2 isoenzyme and an increased risk of developing adverse drug reactions when taking clozapine, and the *CYP3A4*22* (rs35599367) variant is associated with reduced expression of this isoenzyme. The results of association studies of the *CYP2C19*2/*2* genotype are contradictory. No association was found between *CYP2D6* gene polymorphisms and the rate of clozapine metabolism. *UGT2B:GA* and *UGT1A4*3* isoenzyme variants did not affect the efficacy of clozapine, but were associated with variability in the rate of clozapine glucuronidation, which may affect its toxicity. A significant association was found between the minor C allele of rs28379954 of the *NFIB* gene and reduced blood clozapine concentrations, so patients with the rs1045642 CC genotype require higher doses of this antipsychotic to achieve the same plasma concentrations as patients with the CT or TT genotypes. Patients carrying nonfunctional variants of rs2032582 in the *ABCB1* gene had lower clozapine clearance, and rs212090 in the *ABCC1* gene was associated with increased serum clozapine levels. Nonfunctional variants of rs2231142 in the *ABCG2* gene appear to have the greatest impact on clozapine exposure in the brain by significantly slowing its efflux. **Conclusion:** Genetic predictors of changes in clozapine metabolism and efflux may be useful for developing personalized therapeutic strategies in the treatment of psychiatric disorders using clozapine.

Keywords: clozapine; pharmacogenetic testing; single nucleotide variant; pharmacokinetics; pharmacodynamics; safety; efficacy

For citation: Nasyrova RF, Kidyayeva AV, Zakharova NV, et al. Genetic predictors of efficacy and safety of clozapine therapy (review). Research Results in Biomedicine. 2026;12(3):462-480. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-7

Введение. Резистентность к лечению пациентов с шизофренией остается актуальной проблемой, несмотря на современные достижения психофармакотерапии, и достигает 30% [1]. Единственным антипсихотиком с доказанной эффективностью при шизофрении, резистентной к терапии, в настоящее время является клозапин [2, 3, 4]. Это обусловлено уникальным сочетанием фармакодинамических и фармакокинетических свойств лекарственного средства (ЛС) [5]. Однако, в связи с широким спектром нежелательных реакций (НР) и связанной с этим необходимостью клинического и лабораторного мониторинга жизненно

важных показателей, клозапин назначают только 10-20% подходящих пациентов [6].

Терапевтический диапазон клозапина в крови варьирует от 350 до 600 нг/мл [2]. Уровень менее 350 нг/мл обуславливает плохой ответ на лечение и быстрый рецидив психического расстройства, а увеличение уровня выше 600 нг/мл связано с повышением риска НР. Наблюдается значительная межиндивидуальная вариабельность уровня клозапина в сыворотке крови. Например, у мужчин она ниже, чем у женщин [7, 8], а у лиц старше 45 лет выше, чем у более молодых пациентов [9]. Клозапин липофилен и откладывается в жировой ткани, что может объяснить снижение метаболизма

клозапина у лиц с ожирением [2]. Вероятно, наибольший вклад в вариабельность уровня клозапина в крови вносят генетически детерминированные различия в скорости его метаболизма в печени [10, 11].

Фармакогенетическое тестирование (ФГТ) может помочь определить индивидуальные генетические особенности метаболизма и эффлюкса (транспорта в направлении головной мозга – кровь) клозапина [12]. ФГТ позволяет определить носительство нефункциональных однонуклеотидных вариантов (ОНВ) генов, кодирующих ключевые ферменты метаболизма и белки-транспортеры клозапина, ассоциированных со снижением скорости его метаболизма и эффлюкса соответственно, и предсказать эффективность и безопасность его применения у конкретного пациента [13]. С учетом уникальной эффективности этого ЛС и необходимости его длительного приема желательно проводить предиктивное (до назначения клозапина) ФГТ, которое может помочь практикующим психиатрам выбрать оптимальную дозу клозапина для каждого пациента на основе его фармакогенетического профиля [14].

Цель исследования. Определить аллельные варианты генов, кодирующих ключевые ферменты метаболизма и ключевые транспортеры клозапина, на основе анализа современной литературы.

Материалы и методы исследования. Поиск статей проведен в библиографических базах PubMed, eLIBRARY.RU, Google Scholar без ограничения по времени публикации по ключевым словам: клозапин, фармакогенетическое тестирование, однонуклеотидный вариант (rs), фармакокинетика, фармакодинамика («clozapine», «pharmacogenetic testing», «single nucleotide variant» (rs), «pharmacokinetics», «pharmacodynamics») и их сочетаниям. В анализ включали все полнотекстовые статьи на английском и русском языках, содержащие результаты

проспективных и ретроспективных оригинальных исследований, исследований типа «случай–контроль», нарративных, систематических обзоров, метаанализов, описания клинических случаев. Первоначально было найдено 99 публикаций, 65 из них были исключены из анализа в связи с несоответствием цели обзора. Были проанализированы 34 публикации, соответствующих цели настоящего нарративного обзора (21 проспективное, 4 ретроспективных исследований, 4 нарративных обзора, 2 обзора клинических рекомендаций и 3 отчета о клинических случаях).

Результаты. Основным изоферментом Р-окисления клозапина до N-оксида *in vivo* считается изофермент 1A2 цитохрома P450 (CYP1A2), несмотря на способность некоторых других изоферментов (CYP3A4, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, FMO3) участвовать в окислении *in vitro* [15].

CYP1A2 – это ген, расположенный в хромосоме 15q24.1 и кодирующий гемотиолатмонооксигеназу, расположенную в эндоплазматическом ретикулуме. Как и у большинства изоферментов системы CYP450, его экспрессия у взрослых происходит, в основном, в печени. В кодирующей области гена этого цитохрома в настоящее время описан 41 гаплотип [16]. Роль CYP1A2 в метаболизме клозапина велика. Так, индукция CYP1A2 при курении и употреблении высоких доз кофеина снижает уровень клозапина в крови примерно на 20-30% [2, 9]. Ингибиторы CYP1A2 (провоспалительные цитокины, эстрогены) могут значительно повышать его уровень в крови и приводить к фатальным межлекарственным взаимодействиям [17, 18]. Исходя из этого, некурящим женщинам требуются самые низкие дозы клозапина, тогда как курящим мужчинам – самые высокие.

CYP1A2*1F (rs762551) присутствует в 67,1% из 125568 образцов, зарегистрированных в базе данных ОНВ Национального центра

биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information, NCBI) [16, 19]. В литературе существует некоторая путаница относительно обозначения этого ОНВ [20]. Большинство публикаций обозначают rs762551 как (-163)C>A [20], в том числе The Pharmacogenomics Knowledge Base (PharmGKB), но некоторые - как (-163)A>C [21]) и (-163)C>T [16].

Базовая активность изофермента одинакова у носителей и неносителей варианта *CYP1A2*1F*. Однако аллель A rs762551 ассоциирована с высокой индуцируемостью изофермента, характеризующейся его высокой активностью в присутствии индуктора, такого как курение [22]. У некурящих людей не замечена значимая разница в активности *CYP1A2* у носителей различных генотипов. Однако курящие носители гомозиготы AA имели в 1,6 раза более высокую активность *CYP1A2*, чем носители генотипов AC и CC [23, 24].

В исследовании Sangüesa E. и соавт. (2024) [25] 100 пациентов с шизофренией были разделены на две группы: с монотерапией клозапином (n=49) и политерапией клозапином и другими антипсихотиками (n=51). Значительное различие в фармакокинетических параметрах среди пациентов было связано с полиморфизмом гена *CYP1A2*. Курящие пациенты (>7 сигарет/день) с генотипом *1F/*1F гена *CYP1A2* значительно отличались по уровню клозапина в плазме и среднему отношению концентрации к дозе клозапина (p=0,029 и p=0,034 соответственно) по сравнению с генотипами *1/*1F и *1/*1. Пациенты с генотипом *1F/*1F (n=49) показали более низкие значения со значительными различиями между курящими (n=20) и некурящими (n=29) по дозе клозапина и общему отношению концентрации к дозе клозапина и норклозапина (p=0,002, p=0,035, p=0,046 и p=0,032 соответственно) [25].

Xu J.J. и соавт. (2024) [26] сообщили о случае китайского мужчины с

шизоаффективным расстройством, активного курильщика, не отвечающего на терапию клозапином (600 мг/сут). С помощью терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) было обнаружено низкое соотношение концентрации к дозе клозапина. В результате проведения ФГТ у пациента идентифицирован гомозиготный генотип *CYP1A2*1F/*1F*, ассоциированный со сверхбыстрым метаболизмом клозапина в печени. После добавления к терапии ингибитора изофермента *CYP1A2* (флувоксамина) уровень клозапина в плазме приблизился к референсному диапазону, а пациент достиг клинического улучшения [26]. Albitar O и соавт. (2024) на основании 270 образцов крови 33 участников зафиксировали, что носительство нефункционального ОНВ rs762551 гена *CYP1A2* (n=18) ассоциировано со снижением клиренса клозапина при однофакторном анализе [27], но авторы не оценивали статус курения у участников исследования.

Высокие дозы кофеина также могут играть роль индуктора *CYP1A2*. Среди некурящих пациентов при высоком потреблении кофеина (более 3 чашек кофе в день) гомозиготные носители генотипа AA rs762551 имели в 1,4 раза более высокую активность *CYP1A2*. При этом не было выявлено никаких различий в активности *CYP1A2* в зависимости от генотипа у людей, не употребляющих кофеин в больших количествах [23, 28].

Но стоит заметить, что влияние аллеля *CYP1A2*1F* на индуцируемость гена *CYP1A2* обнаружено при приеме клозапина, но не нашло подтверждения при приеме оланзапина [16].

*CYP1A2*1C* (**rs2069514**) представляет собой замену -(3860)G>A в гене *CYP1A2*, присутствует в 13,9% из 125568 образцов, зарегистрированных в базе данных ОНВ NCBI и связан со сниженной активностью изофермента *CYP1A2 in vivo* [16]. Ortega-Vázquez A и соавт. (2021) исследовали 48

взрослых мексиканских пациентов с резистентной шизофренией на монотерапии клозапином. Гомозиготный генотип *CYP1A2*1C/*1C* был связан с развитием клозапин-индуцированных НР (ОШ=3,55; 95% ДИ: 1,041-12,269, $p=0,043$) и риск их развития удваивался при сопутствующем употреблении алкоголя (ОШ=7,9; 95% ДИ: 1,473-42,369, $p=0,016$) [29]. Вариант *CYP1A2*1C*, по-видимому, связан с более высокими уровнями клозапина в сыворотке крови [30].

Pardiñas A.F. и соавт. (2019) обнаружили, что минорный аллель **T rs2472297** связан со снижением уровня клозапина в крови, примерно эквивалентным снижению дозы на 50 мг/день [31]. Lenk H.Ç. и соавт. (2023) исследовали влияние **rs2472297 C>T** на уровень клозапина в сыворотке у курящих и некурящих пациентов. В исследование ретроспективно было включено 526 пациентов из службы терапевтического мониторинга лекарственных средств Норвегии с известным статусом курения: 63,7% из них являлись курящими. У пациентов - носителей минорного аллеля **T rs2472297** концентрации клозапина с поправкой на дозу были снижены по сравнению с неносителями, как среди курящих (-48%; $p<0,0001$), так и среди некурящих (-35%; $p=0,028$). При этом у курящих пациентов-носителей аллеля **T rs2472297** концентрации клозапина были на 66% ниже по сравнению с некурящими неносителями этого аллеля ($p<0,0001$) [32].

Варианты **rs2069521** и **rs2069522** гена *CYP1A2* не обнаружили значимые корреляции с изменением фармакокинетики и уровнем клозапина в плазме крови [33].

Ген *CYP3A4* расположен в локусе хромосомы 7q22.1 и кодирует гемотиолатмонооксигеназу в эндоплазматическом ретикулуме. Изофермент *CYP3A4* экспрессируется у взрослых, в основном, в печени, и, в меньшей степени, в тонком кишечнике,

преимущественно, в двенадцатиперстной кишке [16]. В связи с индукцией *CYP3A4* во время беременности у беременных женщин выявлено незначительное снижение уровня клозапина в плазме [34]. Вариант *CYP3A4*22 (rs35599367)*, представляющий собой замену (15389)C>T в интроне 6, связан со сниженной экспрессией изофермента *in vivo* [35]. Этот ОНВ встречается в 3,2% из 125 568 образцов, зарегистрированных в базе данных ОНВ NCBI [16].

Исследование Jaquenoud Sirot E. и соавт. (2009) впервые продемонстрировало значительную роль *CYP2C19* в метаболизме клозапина *in vivo* [36]. Так, у медленных метаболизаторов (носителей гомозиготного генотипа **2/*2*) уровень клозапина в крови был в 2,3 раза выше ($p=0,036$), чем у экстенсивных (нормальных) метаболизаторов [36]. Однако, более позднее исследование Mansour K. и соавт. (2024) не выявили ассоциации варианта *CYP2C19*2* с клиренсом клозапина [37].

Продолжает обсуждаться роль изофермента *CYP2D6* в фармакокинетике клозапина. Высокополиморфный ген *CYP2D6* расположен в локусе 22q13.2 и кодирует гемотиолатмонооксигеназу в эндоплазматическом ретикулуме [16]. В кодирующей области этого гена описано 129 гаплотипов [16]. *CYP2D6* экспрессируется у взрослых, в основном, в печени, и, в меньшей степени, в тонком кишечнике, преимущественно, в двенадцатиперстной кишке [16]. Большинство исследований определяют роль *CYP2D6* в метаболизме клозапина как второстепенную [16]. Akamine Y. и соавт. (2017) среди 45 пациентов, получавших фиксированные дозы клозапина в течение четырех недель, не выявили существенных различий в отношении концентрации к дозе клозапина и N-десметилклозапина среди носителей генотипов *CYP2D6*2*, *CYP2D6*5* и *CYP2D6*10* [15]. Lee S.T. и соавт. (2012) отобрали 96 корейцев с

шизофренией, принимавших клозапин в постоянной дозе. Вариант **rs1135840** гена *CYP2D6* не показал ассоциации с уровнем клозапина в крови [33]. Также не обнаружено влияния гена *CYP2D6* на фармакокинетику клозапина в исследовании Jaquenoud Sirot E. и соавт. (2009) [36].

Исследования *in vivo* показывают, что определенную роль в фармакокинетики клозапина может играть изофермент *CYP3A43* [38]. При этом, не выявлено существенных различий в концентрациях клозапина и N-десметилклозапина среди носителей генотипов *CYP3A5* [36], в том числе, *CYP3A5*3* [15]. Также на фармакокинетику клозапина не влияют полиморфизмы генов *CYP2B6*, *CYP2C9* и *CYP3A7* [36].

Глюкуронидация является важным путем метаболизма клозапина, но влияние различных полиморфизмов фермента уридин-5'-дифосфоглюкуронозилтрансфераз (**UGT**) на эффективность и метаболизм клозапина *in vivo* неясно. Smith R.L. и соавт. (2022) [39] исследовали образцы сыворотки 79 пациентов в Норвегии. У этих пациентов были генотипированы следующие варианты гена *UGT*: гаплотип *UGT2B:GA* (определен как *rs1513559A>G* и *rs416593T>A*) и *UGT1A4*3* (*rs2011425T>G*). Ни один из изученных генотипов не оказал значительного влияния на концентрацию клозапина ($p>0,05$). В то же время экспозиция метаболита клозапина – N+-глюкуронида – не изменилась у носителей аллеля *UGT1A4*3* по сравнению с носителями этого аллеля ($p=0,28$), но значительно снизилась у гетерозиготных (-50%, $p=0,016$) и гомозиготных носителей (-70%, $p=0,021$) минорного аллеля *UGT2B:GA* по сравнению с носителями *UGT2B:AT/AT* соответственно [39].

Полногеномное ассоциативное исследование (GWAS), проведенное Smith R.L. и соавт. (2020) [40], включало 10283 образцов сыворотки 484 пациентов,

принимавших клозапин в постоянной дозе. Была обнаружена достоверная связь между **rs28379954** (частота минорного аллеля С – 4,1%; 7,6% носителей гетерозиготного генотипа СТ в популяции) в гене, кодирующем **ядерный фактор 1 типа В (NFIB)** и сниженной концентрацией клозапина в сыворотке ($p = 1,68 \times 10^{-8}$, бета = -0,376; объясненная дисперсия 7,63%). При этом, не выявлена значимая связь между *rs28379954* и уровнем N-десметилклозапина ($p = 5,63 \times 10^{-5}$). Доля образцов сыворотки с уровнем клозапина менее 300 нмоль/л была значительно выше у носителей минорного аллеля С *rs28379954* [12,0% (95% ДИ: 9,4-14,7)] по сравнению с неносителями [6,2% (95% ДИ: 5,7-6,8), $p < 0,001$] [40].

Полученные результаты были подтверждены в исследовании Lenk H.Ç. и соавт. (2022) [32]. Авторы исследовали ассоциацию ОНВ *rs28379954 T>C* гена *NFIB* с уровнем клозапина в сыворотке у 335 курящих и 190 некурящих норвежцев. У пациентов, носителей минорной аллели *rs28379954*, отношение концентрации к дозе клозапина было ниже по сравнению с неносителями, как среди курящих пациентов (-48%; $p < 0,0001$), так и некурящих (-35%; $p = 0,028$) [32].

Роль флавинодержущих монооксигеназ (FMO) в метаболизме клозапина пока мало изучена. Согласно исследованию Wagmann L. и соавт. (2016), изофермент FMO3 участвует в образовании менее чем 5% клозапин N-оксида [41].

Исследование с помощью позитронно-эмиссионной томографии клозапина, меченного C^{11} , показало, что он эффективно транспортируется через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) в головной мозг при внутривенном введении [42], однако, ответственные за его транспорт переносчики не были идентифицированы.

Ген *ABCB1* (ATP-binding cassette subfamily B member 1) расположен в локусе 7q21.12 и кодирует Р-гликопротеин (P-gp),

являющийся членом подсемейства MDR/TAP, входящего в суперсемейство белков-транспортёров ABC. P-gp имеет большое количество субстратов и выводит молекулы ЛС через ГЭБ в направлении головной мозг - кровь, а также из кровотока в желудочно-кишечный тракт, желчь и мочу. Его экспрессия у взрослых происходит в основном в надпочечниках, кишечнике, печени, почках и головном мозге [16]. Три ОНВ (rs1045642, rs2032582 и rs1128503) гена *ABCB1* исследованы в ассоциации с антипсихотической эффективностью с положительными результатами несмотря на то, что данные о генотипах/аллелях риска частично противоречивы. Эти ОНВ образуют гаплотип, ассоциированный со снижением экспрессии гена *ABCB1* и снижением функциональной активности P-gp [43].

ОНВ **rs1045642** представляет замену (3435)C>T в экзоне 26 гена *ABCB1*. Он присутствует в 50,2% из 246 062 образцов, зарегистрированных в базе данных ОНВ NCBI и связан с пониженной экспрессией гена *ABCB1* [16]. Гомозиготные носители аллеля T rs1045642 имели повышенные уровни клозапина и норклозапина в сыворотке ($p=0,054$) [44]. В исследовании 200 пациентов с терапевтически резистентной шизофренией было установлено, что гетерозиготный генотип СТ *ABCB1* был более распространен в группе пациентов, ответивших на лечение клозапином, в то время как минорный гомозиготный генотип ТТ *ABCB1* был распространен в группе пациентов, не ответивших на лечение [45], а уровень клозапина в плазме носителей генотипа ТТ был в 1,6 раза выше, чем у носителей генотипа СС ($p=0,046$) [36].

Пациенты-носители минорной аллели А **rs2032582** (2677T>G/A), показывали более низкий клиренс клозапина в однофакторном анализе ($n=12$) [27].

Также, в эффлюксе клозапина, вероятно, принимает участие белок-транспортёр **ABCC1** [44]. Piatkov I. и соавт.

(2017) обнаружили, что гомозиготный минорный аллель А **rs212090** гена *ABCC1* был связан с повышенным уровнем клозапина и норклозапина в сыворотке ($p=0,054$ и $0,010$ соответственно) [44].

Вариант **rs2231142** гена *ABCG2* (421C>A), по-видимому, сильнее всего влияет на экспозицию клозапина в головном мозге. Активность эффлюкса клозапина через ГЭБ *in vivo* у носителей минорного гомозиготного генотипа 421AA оценивается примерно в 23% от таковой у носителей мажорного гомозиготного генотипа 421CC [46, 47].

В экспериментах *in vitro* клозапин взаимодействовал с транспортёрами SLC22A2 и SLC22A3 [9]. Высказана гипотеза, что его транспорт в печени может осуществляться с участием транспортного белка SLC22A1 [9]. Dickens D. и соавт. (2018) провели исследования с использованием клеточных линий с повышенной экспрессией белков-транспортёров и опосредованного siRNA нокдауна транспортёров в эндотелиальных клетках головного мозга человека (hCME C/D3) и показали, что клозапин не является субстратом транспортёров OCT1 (SLC22A1), OCT3 (SLC22A3), OCTN1 (SLC22A4), OCTN2 (SLC22A5), ENT1 (SLC29A1), ENT2 (SLC29A2) и ENT4/PMAT (SLC29A4), а также клозапин не является ни субстратом, ни ингибитором транспортёров OATP1B1 и OATP1B3 [47].

Обсуждение В целом, доза ЛС, возраст, пол пациента и интенсивность курения объясняют примерно 50% вариабельности уровня клозапина в плазме крови, а остальные 50% ассоциированы с генетически детерминированной межиндивидуальной вариабельностью активности изоферментов, метаболизирующих этот ЛС [7], и белков-транспортёров, участвующих в его эффлюксе [48]. Кроме того, существуют этнические различия в метаболизме и эффлюксе клозапина, что объясняется дрейфом генов и различной этнической

частотой низкофункциональных и высокофункциональных ОНВ кандидатных генов, кодирующих ключевые ферменты и белки-транспортёры, участвующие в фармакокинетике и фармакодинамике клозапина. Существует пять основных групп ДНК-предков: африканцы, европейцы (и западноазиаты), азиаты (определяемые Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) как люди, чье происхождение географически простирается от Пакистана до Японии), океанийцы и коренные жители Америки. Азиаты и их потомки, коренные жители Америки, имеют более низкую активность изофермента *CYP1A2* и нуждаются в более низких (или минимальных) терапевтических дозах клозапина, чем европейцы, чтобы достичь его целевой уровень в крови по данным ТЛМ. Люди из Океании отделились от азиатов до отделения восточноазиатов. На основании ограниченного исследования и клинического опыта, а также до тех пор, пока не появятся дополнительные исследования, представляется разумным полагать, что людям из Океании могут потребоваться стартовые дозы и скорость титрования клозапина, аналогичные таковым у пациентов европейского происхождения. Значимых исследований ТЛМ клозапина у пациентов африканского происхождения не найдено [2], но показано, что клиренс клозапина был ниже у африканцев к югу от Сахары (n=4) и выше у европеоидов (n=9), чем у азиатов (n=20) [27].

Наиболее изученным ОНВ, связанный с изменением скорости метаболизма клозапина, представляется *CYP1A2*1F* (rs762551), а также его мажорный гомозиготный генотип AA, ассоциированный с формой изофермента с более высокой активностью в присутствии индуктора, такого как, например, курение [22-26].

ОНВ rs2472297 связан с более высокой активностью изофермента *CYP1A2*, больше у курящих [31]. Курящим пациентам, которые являются носителями минорного генотипа ТТ rs2472297 *CYP1A2* могут потребоваться в три раза более высокие дозы для предотвращения риска недостаточной эффективности терапии клозапином [32].

*CYP1A2*1C* (rs2069514) связана со сниженной активностью изофермента *CYP1A2* и повышением риска развития НР при приеме клозапина [16, 30]. Предиктивное генотипирование *CYP1A2* может использоваться для коррекции дозы клозапина и улучшения терапевтического ответа у пациентов с резистентной к лечению шизофренией. Рабочая группа по фармакогенетике Королевской ассоциации фармацевтов Нидерландов (DPWG) в мае 2021 года опубликовала документ с рекомендациями корректировать дозу клозапина в зависимости от носительства одной или двух аллелей *CYP1A2*1C* [49], но уже в следующем 2022 году данная рекомендация была отменена [49].

Со сниженной экспрессией изофермента *CYP3A4* ассоциирована минорная аллель *CYP3A4*22* (rs35599367) [35]. Противоречива роль носительства гомозиготного генотипа *CYP2C19*2/*2*: согласно результатам одних авторов [36], этот генотип ассоциирован с замедлением метаболизма клозапина; согласно другим [37] – ассоциация отсутствует.

В найденных нами исследованиях не обнаружена связь ОНВ гена *CYP2D6* со скоростью метаболизма клозапина [15, 33, 36]. Рабочая группа DPWG (2023) также не сформулировала рекомендации для гена *CYP2D6* и клозапина [49]. Другие авторы не видят целесообразности для дозирования клозапина в использовании ФГТ любых генов, в том числе *CYP1A2* и *CYP2D6* [2, 49]. Вероятно, на данный момент только в одобренной FDA инструкции по применению клозапина (ClozarilTM), указано, что может возникнуть

необходимость в снижении его дозы у пациентов со сниженной активностью изофермента CYP2D6, поскольку у таких людей могут развиваться более высокие, чем ожидалось, уровни клозапина в крови при приеме среднетерапевтических доз [50]. Интересно, что другие изоферменты метаболизма клозапина в инструкции не упоминаются.

Варианты генов *UGT2B:GA* и *UGT1A4*3* не оказали влияния на эффективность клозапина, но были связаны с различиями в глюкуронировании ЛС. Последнее может иметь потенциальное значение для безопасности клозапина, поскольку уровни метаболита N+-глюкуронида могут отражать образование и утилизацию реактивных метаболитов, связанных с токсичностью клозапина [39].

GWAS позволило обнаружить достоверную связь между носителями минорного аллеля C rs28379954 гена *NFIB* и сниженным уровнем клозапина в сыворотке [32, 40], что делает этот биомаркер новым генетическим предиктором ответа на терапию клозапином.

Средняя доза клозапина и распределение частоты генотипов rs1045462 гена *ABCB1* значительно

различались среди пациентов, ответивших на лечение клозапином, и среди пациентов, не ответивших на лечение ($p < 0,05$) [45]. Пациентам с гомозиготным мажорным генотипом CC rs1045642 требуются более высокие дозы клозапина для достижения тех же концентраций в плазме, что и пациентам с генотипами CT или TT [51]. У пациентов-носителей минорной аллели rs2032582 гена *ABCB1*, отмечался более низкий клиренс клозапина [27]. Минорный гомозиготный генотип rs212090 гена *ABCC1* был связан с повышенным уровнем клозапина в сыворотке крови [44]. Минорный гомозиготный генотип rs2231142 гена *ABCG2*, по-видимому, сильнее всего влияет на экспозицию клозапина в головном мозге, значительно замедляя его эффлюкс [46, 47]. Это может позволить рассматривать эти ОНВ в качестве потенциальных предикторов ответа на терапию клозапином. Однако, необходимы дополнительные исследования для выяснения роли полиморфизма трансмембранных белков-транспортеров в фармакокинетике клозапина и клиническом ответе.

Результаты нашего исследования представлены в таблице.

Таблица (начало)

Влияние однонуклеотидных вариантов генов, участвующих в метаболизме и транспорте клозапина, на его концентрацию в крови

Beginning of Table

The influence of single nucleotide variants of genes involved in the metabolism and transport of clozapine on its concentration in the blood

Ген	Однонуклеотидный вариант	Минорная аллель	Влияние на концентрацию клозапина в крови	Ссылки
<i>CYP1A2</i>	*1F (rs762551)	A	снижение в присутствии индуктора (никотин, кофеин)	[22, 23, 25, 26, 28]
	*1C (rs2069514)	A	повышение	[16, 27]
	rs2472297	T	снижение	[31, 32]
	rs2069521	A	не обнаружено	[33]
	rs2069522	C	не обнаружено	[33]
<i>CYP3A4</i>	*22 (rs35599367)	T	повышение	[35]
<i>CYP2C19</i>	*2	-	повышение	[36]
		-	не обнаружено	[37]
<i>CYP2D6</i>	*2	-	не обнаружено	[15]
	*5	-	не обнаружено	[15]

Таблица (окончание)

**Влияние однонуклеотидных вариантов генов, участвующих
в метаболизме и транспорте клозапина, на его концентрацию в крови**

End of Table

**The influence of single nucleotide variants of genes involved in the metabolism and transport
of clozapine on its concentration in the blood**

Ген	Однонуклеотидный вариант	Минорная аллель	Влияние на концентрацию клозапина в крови	Ссылки
	*10	-	не обнаружено	[15]
	rs1135840	G	не обнаружено	[33]
<i>CYP3A5</i>	*3 (rs776746)	G	не обнаружено	[15, 36]
<i>UGT2B</i>	rs1513559	G	не обнаружено (обнаружено снижение N+-глюкуронида)	[39]
	rs416593	A		
<i>UGT1A4</i>	*3 (rs2011425)	G	не обнаружено	[39]
<i>NFIB</i>	rs28379954	C	снижение	[32, 40]
<i>ABCB1</i>	rs1045642	T	повышение	[44]
	rs2032582	A	повышение	[27]
<i>ABCC1</i>	rs212090	A	повышение	[44]
<i>ABCG2</i>	rs2231142	A	повышение	[46, 47]

Примечание: *CYP1A2* – ген изофермента 1A2 цитохрома P450; *CYP3A4* – ген изофермента 3A4 цитохрома P450; *CYP2C19* – ген изофермента 2C19 цитохрома P450; *CYP2D6* – ген изофермента 2D6 цитохрома P450; *CYP3A5* – ген изофермента 3A5 цитохрома P450; *UGT2B* – ген уридиндифосфат-глюкоронилтрансферазы 2B; *UGT1A4* – ген уридиндифосфат-глюкоронилтрансферазы 1A4; *NFIB* – ген ядерного фактора 1 типа B; *ABCB1* – ген белка-транспортера P-гликопротеина; *ABCC1* – ген белка 1, ассоциированного с множественной лекарственной устойчивостью; *ABCG2* – ген белка устойчивости рака молочной железы.

Note: *CYP1A2* – cytochrome P450 isoenzyme 1A2 gene; *CYP3A4* – cytochrome P450 isoenzyme 3A4 gene; *CYP2C19* – cytochrome P450 isoenzyme 2C19 gene; *CYP2D6* – cytochrome P450 isoenzyme 2D6 gene; *CYP3A5* – cytochrome P450 isoenzyme 3A5 gene; *UGT2B* – uridine diphosphate-glucuronyltransferase 2B gene; *UGT1A4* – uridine diphosphate-glucuronyltransferase 1A4 gene; *NFIB* – nuclear factor 1 type B gene; *ABCB1* – P-glycoprotein transporter protein gene; *ABCC1* – multidrug resistance-associated protein 1 gene; *ABCG2* – breast cancer resistance protein gene.

Знание генетически-детерминированных индивидуальных особенностей фармакокинетики и фармакодинамики у пациента с шизофренией до начала терапии может быть полезным при принятии решений о дозировке и темпов титрации клозапина [52, 53]. Несмотря на то, что ФГТ все больше внедряется в психиатрическую практику в связи с разработкой и повышением доступности скрининговых и расширенных ФГТ панелей, предиктивное ФГТ все еще не имеет широкого распространения. Большинство психиатров продолжает подбирать дозу клозапина эмпирически или использует реактивное ФГТ у пациентов с длительным анамнезом НР и/или терапевтической резистентности к клозапину [54], хотя предиктивное ФГТ экономически и клинически более

целесообразно. Подбор оптимальной дозы клозапина, основанный на результатах предиктивного ФГТ, позволяет предупредить развитие НР и повысить эффективность терапии, а также снизить экономические затраты на лечение [55].

Заключение Представленный обзор подтверждает, что ОНВ генов, кодирующих ключевые изоферменты и белки-транспортеры, участвующие в метаболизме и транспорте клозапина соответственно, могут существенно влиять на его концентрацию в крови и головном мозге. Разработка фармакогенетической панели ОНВ генов, достоверно влияющих на концентрацию клозапина в крови, и применение ее в клинической практике перед назначением клозапина позволит врачу-психиатру точнее подобрать дозу этого антипсихотика пациенту. Снижение

дозы клозапина пациентам с медленным метаболизмом и эфлюксом минимизирует риск развития нежелательных реакций, в то время как повышение дозы клозапина пациентам с быстрым метаболизмом и при наличии индуктора ферментов повысит эффективность терапии.

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. Khasanova AK. Pharmacogenetic factors of clozapine-induced metabolic syndrome. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2023;3(2):38-47. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2023-3-2-38-47>
2. de Leon J, Schoretsanitis G, Smith RL, et al. An international adult guideline for making clozapine titration safer by using six ancestry-based personalized dosing titrations, CRP, and clozapine levels. *Pharmacopsychiatry*. 2022;55(2):73-86. DOI: <https://doi.org/10.1055/a-1625-6388>
3. Keepers GA, Fochtman LJ, Anzia JM, et al. The American psychiatric association practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*. 2020;177(9):868-872. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2020.177901>
4. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс] [дата обращения: 24.09.2024]. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=%D0%BA%D0%BB%D0%BE%D0%B7%D0%B0%D0%B%D0%B8%D0%BD&m=INN>
5. Yin J, Barr AM, Ramos-Miguel A, et al. Antipsychotic induced dopamine supersensitivity psychosis: a comprehensive review. *Current Neuropharmacology*. 2017;15(1):174-183. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570159x14666160606093602>
6. Yuen JWY, Kim DD, Procyshyn RM, et al. A focused review of the metabolic side-effects of clozapine. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12:609240. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.609240>
7. Hassab Errasoul A, Alarabi MA. Factors predicting serum clozapine levels in Middle Eastern patients: an observational study. *BMC Psychiatry*. 2022;22(1):269. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-022-03910-6>
8. Gorobets LN, Semenova ND, Litvinov AV. Application of antipsychotic medication: Gender differences in tolerance and medication response. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2022;2(2):57-66. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2022-2-2-57-66>
9. Thorn CF, Müller DJ, Altman RB, et al. PharmGKB summary: clozapine pathway, pharmacokinetics. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2018;28(9):214-222. DOI: <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000347>
10. Negay NA. Welcome to Personalized Psychiatry and Neurology. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2023;3(1):1-2. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2023-3-1-1-2>
11. Clozapine. DrugBank [Электронный ресурс] [дата обращения: 20.02.2024]. URL: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00363>
12. Avilov AY, Kidyaeva AV, Vaiman EE. Predictive pharmacogenetic testing in psychiatry: Pros and cons. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2024;4(1):40-49. DOI: <https://doi.org/10.52667/10.52667/2712-9179-2024-4-1-40-49>
13. Zhuravlev NM, Otmachov AP, Bartasinskaya AE. Clinical case of a 36-year-old patient with paranoid schizophrenia and drug-Induced QT prolongation. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2022;2(2):78-83. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2022-2-2-78-83>
14. Strelnik AI, Romanov DV, Strelnik SN. Generalized anxiety disorder therapy, associated with pronounced side effects, and prospects for the use of pharmacogenetic testing: Case report. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2023;3(1):59-65. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2023-3-1-59-65>
15. Akamine Y, Sugawara-Kikuchi Y, Uno T, et al. Quantification of the steady-state

- plasma concentrations of clozapine and N-desmethylclozapine in Japanese patients with schizophrenia using a novel HPLC method and the effects of CYPs and ABC transporters polymorphisms. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2017;54(6):677-685. DOI: <https://doi.org/10.1177/0004563216686377>
16. Carrascal-Laso L, Isidoro-García M, Ramos-Gallego I, et al. Review: Influence of the CYP450 genetic variation on the treatment of psychotic disorders. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(18):4275. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm10184275>
17. Meyer JM, Proctor G, Cummings MA, et al. Ciprofloxacin and clozapine: a potentially fatal but underappreciated interaction. *Case Reports in Psychiatry*. 2016;2016:5606098. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/5606098>
18. Shah RR, Smith RL. Inflammation-induced phenoconversion of polymorphic drug metabolizing enzymes: hypothesis with implications for personalized medicine. *Drug Metabolism and Disposition*. 2015;43(3):400-410. DOI: <https://doi.org/10.1124/dmd.114.061093>
19. Mahdavi S, Palatini P, El-Sohemy A. CYP1A2 genetic variation, coffee intake, and kidney dysfunction. *JAMA Network Open*. 2023;6(1):e2247868. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.47868>
20. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Nebert DW. Coffee, myocardial infarction, and CYP nomenclature. *JAMA*. 2006;296(7):764-765. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.296.7.764-b>
21. Cornelis MC, El-Sohemy A, Kabagambe EK, et al. Coffee, CYP1A2 genotype, and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 2006;295(10):1135-1141. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.295.10.1135>
22. Wang L, Hu Z, Deng X, et al. Association between common CYP1A2 polymorphisms and theophylline metabolism in non-smoking healthy volunteers. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 2013;112(4):257-263. DOI: <https://doi.org/10.1111/bcpt.12038>
23. Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, et al. Functional significance of a C-->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1999;47(4):445-449. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.1999.00898.x>
24. Sangüesa E, Cirujeda C, Concha J, et al. Exploring the usefulness of plasma level determination and pharmacogenetics for patients treated with clozapine. *Personalized Medicine*. 2022;19(3):181-192. DOI: <https://doi.org/10.2217/pme-2021-0029>
25. Sangüesa E, Fernández-Egea E, Concha J, et al. Impact of pharmacogenetic testing on clozapine treatment efficacy in patients with treatment-resistant schizophrenia. *Biomedicines*. 2024;12(3):597. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines12030597>
26. Xu JJ, Xiao C, Pan Y, et al. Utilizing plasma drug levels and genetic testing to achieve optimal treatment response in a patient with treatment-resistant schizoaffective disorder. *Bipolar Disorders*. 2024;26(1):95-97. DOI: <https://doi.org/10.1111/bdi.13385>
27. Albitar O, Harun SN, Sheikh Ghadzi SM. Semi-physiological pharmacokinetic model of clozapine and norclozapine in healthy, non-smoking volunteers: the impact of race and genetics. *CNS Drugs*. 2024;38(7):571-581. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40263-024-01092-1>
28. Djordjevic N, Ghotbi R, Jankovic S, et al. Induction of CYP1A2 by heavy coffee consumption is associated with the CYP1A2 -163C>A polymorphism. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2010;66(7):697-703. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00228-010-0823-4>
29. Ortega-Vázquez A, Mayen-Lobo YG, Dávila-Ortiz de Montellano DJ, et al. Alcohol intake potentiates clozapine adverse effects associated to CYP1A2*1C in patients with refractory psychosis. *Drug Development Research*. 2021;82(5):685-694. DOI: <https://doi.org/10.1002/ddr.21774>
30. Melkersson KI, Scordo MG, Gunes A, et al. Impact of CYP1A2 and CYP2D6 polymorphisms on drug metabolism and on insulin and lipid elevations and insulin resistance in clozapine-treated patients. *Journal of Clinical Psychiatry*. 2007;68(5):697-704. DOI: <https://doi.org/10.4088/jcp.v68n0506>
31. Pardiñas AF, Nalmpanti M, Pocklington AJ, et al. Pharmacogenomic variants and drug interactions identified through the genetic analysis of clozapine metabolism. *American Journal of Psychiatry*. 2019;176(6):477-486. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2019.18050589>
32. Lenk HÇ, Løvsletten Smith R, O'Connell KS, et al. Impact of NFIB and CYP1A variants on clozapine serum concentration-A retrospective naturalistic cohort study on 526 patients with known smoking habits. *Clinical and Translational Science*. 2023;16(1):62-72.

DOI <https://doi.org/10.1111/cts.13422>

33. Lee ST, Ryu S, Kim SR, et al. Association study of 27 annotated genes for clozapine pharmacogenetics: validation of preexisting studies and identification of a new candidate gene, ABCB1, for treatment response. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2012;32(4):441-448. DOI: <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e31825ac35c>

34. Westin AA, Brekke M, Molden E, et al. Treatment with antipsychotics in pregnancy: changes in drug disposition. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2018;103(3):477-484. DOI: <https://doi.org/10.1002/cpt.770>

35. Pratt VM, Cavallari LH, Fulmer ML, et al. CYP3A4 and CYP3A5 genotyping recommendations: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology, Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, College of American Pathologists, Dutch Pharmacogenetics Working Group of the Royal Dutch Pharmacists Association, European Society for Pharmacogenomics and Personalized Therapy, and Pharmacogenomics Knowledgebase. *Journal of Molecular Diagnostics*. 2023;25(9):619-629. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2023.06.008>

36. Sirot EJ, Knezevic B, Morena GP, et al. ABCB1 and cytochrome P450 polymorphisms: clinical pharmacogenetics of clozapine. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2009;29(4):319-326. DOI: <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e3181acc372>

37. Mansour K, Fredj NB, Ammar H, et al. Exploring clozapine pharmacokinetics in Tunisian schizophrenic patients: A population-based modelling approach investigating the impact of genetic and non-genetic variables. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 2024;134(6):805-817. DOI: <https://doi.org/10.1111/bcpt.14009>

38. Okon-Rocha E, Ramudo-Cela L, Taylor D. Genetic analysis of clozapine metabolism in a patient with subtherapeutic clozapine plasma concentrations-the importance of CYP3A5: a case report. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2022;42(6):604-606. DOI: <https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000001615>

39. Smith RL, Wollmann BM, Kausberg M, et al. Effects of a novel UGT2B haplotype and UGT1A4*3 allele variants on glucuronidation of clozapine in vivo. *Current Drug Metabolism*. 2022;23(1):66-72. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389200223666220201152953>

40. Smith RL, O'Connell K, Athanasiu L, et al. Correction: Identification of a novel polymorphism associated with reduced clozapine concentration in schizophrenia patients-a genome-wide association study adjusting for smoking habits. *Translational Psychiatry*. 2020;10(1):366. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01061-4>

41. Wagmann L, Meyer MR, Maurer HH. What is the contribution of human FMO3 in the N-oxygenation of selected therapeutic drugs and drugs of abuse? *Toxicology Letters*. 2016;258:55-70. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.06.013>

42. Park HS, Kim E, Moon BS, et al. In vivo tissue pharmacokinetics of carbon-11-labeled clozapine in healthy volunteers: a positron emission tomography study. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*. 2015;4(5):305-311. DOI: <https://doi.org/10.1002/psp4.38>

43. Moons T, de Roo M, Claes S, et al. Relationship between P-glycoprotein and second-generation antipsychotics. *Pharmacogenomics*. 2011;12(8):1193-1211. DOI: <https://doi.org/10.2217/pgs.11.55>

44. Piatkov I, Caetano D, Assur Y, et al. ABCB1 and ABCC1 single-nucleotide polymorphisms in patients treated with clozapine. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. 2017;10:235-242. DOI: <https://doi.org/10.2147/pgpm.s142314>

45. Naveen M, Patil AN, Pattanaik S, et al. ABCB1 and DRD3 polymorphism as a response predicting biomarker and tool for pharmacogenetically guided clozapine dosing in Asian Indian treatment resistant schizophrenia patients. *Asian Journal of Psychiatry*. 2020;48:101918. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2019.101918>

46. Tanaka Y, Kitamura Y, Maeda K, et al. Quantitative analysis of the ABCG2 c.421C>A polymorphism effect on in vivo transport activity of breast cancer resistance protein (BCRP) using an intestinal absorption model. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;104(9):3039-3048. DOI: <https://doi.org/10.1002/jps.24366>

47. Dickens D, Rädisch S, Chiduzza GN, et al. Cellular uptake of the atypical antipsychotic clozapine is a carrier-mediated process. *Molecular Pharmaceutics*. 2018;15(8):3557-3572. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00547>

48. Boyko IR, Shnayder NA, Grechkina VV, et al. Frequency of "poor transporter"

phenotype among patients with mental disorders: Pilot study. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2024;4(3):37-44. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2024-4-3-37-44>

49. Beunk L, Nijenhuis M, Soree B, et al. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene-drug interaction between CYP2D6, CYP3A4 and CYP1A2 and antipsychotics. *European Journal of Human Genetics*. 2024;32(3):278-285. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41431-023-01347-3>

50. Center for Devices, Radiological Health. Table of pharmacogenetic associations [Электронный ресурс]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2022 [дата обращения: 24.09.2024]. URL: <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations>

51. Consoli G, Lastella M, Ciapparelli A, et al. ABCB1 polymorphisms are associated with clozapine plasma levels in psychotic patients. *Pharmacogenomics*. 2009;10(8):1267-1276. DOI: <https://doi.org/10.2217/pgs.09.51>

52. Limankin OV. Personalized psychiatry: achievements and prospects. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2021;1(2):126-127. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2021-1-2-126-127>

53. Sychev DA. "Multiomic" studies as a promising clinical pharmacological tool for personalization of socially significant diseases pharmacotherapy in Russia. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2022;2:1-2. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2022-2-2-1-2>

54. Shnayder NA, Abdyrakhmanova AK, Nasyrova RF. Phase I of antipsychotics metabolism and its pharmacogenetic testing. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2022;2:4-21. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2022-2-1-4-21>

55. Насырова РФ, Кидяева АВ, Гречкина ВВ, и др. Персонализированный подход к прогнозированию и профилактике клозапин-индуцированного удлинения интервала QT. *Психиатрия*. 2024;22(5):73-84. DOI: <https://doi.org/10.30629/2618-6667-2024-22-5-75-86>

References

1. Khasanova AK. Pharmacogenetic factors of clozapine-induced metabolic syndrome. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2023;3(2):38-47. DOI:

<https://doi.org/10.52667/2712-9179-2023-3-2-38-47>

2. de Leon J, Schoretsanitis G, Smith RL, et al. An international adult guideline for making clozapine titration safer by using six ancestry-based personalized dosing titrations, CRP, and clozapine levels. *Pharmacopsychiatry*. 2022;55(2):73-86. DOI: <https://doi.org/10.1055/a-1625-6388>

3. Keepers GA, Fochtmann LJ, Anzia JM, et al. The American psychiatric association practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*. 2020;177(9):868-872. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2020.177901>

4. State Register of Medicines [Internet] [cited 2024 Sep 24]. Available from: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=%D0%BA%D0%BB%D0%BE%D0%B7%D0%B0%D0%B%D0%B8%D0%BD&m=INN>

5. Yin J, Barr AM, Ramos-Miguel A, et al. Antipsychotic induced dopamine supersensitivity psychosis: a comprehensive review. *Current Neuropharmacology*. 2017;15(1):174-183. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570159x14666160606093602>

6. Yuen JWY, Kim DD, Procyshyn RM, et al. A focused review of the metabolic side-effects of clozapine. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12:609240. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.609240>

7. Hassab Errasoul A, Alarabi MA. Factors predicting serum clozapine levels in Middle Eastern patients: an observational study. *BMC Psychiatry*. 2022;22(1):269. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-022-03910-6>

8. Gorobets LN, Semenova ND, Litvinov AV. Application of antipsychotic medication: Gender differences in tolerance and medication response. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2022;2(2):57-66. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2022-2-2-57-66>

9. Thorn CF, Müller DJ, Altman RB, et al. PharmGKB summary: clozapine pathway, pharmacokinetics. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2018;28(9):214-222. DOI: <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000347>

10. Negay NA. Welcome to Personalized Psychiatry and Neurology. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2023;3(1):1-2. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2023-3-1-1-2>

11. Clozapine. DrugBank [Internet] [cited

2024 Feb 20]. Available from:
<https://go.drugbank.com/drugs/DB00363>

12. Avilov AY, Kidyayeva AV, Vaiman EE. Predictive pharmacogenetic testing in psychiatry: Pros and cons. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2024;4(1):40-49. DOI: <https://doi.org/10.52667/10.52667/2712-9179-2024-4-1-40-49>

13. Zhuravlev NM, Otmachov AP, Bartasinskaya AE. Clinical case of a 36-year-old patient with paranoid schizophrenia and drug-Induced QT prolongation. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2022;2(2):78-83. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2022-2-2-78-83>

14. Strelnik AI, Romanov DV, Strelnik SN. Generalized anxiety disorder therapy, associated with pronounced side effects, and prospects for the use of pharmacogenetic testing: Case report. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2023;3(1):59-65. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2023-3-1-59-65>

15. Akamine Y, Sugawara-Kikuchi Y, Uno T, et al. Quantification of the steady-state plasma concentrations of clozapine and N-desmethylclozapine in Japanese patients with schizophrenia using a novel HPLC method and the effects of CYPs and ABC transporters polymorphisms. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2017;54(6):677-685. DOI: <https://doi.org/10.1177/0004563216686377>

16. Carrascal-Laso L, Isidoro-García M, Ramos-Gallego I, et al. Review: Influence of the CYP450 genetic variation on the treatment of psychotic disorders. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(18):4275. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm10184275>

17. Meyer JM, Proctor G, Cummings MA, et al. Ciprofloxacin and clozapine: a potentially fatal but underappreciated interaction. *Case Reports in Psychiatry*. 2016;2016:5606098. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/5606098>

18. Shah RR, Smith RL. Inflammation-induced phenoconversion of polymorphic drug metabolizing enzymes: hypothesis with implications for personalized medicine. *Drug Metabolism and Disposition*. 2015;43(3):400-410. DOI: <https://doi.org/10.1124/dmd.114.061093>

19. Mahdavi S, Palatini P, El-Sohemy A. CYP1A2 genetic variation, coffee intake, and kidney dysfunction. *JAMA Network Open*. 2023;6(1):e2247868. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.47>

868

20. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Nebert DW. Coffee, myocardial infarction, and CYP nomenclature. *JAMA*. 2006;296(7):764-765. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.296.7.764-b>

21. Cornelis MC, El-Sohemy A, Kabagambe EK, et al. Coffee, CYP1A2 genotype, and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 2006;295(10):1135-1141. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.295.10.1135>

22. Wang L, Hu Z, Deng X, et al. Association between common CYP1A2 polymorphisms and theophylline metabolism in non-smoking healthy volunteers. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 2013;112(4):257-263. DOI: <https://doi.org/10.1111/bcpt.12038>

23. Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, et al. Functional significance of a C->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1999;47(4):445-449. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.1999.00898.x>

24. Sangüesa E, Cirujeda C, Concha J, et al. Exploring the usefulness of plasma level determination and pharmacogenetics for patients treated with clozapine. *Personalized Medicine*. 2022;19(3):181-192. DOI: <https://doi.org/10.2217/pme-2021-0029>

25. Sangüesa E, Fernández-Egea E, Concha J, et al. Impact of pharmacogenetic testing on clozapine treatment efficacy in patients with treatment-resistant schizophrenia. *Biomedicines*. 2024;12(3):597. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines12030597>

26. Xu JJ, Xiao C, Pan Y, et al. Utilizing plasma drug levels and genetic testing to achieve optimal treatment response in a patient with treatment-resistant schizoaffective disorder. *Bipolar Disorders*. 2024;26(1):95-97. DOI: <https://doi.org/10.1111/bdi.13385>

27. Albitar O, Harun SN, Sheikh Ghadzi SM. Semi-physiological pharmacokinetic model of clozapine and norclozapine in healthy, non-smoking volunteers: the impact of race and genetics. *CNS Drugs*. 2024;38(7):571-581. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40263-024-01092-1>

28. Djordjevic N, Ghotbi R, Jankovic S, et al. Induction of CYP1A2 by heavy coffee consumption is associated with the CYP1A2 -163C>A polymorphism. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2010;66(7):697-703. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00228-010-0823-4>

29. Ortega-Vázquez A, Mayen-Lobo YG,

- Dávila-Ortiz de Montellano DJ, et al. Alcohol intake potentiates clozapine adverse effects associated to CYP1A2*1C in patients with refractory psychosis. *Drug Development Research*. 2021;82(5):685-694. DOI: <https://doi.org/10.1002/ddr.21774>
30. Melkersson KI, Scordo MG, Gunes A, et al. Impact of CYP1A2 and CYP2D6 polymorphisms on drug metabolism and on insulin and lipid elevations and insulin resistance in clozapine-treated patients. *Journal of Clinical Psychiatry*. 2007;68(5):697-704. DOI: <https://doi.org/10.4088/jcp.v68n0506>
31. Pardiñas AF, Nalmpanti M, Pocklington AJ, et al. Pharmacogenomic variants and drug interactions identified through the genetic analysis of clozapine metabolism. *American Journal of Psychiatry*. 2019;176(6):477-486. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2019.18050589>
32. Lenk HÇ, Løvsetten Smith R, O'Connell KS, et al. Impact of NFIB and CYP1A variants on clozapine serum concentration-A retrospective naturalistic cohort study on 526 patients with known smoking habits. *Clinical and Translational Science*. 2023;16(1):62-72. DOI: <https://doi.org/10.1111/cts.13422>
33. Lee ST, Ryu S, Kim SR, et al. Association study of 27 annotated genes for clozapine pharmacogenetics: validation of preexisting studies and identification of a new candidate gene, ABCB1, for treatment response. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2012;32(4):441-448. DOI: <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e31825ac35c>
34. Westin AA, Brekke M, Molden E, et al. Treatment with antipsychotics in pregnancy: changes in drug disposition. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2018;103(3):477-484. DOI: <https://doi.org/10.1002/cpt.770>
35. Pratt VM, Cavallari LH, Fulmer ML, et al. CYP3A4 and CYP3A5 genotyping recommendations: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology, Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, College of American Pathologists, Dutch Pharmacogenetics Working Group of the Royal Dutch Pharmacists Association, European Society for Pharmacogenomics and Personalized Therapy, and Pharmacogenomics Knowledgebase. *Journal of Molecular Diagnostics*. 2023;25(9):619-629. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2023.06.008>
36. Sirot EJ, Knezevic B, Morena GP, et al. ABCB1 and cytochrome P450 polymorphisms: clinical pharmacogenetics of clozapine. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2009;29(4):319-326. DOI: <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e3181acc372>
37. Mansour K, Fredj NB, Ammar H, et al. Exploring clozapine pharmacokinetics in Tunisian schizophrenic patients: A population-based modelling approach investigating the impact of genetic and non-genetic variables. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 2024;134(6):805-817. DOI: <https://doi.org/10.1111/bcpt.14009>
38. Okon-Rocha E, Ramudo-Cela L, Taylor D. Genetic analysis of clozapine metabolism in a patient with subtherapeutic clozapine plasma concentrations-the importance of CYP3A5: a case report. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2022;42(6):604-606. DOI: <https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000001615>
39. Smith RL, Wollmann BM, Kausberg M, et al. Effects of a novel UGT2B haplotype and UGT1A4*3 allele variants on glucuronidation of clozapine in vivo. *Current Drug Metabolism*. 2022;23(1):66-72. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389200223666220201152953>
40. Smith RL, O'Connell K, Athanasu L, et al. Correction: Identification of a novel polymorphism associated with reduced clozapine concentration in schizophrenia patients-a genome-wide association study adjusting for smoking habits. *Translational Psychiatry*. 2020;10(1):366. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01061-4>
41. Wagmann L, Meyer MR, Maurer HH. What is the contribution of human FMO3 in the N-oxygenation of selected therapeutic drugs and drugs of abuse? *Toxicology Letters*. 2016;258:55-70. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.06.013>
42. Park HS, Kim E, Moon BS, et al. In vivo tissue pharmacokinetics of carbon-11-labeled clozapine in healthy volunteers: a positron emission tomography study. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*. 2015;4(5):305-311. DOI: <https://doi.org/10.1002/psp4.38>
43. Moons T, de Roo M, Claes S, et al. Relationship between P-glycoprotein and second-generation antipsychotics. *Pharmacogenomics*. 2011;12(8):1193-1211. DOI: <https://doi.org/10.2217/pgs.11.55>
44. Piatkov I, Caetano D, Assur Y, et al. ABCB1 and ABCC1 single-nucleotide polymorphisms in patients treated with clozapine.

Pharmacogenomics and Personalized Medicine. 2017;10:235-242. DOI:

<https://doi.org/10.2147/pgpm.s142314>

45. Naveen M, Patil AN, Pattanaik S, et al. ABCB1 and DRD3 polymorphism as a response predicting biomarker and tool for pharmacogenetically guided clozapine dosing in Asian Indian treatment resistant schizophrenia patients. *Asian Journal of Psychiatry*. 2020;48:101918. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.ajp.2019.101918>

46. Tanaka Y, Kitamura Y, Maeda K, et al. Quantitative analysis of the ABCG2 c.421C>A polymorphism effect on in vivo transport activity of breast cancer resistance protein (BCRP) using an intestinal absorption model. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;104(9):3039-3048. DOI: <https://doi.org/10.1002/jps.24366>

47. Dickens D, Rädisch S, Chiduzza GN, et al. Cellular uptake of the atypical antipsychotic clozapine is a carrier-mediated process. *Molecular Pharmaceutics*. 2018;15(8):3557-3572. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00547>

48. Boyko IR, Shnayder NA, Grechkina VV, et al. Frequency of “poor transporter” phenotype among patients with mental disorders: Pilot study. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2024;4(3):37-44. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2024-4-3-37-44>

49. Beunk L, Nijenhuis M, Soree B, et al. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene-drug interaction between CYP2D6, CYP3A4 and CYP1A2 and antipsychotics. *European Journal of Human Genetics*. 2024;32(3):278-285. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41431-023-01347-3>

50. Center for Devices, Radiological Health. Table of pharmacogenetic associations [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2022 [cited 2024 Sep 24]. Available from: <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations>

51. Consoli G, Lastella M, Ciapparelli A, et al. ABCB1 polymorphisms are associated with clozapine plasma levels in psychotic patients. *Pharmacogenomics*. 2009;10(8):1267-1276. DOI: <https://doi.org/10.2217/pgs.09.51>

52. Limankin OV. Personalized psychiatry: achievements and prospects. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2021;1(2):126-127. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2021-1-2-126-127>

53. Sychev DA. “Multiomic” studies as a promising clinical pharmacological tool for personalization of socially significant diseases pharmacotherapy in Russia. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2022;2:1-2. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2022-2-2-1-2>

54. Shnayder NA, Abdyrakhmanova AK, Nasyrova RF. Phase I of antipsychotics metabolism and its pharmacogenetic testing. *Personalized Psychiatry and Neurology*. 2022;2:4-21. DOI: <https://doi.org/10.52667/2712-9179-2022-2-1-4-21>

55. Nasyrova RF, Kidyaeva AV, Grechkina VV, et al. Personalized Approach to Prediction and Prevention Clozapine-Induced QT Prolongation. *Psychiatry (Moscow) (Psikhiatriya)*. 2024;22(5):75-86. Russian. DOI: <https://doi.org/10.30629/2618-6667-2024-22-5-75-86>

Статья поступила в редакцию 31 октября 2024 г.

Поступила после доработки 10 февраля 2025 г.

Принята к печати 24 февраля 2025 г.

Received 31 October 2024

Revised 10 February 2025

Accepted 24 February 2025

Информация об авторах

Регина Фаритовна Насырова, доктор медицинских наук, невролог, психиатр, клинический фармаколог, главный научный сотрудник, научный руководитель Института персонализированной психиатрии и неврологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: regina_nmrcpn@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1874-9434>.

Алла Викторовна Кидяева, заведующая психиатрическим отделением ГКУЗ «Психиатрическая больница св. Николая Чудотворца»; младший научный сотрудник Института персонализированной психиатрии и неврологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: alla.kid@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-8999-9296>.

Наталья Вячеславовна Захарова, кандидат медицинских наук, психиатр, доцент, ведущий научный сотрудник Института персонализированной психиатрии и неврологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: nataliza80@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7507-327X>.

Дарья Сергеевна Пройдина, психиатр, ординатор кафедры психиатрии и психотерапии с клиникой ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: proydinadaria@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8656-6943>.

Александра Юрьевна Кибирова, психиатр ГКУЗ «Психиатрическая больница св. Николая Чудотворца»; ординатор кафедры психиатрии и наркологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: gi.ponomarenko@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0698-535X>.

Наталья Алексеевна Шнайдер, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник Института персонализированной психиатрии и неврологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева», г. Санкт-Петербург; ведущий научный сотрудник центра коллективного пользования «Молекулярные и клеточные технологии» ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого», г. Красноярск, Российская Федерация, E-mail: naschnaider@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2840-837X>.

Information about the authors

Regina F. Nasyrova, Doct. Sci. (Medicine), Neurologist, Psychiatrist, Clinical Pharmacologist,

Chief Researcher, Scientific Director, Institute of Personalised Psychiatry and Neurology, Bekhterev National Medical Research Center for Psychiatry and Neurology, Saint Petersburg, Russia, E-mail: regina_nmrcpn@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1874-9434>.

Alla V. Kidyayeva, Head of the Psychiatric Department, Saint Petersburg State Psychiatric Hospital of St. Nicholas; Junior Researcher, Institute of Personalised Psychiatry and Neurology, Bekhterev National Medical Research Center for Psychiatry and Neurology, Saint Petersburg, Russia, E-mail: alla.kid@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-8999-9296>.

Natalia V. Zakharova, Cand. Sci. (Medicine), Psychiatrist, Associate Professor, Leading Researcher, Institute of Personalised Psychiatry and Neurology, Bekhterev National Medical Research Center for Psychiatry and Neurology, Saint Petersburg, Russia, E-mail: nataliza80@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7507-327X>.

Darya S. Proydina, Psychiatrist, Resident, Department of Psychiatry and Psychotherapy with Clinic, Almazov National Medical Research Center, Saint Petersburg, Russia, E-mail: proydinadaria@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8656-6943>.

Alexandra Y. Kibirova, Psychiatrist, Saint Petersburg State Psychiatric Hospital of St. Nicholas; Resident, Department of Psychiatry and Narcology, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia, E-mail: gi.ponomarenko@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0698-535X>.

Natalia A. Shnayder, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Chief Researcher, Institute of Personalised Psychiatry and Neurology, Bekhterev National Medical Research Center for Psychiatry and Neurology, Saint Petersburg; Leading Researcher, Center for Collective Use «Molecular and Cellular Technologies», Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia, E-mail: naschnaider@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2840-837X>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-8

УДК 616.831: 616-08-039.57

Персонализированная телереабилитация в свете современной детерминанты геронтологической помощи (обзор)

О.А. Осипова¹ , Е.В. Гостева¹ , Н.И. Жернакова¹ , Ю.О. Шаунова¹ ,
Н.И. Ключников² , П.Г. Осипов¹ , Ю.А. Мезенцев¹ , С.Ю. Попов² 

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,

ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация

² Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Институт социального образования»,

ул. Ленинградская, д. 62, г. Воронеж, 394033, Российская Федерация

Автор для переписки: О.А. Осипова (osipova_75@inbox.ru)








Резюме

Актуальность: Инсульт является одной из ведущих причин инвалидизации в пожилом возрасте, при этом современные системы здравоохранения сталкиваются с дефицитом кадровых ресурсов и ограничениями доступа к стационарной реабилитации, особенно в удаленных и сельских районах. Персонализированная телереабилитация представляет собой перспективное направление, способное обеспечить непрерывность и доступность восстановительного лечения для пациентов после инсульта. **Цель исследования:** Оценить возможности и эффективность персонализированной телереабилитации у лиц пожилого и старческого возраста с нарушениями, вызванными инсультом, на основе анализа современных отечественных и зарубежных научных данных. **Материалы и методы:** Проведен аналитический обзор научной литературы, в том числе за последние десять лет (2014-2024 гг.), включающий данные рандомизированных контролируемых исследований и метаанализов, направленных на изучение результатов применения телереабилитации после инсульта. Поиск литературы осуществлялся в таких международных и отечественных базах данных, как PubMed, Scopus, Web of Science, eLIBRARY и Cochrane Library. В анализ включены публикации, освещающие как физиотерапевтические, так и когнитивные аспекты реабилитационного процесса. Особое внимание уделено современным технологиям, применяемым в персонализированной телереабилитации, таким как зеркальная терапия. **Результаты:** Телереабилитация показала сопоставимую с традиционной терапией эффективность в восстановлении двигательных и когнитивных функций, а также в лечении постинсультной депрессии и нарушений баланса. Технологии удаленного мониторинга позволяют индивидуализировать лечебный процесс и повышают его мотивационный потенциал. **Заключение:** Персонализированная телереабилитация является эффективным и доступным методом восстановительного лечения пациентов после инсульта. Ее внедрение особенно актуально в условиях ограниченных ресурсов и может значительно повысить качество жизни пациентов, улучшая доступ к мультидисциплинарной помощи и обеспечивая непрерывность реабилитационного процесса на всех этапах.

Ключевые слова: телереабилитация; телемедицина; цифровое здравоохранение; реабилитация после инсульта; пожилой пациент

Для цитирования: Осипова ОА, Гостева ЕВ, Жернакова НИ, и др. Персонализированная телереабилитация в свете современной детерминанты геронтологической помощи (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(3):481-496. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-8

Personalized telerehabilitation in the context of modern determinant of gerontological care (review)

Olga A. Osipova¹ , Elena V. Gosteva¹ , Nina I. Zhernakova¹ ,
Yulia O. Shakhunova¹ , Nikolay I. Klyushnikov² , Pavel G. Osipov¹ ,
Yuri A. Mezentsev¹ , Sergey Y. Popov² 

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

² Institute of Social Education,
62 Leningradskaya St., Voronezh, 394033, Russia

Corresponding author: Olga A. Osipova (osipova_75@inbox.ru)

Abstract

Background: Stroke is one of the leading causes of disability in the elderly. Modern healthcare systems face workforce shortages and limited access to inpatient rehabilitation, especially in remote and rural areas. Personalized telerehabilitation represents a promising approach that can ensure continuity and accessibility of recovery treatment for post-stroke patients. **The aim of the study:** To assess the potential and effectiveness of personalized telerehabilitation in elderly and senile patients with stroke-related impairments based on an analysis of recent domestic and international scientific literature. **Materials and methods:** An analytical review of scientific literature, including publications from the past ten years (2014–2024), was conducted, encompassing data from randomized controlled trials and meta-analyses focused on evaluating the outcomes of telerehabilitation after stroke. The literature search was carried out using both international and Russian databases, including PubMed, Scopus, Web of Science, eLIBRARY, and the Cochrane Library. The analysis included studies addressing both physiotherapeutic and cognitive aspects of the rehabilitation process. Special attention was given to modern technologies used in personalized telerehabilitation, such as mirror therapy. **Results:** Telerehabilitation has demonstrated effectiveness comparable to traditional therapy in restoring motor and cognitive functions, as well as in the treatment of post-stroke depression and balance disorders. Remote monitoring technologies allow for the individualization of the therapeutic process and enhance patient motivation. **Conclusion:** Personalized telerehabilitation is an effective and accessible method of recovery treatment for patients after stroke. Its implementation is particularly relevant in resource-limited settings and can significantly improve patients' quality of life by increasing access to multidisciplinary care and ensuring continuity of the rehabilitation process at all stages.

Keywords: telerehabilitation; telemedicine; digital healthcare; post-stroke rehabilitation; elderly patient

For citation: Osipova OA, Gosteva EV, Zhernakova NI, et al. Personalized telerehabilitation in the context of modern determinant of gerontological care (review). Research Results in Biomedicine. 2026;12(3):481-496. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-8

Введение. Несмотря на современные стратегии реабилитации, инсульт остается ведущей причиной инвалидности как в Европе, так и в России. Ежегодная заболеваемость инсультом и смертность от инсульта увеличилась во всем мире в период с 1990 по 2024 год [1, 2]. Инсульт является второй по значимости причиной смерти среди всех хронических неинфекционных заболеваний, третьей причиной смерти и инвалидности в мире, при этом отмечается рост как самого количества случаев инсульта во всем мире в период с 1990 по 2021 год, так и годы жизни с поправкой на инвалидность (DALY) [3]. В мире насчитывается около 62 миллионов человек, перенесших инсульт, при этом примерно треть из них живут с тяжелой инвалидностью III и IV степени, характеризующейся выраженными нарушениями двигательных и/или когнитивных функций. В 2021 году неврологические заболевания стали одной из ведущих причин потери лет жизни с поправкой на инвалидность (DALY), уступив лишь сердечно-сосудистым заболеваниям как основной причине смертности [4].

Показатели смертности от инсульта и его распространенности значительно варьируют между странами и регионами, что обусловлено различиями в уровнях социально-экономического развития, доступности медицинской помощи, а также особенностями организации систем здравоохранения и профилактики. Наибольшее бремя инсульта, как по частоте, так и по последствиям, ложится на страны с низким и средним уровнем дохода, где ограничен доступ к своевременной диагностике, специализированной помощи и программам реабилитации. Несмотря на наличие данных о распространенности традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (таких как

артериальная гипертензия, курение, ожирение и сахарный диабет), их учет на уровне популяции демонстрирует слабую прогностическую ценность в отношении общей смертности от инсульта. Это указывает на существование других, менее изученных факторов – включая социальные детерминанты здоровья, неравенство в медицинской инфраструктуре, качество постинсультной помощи и уровень осведомленности населения, – которые могут объяснять повышенное бремя заболевания в странах с низким уровнем дохода [5].

Анализ смертности от субарахноидального кровоизлияния в странах БРИКС — Бразилии, Российской Федерации, Индии, Китае и Южной Африке – за последние десятилетия показал различия в динамике показателей между странами. Эти данные подчеркивают неоднородность бремени цереброваскулярных заболеваний и зависимость исходов от демографических, социально-экономических и организационных факторов здравоохранения [6].

Исследования показали, что первые три месяца после перенесенного ишемического инсульта являются так называемым «золотым окном» или критическим периодом нейрореабилитации, в течение которого происходят наиболее интенсивные процессы спонтанного восстановления функций и ремоделирования нейронных сетей [7]. В этот период наблюдается выраженная нейропластичность – способность мозга адаптироваться к повреждению путем перестройки нейронных связей, активации дремлющих зон, а также перераспределения функций между различными отделами головного мозга. Повышенная чувствительность центральной нервной системы к внешним стимулам делает реабилитационные

вмешательства особенно эффективными в восстановлении двигательных, когнитивных и сенсорных функций. Регулярные и целенаправленные упражнения, проводимые в этот период, способны значительно улучшить функциональные исходы, сократить степень инвалидизации и повысить автономность пациента. Таким образом, своевременное начало реабилитации в пределах первых 90 дней после инсульта является одним из ключевых факторов успешного восстановления и улучшения качества жизни в дальнейшем.

В постинсультной острой фазе примерно у 60-80% выживших обнаруживаются двигательные нарушения верхних или нижних конечностей. Только 20% выживших после тяжелого пареза полностью восстанавливают функции верхних конечностей по сравнению с 80% выживших после инсульта с легким парезом [8]. У 50% выживших после инсульта с первоначальным проявлением пlegии верхних и нижних конечностей частично восстанавливается двигательная функция [9, 10]. Одним из факторов, влияющих на повседневную активность после инсульта, является болевой синдром. В течение первого года он чаще локализуется в верхних конечностях и выявляется примерно у 50% пациентов, перенесших инсульт. Так установлено, что лечебная физкультура, физическая реабилитация с упражнениями помогают восстановлению ходьбы и равновесия у пациентов после ишемического инсульта. Также изучается влияние вмешательств с упражнениями на качество жизни, связанное со здоровьем (HRQoL). Упражнения способствовали умеренному улучшению физического и психического здоровья, а также показателей качества жизни в отдельных доменах, связанных со здоровьем. При этом влияние на социальный и когнитивный домены было менее выраженным. Вмешательства, которые были изучены в течение первых 6 месяцев после перенесенного ишемического инсульта, длились не менее

12 недель, включали не менее 150 минут в неделю и включали силовые тренировки, оказались наиболее эффективными и должны рассматриваться как неотъемлемая часть реабилитации [11]. Длительное функциональное восстановление также находится в прямой зависимости от исходной тяжести пареза [12].

Снижение длительности пребывания больного в стационаре не всегда является причиной снижения эффективности процесса реабилитации. Каждый тип медицинских организаций выполняет отведенные ему функции как в лечебно-диагностическом, так и реабилитационном процессах. Второй и третий этапы комплексной реабилитации, в том числе и медицинской, могут быть успешно реализованы вне стационарных медицинских организаций, например, в комплексных реабилитационных центрах, в том числе относящихся к системе социальной защиты населения. Для достижения клинически значимых результатов реабилитационный процесс должен быть безопасным, эффективным и, по возможности, доступным для выполнения в домашних условиях. По мере развития коммуникационных технологий появляется новый метод реабилитации. Этот метод называется зеркальная терапия (ЗТ), которая вызывает кортикальную реорганизацию и способствует пластическим изменениям в мозге без необходимости движения пораженной конечности. ЗТ может позволить продолжить реабилитационное обучение дистанционно после выписки пациента из стационара и применяется как новый метод телереабилитации (ТР). ТР представляет собой реабилитацию на расстоянии с использованием электронной связи, а не «лично». Этот подход особенно полезен в сельской местности, его использование возросло по необходимости во время пандемии COVID и позволило людям продолжать получать реабилитацию. Также телереабилитация может эффективно снизить нагрузку на лиц, осуществляющих уход за пациентами

после инсульта, и повысить их осведомленность и уровень компетентности.

ТР для перенесших инсульт стала многообещающим вмешательством для дистанционно контролируемого применения физической, трудовой, речевой и других форм терапии, направленных на улучшение двигательных, когнитивных и речевых функций [13]. Согласно опросу, 82% членов семьи, осуществляющих уход, обеспечивали уход за больными с инсультом более 8 часов в день.

Доказательства с низкой степенью достоверности указывают на то, что внедрение вмешательств в реабилитацию после инсульта может привести к незначительной или нулевой разнице в соблюдении пациентом рекомендуемого лечения. В реабилитационных мероприятиях после перенесенного ишемического инсульта необходимо содействие нескольких квалифицированных медицинских работников, включая терапевтов, физиотерапевтов, кардиологов и логопедов [14].

В настоящее время, благодаря быстрому прогрессу технологий лечения в острой фазе ишемического инсульта, смертность пациентов значительно снизилась, но число выживших инвалидов растет, и большинство из них – пожилые пациенты. Важным представляется доступность данных услуг, особенно для пациентов старших возрастных групп. Их недоступность может приводить к неполному и недостаточно эффективному восстановлению пациентов после инсульта. Дополнительно стоит отметить, что реабилитация пациентов в специализированных лечебных учреждениях под наблюдением медицинского персонала часто осложняется трудностями со стороны родственников больного или же самого пациента, связанных с транспортными ограничениями и доставкой пациента на процедуры [15]. При домашней ТР в качестве телекоммуникационных устройств могут использоваться простые гаджеты, которые

есть во многих семьях: телефон, планшет, ноутбук или компьютер [16, 17]. С помощью ТР можно обеспечить жизнеспособный путь для удовлетворения потребностей в реабилитации лиц, перенесших инсульт, в сельских районах с ограниченными ресурсами.

Цель исследования. Изучить и проанализировать современную литературу по научным публикациям, посвященным эффективности и перспективам развития персонализированной телереабилитации у пациентов старших возрастных групп после перенесенного ишемического инсульта.

Материалы и методы исследования. В процессе подготовки обзора был проведен углубленный анализ современных отечественных и зарубежных исследований, посвященных персонализированной телереабилитации (ТР) пациентов, перенесших инсульт. Основу работы составили данные, опубликованные в научных рецензируемых журналах за последние десять лет (2014-2024 гг.), включая результаты рандомизированных контролируемых исследований, систематических обзоров и метаанализов.

Литературный поиск проводился в ряде международных и отечественных баз данных: PubMed, Scopus, Web of Science, Cochrane Library, eLIBRARY, с использованием различных комбинаций ключевых слов и терминов: телереабилитация; телемедицина; цифровое здравоохранение; реабилитация после инсульта; пожилой пациент. Поиск включал как заголовки статей, так и аннотации, без ограничений по языку публикации.

В обзор включены публикации, освещающие как физиотерапевтические, так и когнитивные аспекты реабилитационного процесса. Основное внимание уделено оценке эффективности различных технологических подходов к ТР, включая применение виртуальной реальности, сенсорных интерфейсов, мобильных приложений и систем дистанционного мониторинга [18].

Для систематизации и критического анализа собранной информации

использовался сравнительный метод, позволивший выделить ключевые направления, преимущества и ограничения существующих стратегий дистанционной реабилитации, а также перспективы их дальнейшего развития.

Результаты и их обсуждение.

Доказательства эффективности телереабилитации после инсульта начали поступать из рандомизированных контролируемых исследований. Метаанализ, проведенный в 2015 г. Chen et al., включавший 7 рандомизированных контролируемых исследований, оценил, привела ли ТР к улучшению способности в повседневной деятельности пациентов, перенесших инсульт дома, и не обнаружил существенных различий в способности к повседневной деятельности и двигательной функции между группами, получавшими традиционную реабилитацию и телереабилитацию [19]. Это дало возможность сделать вывод об эффективности данного метода реабилитации. Кроме того, ТР эффективно применялась для домашнего лечения дисфункции высших отделов коры головного мозга и депрессии после инсульта [20] в дополнение к физической реабилитации двигательных нарушений [16]. Определена эффективность улучшения функции верхних и нижних конечностей [21]. При этом, если говорить о дистанционной реабилитации при нарушениях моторики и высших отделов коры головного мозга, а также при постинсультной депрессии, то она оказалась столь же эффективна, как и индивидуальная терапия. Исследования показывают, что обучение сложным задачам имеет преимущества перед обучением простым задачам. Установлено, что тренировки повторяющихся движений при выполнении сложной задачи демонстрировали большую функциональную и структурную пластичность соответствующих областей коры, прошедшие тренировку по простой задаче имеют положительные данные. Также показано, что повторяющиеся

тренировки при выполнении сложных ручных задач приводят к функциональной реорганизации корковых карт, в то время как повторяющиеся тренировки при выполнении простых ручных задач этого не делают. Pascual-Leone et al. [22] показали, что у здоровых людей повторяющееся обучение сложным задачам на фортепиано демонстрировало лучшее моторное обучение и изменения в возбудимости коры, чем повторяющиеся занятия по простым задачам на фортепиано. ТР с упором на тренировку сложных задач с паретичной конечностью может быть эффективной для содействия реорганизации мозга и дальнейшего выздоровления у людей с перенесенным инсультом [21, 23].

У большинства пациентов после инсульта нарушена способность к равновесию. Предыдущие исследования показали, что показатели баланса могут быть улучшены либо после традиционной тренировки баланса лицом к лицу, либо после групповой терапии для участников с подострым или хроническим инсультом. Lai JS, и др. применили восьминедельную ТР для пациентов, перенесших инсульт, и результат продемонстрировал значительное улучшение показателей по шкале баланса Берга [24]. Исследование Сікајло и др. также указали, что использование ТР с обучением балансу с поддержкой виртуальной реальности может иметь такие же эффекты, как и обычная группа обучения балансу у пациентов с подострым или хроническим постинсультным состоянием, проживающих в реабилитационных больницах [25].

Телекоммуникационные инструменты для удаленного и домашнего управления здоровьем разрабатывались на протяжении многих лет [26]. Технологии беспроводной сенсорной сети с помощью информационно-коммуникационных технологий могут использоваться для передачи и мониторинга показателей жизнедеятельности клиентов врачам или терапевтам [27]. Внедрение системы ТР без

адекватных функций мониторинга и оценки может быть рискованным для принятия решений [12, 28]. Преимущества ТР для пациентов с неврологическими заболеваниями включают более широкий доступ к услугам постреанимационной реабилитации на большом расстоянии [29] и меньшую стоимость, чем стационарные услуги [30].

Так как пациенты после перенесенного инсульта с выраженными функциональными нарушениями нуждаются в длительной реабилитации, использование двунаправленной и многопользовательской ТР системы в реабилитационных программах целесообразно для улучшения баланса и функциональной активности резидентов с хронической гемиплегией в системе долговременного ухода. Тем не менее не было продемонстрировано существенных различий в балансе и функциональной активности между группами вмешательства по сравнению с группой традиционной терапии. Характеристики настоящей программы ТР включали: краткосрочную небольшую терапевтическую группу и использование коммерчески недорогого сенсорного экрана с трехмерными интерактивными играми для соматосенсорной обратной связи руки, а также когнитивной задачи, например игры, во время тренировки равновесия сидя и стоя [31]. В текущем исследовании средние зарегистрированные различия (до и после) по шкале баланса Берга в обеих группах составляли приблизительно от 4 до 5. Однако исследование Niengkaew и др. обнаружили, что минимальная клинически важная разница по шкале баланса Берга при хроническом инсульте составляет 4,66. Таким образом, как ТР, так и традиционная терапия могут поддерживать или немного улучшать баланс в небольшой выборке участников после перенесенного инсульта, проживающих в домах долговременного ухода. Лонгитюдные исследования показали, что почти все пациенты, перенесшие инсульт,

испытывают небольшую предсказуемую степень функционального восстановления в первые 6 месяцев после инсульта [32]. Интересно, что упражнения на манипулирование верхними конечностями на тренировках будут иметь аналогичный эффект как при игре с сенсорным экраном (группа Tele), так и при игре с мячом/штырем (группа Conv). Подобные программы с тренировкой зрительно-моторной координации также показали важный эффект в повседневной функциональной активности участников [32]. Пациенты с высоким позитивным отношением к реабилитации сочли систему ТР более полезной и простой в использовании. Учитывая сокращение времени поездки из учреждения в больницу и обратно, а также повышенный интерес к играм, участники группы Tele имеют больше намерений рекомендовать систему ТР другим пациентам.

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что эффективные терапевтические вмешательства для восстановления двигательной функции потенциально должны быть сосредоточены на выполнении функциональных задач. Тем не менее стратегии обучения, ориентированные на задачи, такие как двигательная терапия, вызванная ограничениями, требуют определенной степени произвольных движений и, следовательно, не применимы для людей с тяжелым парезом после инсульта. В новых стратегиях обучения для этой группы пациентов используются электромеханические тренажеры, электрическая стимуляция мышц или повторяющаяся пассивная или вспомогательная двигательная стимуляция.

В качестве альтернативного подхода к лечению была предложена зеркальная терапия (ЗТ) как потенциально полезная [33]. Зеркальная терапия представляет собой метод реабилитации, основанный на использовании визуального образа движущейся непораженной конечности для создания иллюзии движения в парализованной. Для этого между

конечностями пациента устанавливается зеркало таким образом, чтобы он видел только отражение здоровой стороны, воспринимая его как движение пострадавшей. Данный подход применяется не только для восстановления двигательной активности, но также демонстрирует эффективность в коррекции сенсорных расстройств, устранении зрительно-пространственного игнорирования и снижении болевого синдрома после инсульта [34]. Так при работе пациента и наблюдая за движениями непаретичной конечности возникает видимость возможных движений паретичной конечности. Достоинствами зеркальной терапии являются относительная простота применения методики и возможность реабилитационных мероприятий у себя дома в кругу семьи и без дополнительных усилий, связанных с поездками в лечебное учреждение. Кроме того, было заявлено, что ЗТ облегчает гемипарез после инсульта. Недавно некоторые авторы описали «зеркальные» видео- или компьютерно-графические установки, в которых видео- или компьютерно-графическое изображение движущейся конечности представляется так, как если бы оно было противоположным [35].

Концепция ЗТ получила нейрофизиологическое обоснование. Имеются давние доказательства того, что наблюдение за движениями и выполнение наблюдаемых действий имеют схожие двигательные области коры головного мозга. Отражение движения (то есть инверсия зрительной обратной связи) приводит к дополнительной активации полушария, противоположного воспринимаемой латеральности конечности. Иллюзия зеркала может повышать корково-мышечную возбудимость. На сегодня остаются неизвестными точные патогенетические механизмы влияния зеркальной терапии на восстановление пациентов, перенесших ишемический инсульт. Считается, что визуальный образ паретичной конечности

рассматривается как собственная конечность пациента. Иллюзия зеркала может предотвратить или обратить вспять заученное ее неиспользование. Кроме того, за счет модуляции корково-мышечной возбудимости ЗТ может напрямую стимулировать двигательное восстановление. Наконец, ЗТ рассматривается как вариант обучения воображению движений, который основан на повторяющемся воображении и мысленном повторении двигательных задач. При этом можно говорить о том, что определение визуальных образов паретичных верхних конечностей, контролируемых пациентом, зависит от непосредственной связи визуальной и двигательной обратной связи. Именно это активное действие отличает ЗТ от терапии наблюдения за действием [36].

При этом исследования изображений также предполагают, что зеркальные компьютерные графические изображения обрабатываются так же, как изображения реальных движений до тех пор, пока временная и пространственная согласованность с реальными движениями не опускается ниже определенных порогов. Таким образом, даже технически сгенерированные изображения движущихся конечностей человека могут быть интегрированы в схему тела с тем же чувством действия, что и при «реальном» отражении [37]. Это касается немоторных симптомов, некоторые исследования также обнаружили значительное влияние ЗТ на соматосенсорные нарушения после инсульта [38]. Было высказано предположение, что причиной этого эффекта является сильный визуальный стимул наблюдения за самостоятельно выполненными движениями в забытом полушарии. Однако это можно было подтвердить только в том случае, если зеркало было помещено на пораженную, а не на неповрежденную сторону тела [37, 39].

Стратегии реабилитации должны быть повторяющимися, интенсивными и специфичными для нейропластичности,

чтобы обеспечить выздоровление. Установлено, что, когда терапия начинается в ранний период после ишемического инсульта – от 16 часов – и длится до 3–6 месяцев, наблюдается более значимое достоверное улучшение как показателей индекса активности повседневной жизни с помощью усиленной лечебной физкультуры, так и показателей качества жизни данной категории пациентов [34].

Показатели повседневной активности не улучшались при ЗТ в 3 исследованиях, равно как и качество жизни. Park J.Y. и соавторы установили влияние зеркальной терапии на функцию верхних конечностей и повседневную активность пациентов, перенесших инсульт [40]. Остальные исследования действительно показали улучшение показателей повседневной активности в основном за счет уровня функциональной независимости, в противном случае за счет индекса Бартеля и функционального индекса Репти. Во всех этих исследованиях не сообщалось о долгосрочных эффектах ЗТ на повседневную активность или качество жизни. Так Invernizzi M., и соавторы показали влияние на улучшение индивидуального домена жизнедеятельности и установили значимость добавления ЗТ для восстановления моторики верхних конечностей у пациентов с подострым инсультом [39].

На сегодня актуальны исследования, направленные на синтез доказательств применения зеркальной терапии с эффектом погружения в виртуальную реальность (IVRMT) при реабилитации верхних конечностей после инсульта. Проводится изучение и синтез существующих доказательств применения иммерсивной терапии зеркалом виртуальной реальности для реабилитации верхних конечностей после инсульта, а именно влияние на клинические результаты (восстановление моторики и неблагоприятные события). Продолжительность вмешательства

составляет от двух до девяти, а основой вмешательства были виртуальные игры, упражнения или функциональные задачи. Хотя эта неоднородность обеспечивает широкий взгляд на потенциальное развитие и применение IVRMT, она подчеркивает необходимость внедрения более последовательной технологии, вмешательства и протокола дозировки, чтобы можно было проводить прямое сравнение между исследованиями. Терапия зеркалом виртуальной реальности с эффектом погружения была описана как безопасное, переносимое и осуществимое вмешательство для пациентов с инсультом и слабостью верхних конечностей [41]. Только в одном исследовании было показано, что IVRMT была менее комфортной, чем традиционная терапия зеркалом [42]. Этот дискомфорт может быть вызван гарнитурой и укачиванием, часто связанным с виртуальной реальностью с погружением. Следовательно, необходимы дальнейшие сравнительные исследования, чтобы сделать вывод о том, является ли IVRMT более эффективным для восстановления моторики верхних конечностей, чем традиционная терапия зеркалом при реабилитации верхних конечностей после инсульта.

Заключение. Рутинное внедрение телемедицины для постинсультной реабилитации может быть особенно важным для регионов с ограниченными ресурсами (в странах с высоким уровнем дохода), где отсутствуют специалисты и/или учреждения для нейрореабилитации. ТР предоставляет пациентам возможность получать своевременную и квалифицированную помощь вне зависимости от их географического положения, что особенно актуально для сельских, отдаленных, малонаселенных и труднодоступных районов. Кроме того, современные цифровые платформы обеспечивают мультидисциплинарный подход, позволяя различным специалистам, включая физиотерапевтов, неврологов и логопедов, работать в единой

системе и корректировать терапию в режиме реального времени. Интерактивные технологии, такие как виртуальная реальность и сенсорные системы, помогают повысить мотивацию пациентов и делают процесс реабилитации более эффективным. Вмешательства с использованием телефонной связи показали потенциальную эффективность для контроля артериального давления у пациентов, перенесших инсульт, а также могут применяться в программах постинсультной реабилитации [38-40]. Расширение телемедицинских программ и их интеграция в национальные системы здравоохранения могут существенно улучшить доступность реабилитации, повысить ее качество и способствовать снижению инвалидизации пациентов, перенесших инсульт [2].

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. Feigin VL, Brainin M, Norrving B, et al. World Stroke Organization: Global Stroke Fact Sheet 2025. *International Journal of Stroke*. 2025;20(2):132-144. DOI: <https://doi.org/10.1177/17474930241308142>
2. Feigin VL, Owolabi MO. Pragmatic solutions to reduce the global burden of stroke: a World Stroke Organization–Lancet Neurology Commission. *The Lancet Neurology*. 2023;22(12):1160-1206. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(23\)00277-6](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(23)00277-6)
3. Yang R, Liu X, Zhao Z, et al. Burden of neurological diseases in Asia, from 1990 to 2021 and its predicted level to 2045: a Global Burden of Disease study. *BMC Public Health*.

- 2025;25(1):706. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12889-025-21928-9>
4. Ryan D, Bou Dargham T, Ikramuddin S, et al. Epidemiology, Pathophysiology, and Management of Cancer-Associated Ischemic Stroke. *Cancers*. 2024;16(23):4016. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers16234016>
5. Wu Y, Guo S, Fan L, et al. Time trends in subarachnoid haemorrhage mortality across the BRICS (Brazil, Russian Federation, India, China and South Africa): an age-period-cohort analysis for the GBD 2021. *BMJ Open*. 2025;15(3):e092000. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2024-092000>
6. Wei X, Sun S, Zhang M, et al. A systematic review and meta-analysis of clinical efficacy of early and late rehabilitation interventions for ischemic stroke. *BMC Neurology*. 2024;24(1):91. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12883-024-03565-8>
7. Jørgensen HS, Nakayama H, Raaschou HO, et al. Recovery of walking function in stroke patients: The copenhagen stroke study. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 1995;76(1):27-32. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0003-9993\(95\)80038-7](https://doi.org/10.1016/s0003-9993(95)80038-7)
8. Li D, Li R, Song Y, et al. Effects of brain-computer interface based training on post-stroke upper-limb rehabilitation: a meta-analysis. *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*. 2025;22(1):44. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12984-025-01588-x>
9. Saragih ID, Suarilah I, Mulyadi M, et al. Beneficial effects of non-pharmacological interventions for post-stroke pain: A meta-analysis. *Journal of Nursing Scholarship*. 2025;57(2):239-252. DOI: <https://doi.org/10.1111/jnu.13032>
10. Ali A, Tabassum D, Baig SS, et al. Effect of Exercise Interventions on Health-Related Quality of Life After Stroke and Transient Ischemic Attack: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Stroke*. 2021;52(7):2445-2455. DOI: <https://doi.org/10.1161/strokeaha.120.032979>
11. Белоусова ОН, Осипова ОА, Чупаха МВ, и др. Когнитивный домен индивидуальной жизнеспособности у больных пожилого возраста с артериальной гипертензией. *Врач*. 2021;32(9):85-88. DOI: <https://doi.org/10.29296/25877305-2021-09-19>
12. Николаев ВА. Организационные аспекты домашней телереабилитации пациентов, перенесших инсульт. *Менеджер здравоохранения*. 2024;(4):74-81. DOI: <https://doi.org/10.21045/1811-0185-2024-4-74-81>

13. Lynch EA, Bulto LN, Cheng H, et al. Interventions for the uptake of evidence-based recommendations in acute stroke settings. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2023;8(8):CD012520. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012520.pub2>
14. Wang J, Li Y, Qi L, et al. Advanced rehabilitation in ischaemic stroke research. *Stroke and Vascular Neurology*. 2024;9(4):328-343. DOI: <https://doi.org/10.1136/svn-2022-002285>
15. Schwamm LH, Holloway RG, Amerenco P, et al. A review of the evidence for the use of telemedicine within stroke systems of care: A scientific statement from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2009;40:2616-2634. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.192360>
16. Ильницкий АН, Белоусов НИ, Осипова ОА, и др. Научные исследования в области геронтологии и гериатрии в десятилетие здорового старения (2021-2030). *Врач*. 2021;32(6):5-8. DOI: <https://doi.org/10.29296/25877305-2021-06-01>
17. Chen J, Jin W, Zhang XX, et al. Telerehabilitation approaches for stroke patients: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2015;24(12):2660-2668. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.09.014>
18. Чернов АВ, Щетинина НА, Негребецкий ВА. Особенности психологического дефицитарного профиля пожилых пациентов с возрастассоциированной коморбидной кардиопатологией. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2023;9(4):557-569. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2023-9-4-0-10>
19. Николаев ВА, Воробцова ЕС, Николаев АА. Цифровое здравоохранение в медицинской реабилитации после инсульта: менеджмент телемедицинских технологий. *Менеджер здравоохранения*. 2024;(11):97-109. DOI: <https://doi.org/10.21045/1811-0185-2024-11-97-109>
20. Neveu M, Schwartz C, Vossius L, et al. Contribution of finger gnosis and fine motor skills to early numerical and arithmetic abilities: New insights from 3D motion analyses. *Developmental Psychology*. 2023;59(12):2356-2366. DOI: <https://doi.org/10.1037/dev0001660>
21. Gomes E, Alder G, Bright FAS, et al. Understanding task "challenge" in stroke rehabilitation: an interdisciplinary concept analysis. *Disability and Rehabilitation*. 2025;47(3):560-570. DOI: <https://doi.org/10.1080/09638288.2024.2356010>
22. Liang Q, Tao Y, He J, et al. Effects of home-based telemedicine and mHealth interventions on blood pressure in stroke patients: a systematic evaluation and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2024;33(11):107928. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2024.107928>
23. Alwadai B, Lazem H, Almoajil H, et al. Telerehabilitation and Its Impact Following Stroke: An Umbrella Review of Systematic Reviews. *Journal of Clinical Medicine*. 2024;14(1):50. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm14010050>
24. Aurlene N, Ravichandran S, Bish M, et al. Oral Health Promotion Interventions in Residential Aged Care Facilities - A Systematic Review of Behaviour Change Techniques Used in Interventions. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*. 2025:13042. DOI: <https://doi.org/10.1111/cdoe.13042>
25. Gao J, Bai D, Chen H, et al. Risk factors analysis of cognitive frailty among geriatric adults in nursing homes based on logistic regression and decision tree modeling. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2024;16:1485153. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2024.1485153>
26. Malik AN, Afridi A, Rathore FA. Mobile Health (mHealth) Applications for Stroke Rehabilitation: A mini review. *Journal of the Pakistan Medical Association*. 2024;74(9):1723-1726. DOI: <https://doi.org/10.47391/jpma.24-74>
27. Katz C, Ruiz JM, Saigí-Rubió F, et al. The State of the Art of Telemedicine Implementation Architecture: Rapid Umbrella Review of Systematic Reviews. *Journal of Medical Internet Research*. 2025;27:e70276. DOI: <https://doi.org/10.2196/70276>
28. Stephenson A, Howes S, Murphy PJ, et al. Factors influencing the delivery of telerehabilitation for stroke: A systematic review. *PLoS ONE*. 2022;17(5):e0265828. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265828>
29. Vellata C, Belli S, Balsamo F, et al. Effectiveness of Telerehabilitation on Motor Impairments, Non-motor Symptoms and Compliance in Patients With Parkinson's Disease: A Systematic Review. *Frontiers in Neurology*.

- 2021;12:627999. DOI: <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.627999>
30. Malik AN, Tariq H, Afridi A, et al. Technological advancements in stroke rehabilitation. *Journal of Pakistan Medical Association*. 2022;72(8):1672-1674. DOI: <https://doi.org/10.47391/jpma.22-90>
31. Мирютова НФ, Самойлова ИМ, Минченко НН, и др. Терапевтические эффекты зеркальной терапии у больных после инсульта. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2021;98(5):14-23. DOI: <https://doi.org/10.17116/kurort20219805114>
32. Ramachandran VS. Phantom limbs, neglect syndromes, repressed memory, and Freudian psychology. *International Review of Neurobiology*. 1994;37:291-333. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(08\)60254-8](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(08)60254-8)
33. Мотрий ЕВ, Шепель ИС, Неустроева ТЕ. Зеркальная терапия как метод реабилитации пациентов, перенесших инсульт. *Клиническая медицина*. 2023;101(11):577-581. DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2023-101-11-577-581>
34. Wang J, Fritsch C, Bernarding J, et al. Cerebral activation evoked by the mirror illusion of the hand in stroke patients compared to normal subjects. *NeuroRehabilitation*. 2013;33(4):593-603. DOI: <https://doi.org/10.3233/NRE-130999>
35. Dohle C, Pullen J, Nakaten A, et al. Mirror therapy promotes recovery from severe hemiparesis: A randomized controlled trial. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2009;23(3):209-217. DOI: <https://doi.org/10.1177/1545968308324786>
36. Hoermann S, Ferreira Dos Santos L, Morkisch N, et al. Computerised mirror therapy with augmented reflection technology for early stroke rehabilitation: Clinical feasibility and integration as an adjunct therapy. *Disability and Rehabilitation*. 2017;39(15):1503-1514. DOI: <https://doi.org/10.1080/09638288.2017.1291765>
37. Radajewska A, Opara JA, Kucio C, et al. The effects of mirror therapy on arm and hand function in subacute stroke in patients. *International Journal of Rehabilitation Research*. 2013;36(3):268-274. DOI: <https://doi.org/10.1097/MRR.0b013e3283606218>
38. Park JY, Chang M, Kim KM, et al. The effect of mirror therapy on upper-extremity function and activities of daily living in stroke patients. *Journal of Physical Therapy Science*. 2015;27(6):1681-1683. DOI: <https://doi.org/10.1589/jpts.27.1681>
39. Invernizzi M, Negrini S, Carda S, et al. The value of adding mirror therapy for upper limb motor recovery of subacute stroke patients: A randomized controlled trial. *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*. 2013;49(3):311-317.
40. Агарков НМ, Копылов АЕ, Титов АА, и др. Особенности гериатрического статуса у пациентов с артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца (обзор). *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2024;10(1):112-125. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2024-10-1-0-7>
41. Gebreheat G, Antonopoulos N, Porter-Armstrong A. Application of immersive virtual reality mirror therapy for upper limb rehabilitation after stroke: a scoping review. *Neurological Sciences*. 2024;45:4173-4184. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10072-024-07543-3>
42. Jaques ED, Figueiredo AI, Schiavo A, Loss BP, da Silveira GH, Sangalli VA, et al. Conventional mirror therapy versus immersive virtual reality mirror therapy: The perceived usability after stroke. *Stroke Research and Treatment*. 2023;2023:5080699. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/5080699>

References

1. Feigin VL, Brainin M, Norrving B, et al. World Stroke Organization: Global Stroke Fact Sheet 2025. *International Journal of Stroke*. 2025;20(2):132-144. DOI: <https://doi.org/10.1177/17474930241308142>
2. Feigin VL, Owolabi MO. Pragmatic solutions to reduce the global burden of stroke: a World Stroke Organization–Lancet Neurology Commission. *The Lancet Neurology*. 2023;22(12):1160-1206. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(23\)00277-6](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(23)00277-6)
3. Yang R, Liu X, Zhao Z, et al. Burden of neurological diseases in Asia, from 1990 to 2021 and its predicted level to 2045: a Global Burden of Disease study. *BMC Public Health*. 2025;25(1):706. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12889-025-21928-9>
4. Ryan D, Bou Dargham T, Ikramuddin S, et al. Epidemiology, Pathophysiology, and Management of Cancer-Associated Ischemic Stroke. *Cancers*. 2024;16(23):4016. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers16234016>

5. Wu Y, Guo S, Fan L, et al. Time trends in subarachnoid haemorrhage mortality across the BRICS (Brazil, Russian Federation, India, China and South Africa): an age-period-cohort analysis for the GBD 2021. *BMJ Open*. 2025;15(3):e092000. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2024-092000>
6. Wei X, Sun S, Zhang M, et al. A systematic review and meta-analysis of clinical efficacy of early and late rehabilitation interventions for ischemic stroke. *BMC Neurology*. 2024;24(1):91. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12883-024-03565-8>
7. Jørgensen HS, Nakayama H, Raaschou HO, et al. Recovery of walking function in stroke patients: The copenhagen stroke study. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 1995;76(1):27-32. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0003-9993\(95\)80038-7](https://doi.org/10.1016/s0003-9993(95)80038-7)
8. Li D, Li R, Song Y, et al. Effects of brain-computer interface based training on post-stroke upper-limb rehabilitation: a meta-analysis. *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*. 2025;22(1):44. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12984-025-01588-x>
9. Saragih ID, Suarilah I, Mulyadi M, et al. Beneficial effects of non-pharmacological interventions for post-stroke pain: A meta-analysis. *Journal of Nursing Scholarship*. 2025;57(2):239-252. DOI: <https://doi.org/10.1111/jnu.13032>
10. Ali A, Tabassum D, Baig SS, et al. Effect of Exercise Interventions on Health-Related Quality of Life After Stroke and Transient Ischemic Attack: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Stroke*. 2021;52(7):2445-2455. DOI: <https://doi.org/10.1161/strokeaha.120.032979>
11. Belousova ON, Osipova OA, Chupakha MV, et al. The cognitive domain of individual viability in elderly patients with hypertension. *Vrach*. 2021;32(9):85-88. Russian. DOI: <https://doi.org/10.29296/25877305-2021-09-19>
12. Nikolaev VA. Organizational aspects of home-based telerehabilitation for stroke patients. *Healthcare Manager*. 2024;(4):74-81. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21045/1811-0185-2024-4-74-81>
13. Lynch EA, Bulto LN, Cheng H, et al. Interventions for the uptake of evidence-based recommendations in acute stroke settings. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2023;8(8):CD012520. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012520.pub2>
14. Wang J, Li Y, Qi L, et al. Advanced rehabilitation in ischaemic stroke research. *Stroke and Vascular Neurology*. 2024;9(4):328-343. DOI: <https://doi.org/10.1136/svn-2022-002285>
15. Schwamm LH, Holloway RG, Amerenco P, et al. A review of the evidence for the use of telemedicine within stroke systems of care: A scientific statement from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2009;40:2616-2634. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.192360>
16. Ilnitsky AN, Belousov NI, Osipova OA, et al. Scientific research in the field of gerontology and geriatrics during the Decade of Healthy Ageing (2021-2030). *Vrach*. 2021;32(6):5-8. Russian. DOI: <https://doi.org/10.29296/25877305-2021-06-01>
17. Chen J, Jin W, Zhang XX, et al. Telerehabilitation approaches for stroke patients: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2015;24(12):2660-2668. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.09.014>
18. Chernov AV, Shchetinina NA, Negrebetsky VA. Features of the psychological deficit profile of elderly patients with age-associated comorbid cardiopathology. *Research Results in Biomedicine*. 2023;9(4):557-569. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2023-9-4-0-10>
19. Nikolaev VA, Vorobtsova ES, Nikolaev AA. Digital healthcare in post-stroke medical rehabilitation: management of telemedicine technologies. *Healthcare Manager*. 2024;(11):97-109. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21045/1811-0185-2024-11-97-109>
20. Neveu M, Schwartz C, Vossius L, et al. Contribution of finger gnosis and fine motor skills to early numerical and arithmetic abilities: New insights from 3D motion analyses. *Developmental Psychology*. 2023;59(12):2356-2366. DOI: <https://doi.org/10.1037/dev0001660>
21. Gomes E, Alder G, Bright FAS, et al. Understanding task "challenge" in stroke rehabilitation: an interdisciplinary concept analysis. *Disability and Rehabilitation*. 2025;47(3):560-570. DOI: <https://doi.org/10.1080/09638288.2024.2356010>
22. Liang Q, Tao Y, He J, et al. Effects of home-based telemedicine and mHealth

interventions on blood pressure in stroke patients: a systematic evaluation and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2024;33(11):107928. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2024.107928>

23. Alwadai B, Lazem H, Almoajil H, et al. Telerehabilitation and Its Impact Following Stroke: An Umbrella Review of Systematic Reviews. *Journal of Clinical Medicine*. 2024;14(1):50. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm14010050>

24. Aurlene N, Ravichandran S, Bish M, et al. Oral Health Promotion Interventions in Residential Aged Care Facilities - A Systematic Review of Behaviour Change Techniques Used in Interventions. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*. 2025:13042. DOI: <https://doi.org/10.1111/cdoe.13042>

25. Gao J, Bai D, Chen H, et al. Risk factors analysis of cognitive frailty among geriatric adults in nursing homes based on logistic regression and decision tree modeling. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2024;16:1485153. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2024.1485153>

26. Malik AN, Afridi A, Rathore FA. Mobile Health (mHealth) Applications for Stroke Rehabilitation: A mini review. *Journal of the Pakistan Medical Association*. 2024;74(9):1723-1726. DOI: <https://doi.org/10.47391/jpma.24-74>

27. Katz C, Ruiz JM, Saigí-Rubió F, et al. The State of the Art of Telemedicine Implementation Architecture: Rapid Umbrella Review of Systematic Reviews. *Journal of Medical Internet Research*. 2025;27:e70276. DOI: <https://doi.org/10.2196/70276>

28. Stephenson A, Howes S, Murphy PJ, et al. Factors influencing the delivery of telerehabilitation for stroke: A systematic review. *PLoS ONE*. 2022;17(5):e0265828. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265828>

29. Vellata C, Belli S, Balsamo F, et al. Effectiveness of Telerehabilitation on Motor Impairments, Non-motor Symptoms and Compliance in Patients With Parkinson's Disease: A Systematic Review. *Frontiers in Neurology*. 2021;12:627999. DOI: <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.627999>

30. Malik AN, Tariq H, Afridi A, et al. Technological advancements in stroke rehabilitation. *Journal of Pakistan Medical Association*. 2022;72(8):1672-1674. DOI: <https://doi.org/10.47391/jpma.22-90>

31. Miryutova NF, Samoylova IM, Minchenko NN, et al. Therapeutic effects of mirror therapy in patients after stroke. *Problems of Balneology, Physiotherapy and Exercise Therapy*. 2021;98(5):14-23. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/kurort20219805114>

32. Ramachandran VS. Phantom limbs, neglect syndromes, repressed memory, and Freudian psychology. *International Review of Neurobiology*. 1994;37:291-333. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(08\)60254-8](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(08)60254-8)

33. Motriy EV, Shepel IS, Neustroeva TE. Mirror therapy as a method of rehabilitation for stroke patients. *Klinicheskaya meditsina*. 2023;101(11):577-581. Russian. DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2023-101-11-577-581>

34. Wang J, Fritsch C, Bernarding J, et al. Cerebral activation evoked by the mirror illusion of the hand in stroke patients compared to normal subjects. *NeuroRehabilitation*. 2013;33(4):593-603. DOI: <https://doi.org/10.3233/NRE-130999>

35. Dohle C, Pullen J, Nakaten A, et al. Mirror therapy promotes recovery from severe hemiparesis: A randomized controlled trial. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2009;23(3):209-217. DOI: <https://doi.org/10.1177/1545968308324786>

36. Hoermann S, Ferreira Dos Santos L, Morkisch N, et al. Computerised mirror therapy with augmented reflection technology for early stroke rehabilitation: Clinical feasibility and integration as an adjunct therapy. *Disability and Rehabilitation*. 2017;39(15):1503-1514. DOI: <https://doi.org/10.1080/09638288.2017.1291765>

37. Radajewska A, Opara JA, Kucio C, et al. The effects of mirror therapy on arm and hand function in subacute stroke in patients. *International Journal of Rehabilitation Research*. 2013;36(3):268-274. DOI: <https://doi.org/10.1097/MRR.0b013e3283606218>

38. Park JY, Chang M, Kim KM, et al. The effect of mirror therapy on upper-extremity function and activities of daily living in stroke patients. *Journal of Physical Therapy Science*. 2015;27(6):1681-1683. DOI: <https://doi.org/10.1589/jpts.27.1681>

39. Invernizzi M, Negrini S, Carda S, et al. The value of adding mirror therapy for upper limb motor recovery of subacute stroke patients: A randomized controlled trial. *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*. 2013;49(3):311-317.

40. Agarkov NM, Kopylov AE, Titov AA, et al. Features of geriatric status in patients with arterial hypertension and coronary heart disease (review). *Research Results in Biomedicine*. 2024;10(1):112-125. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2024-10-1-0-7>

41. Gebreheat G, Antonopoulos N, Porter-Armstrong A. Application of immersive virtual reality mirror therapy for upper limb rehabilitation after stroke: a scoping review. *Neurological Sciences*. 2024;45:4173-4184. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10072-024-07543-3>

42. Jaques ED, Figueiredo AI, Schiavo A, Loss BP, da Silveira GH, Sangalli VA, et al. Conventional mirror therapy versus immersive virtual reality mirror therapy: The perceived usability after stroke. *Stroke Research and Treatment*. 2023;2023:5080699. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/5080699>

Статья поступила в редакцию 20 мая 2025 г.

Поступила после доработки 15 июля 2025 г.

Принята к печати 2 августа 2025 г.

Received 20 May 2025

Revised 15 July 2025

Accepted 2 August 2025

Информация об авторах

Ольга Александровна Осипова, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры госпитальной терапии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: osipova_7@inbox.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7321-6529>.

Елена Владимировна Гостева, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры госпитальной терапии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: gosteva@bsuedu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8771-2558>.

Нина Ивановна Жернакова, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры семейной медицины ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: zhernakova@bsuedu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7648-0774>.

Юлия Олеговна Шахунова, аспирант по научной специальности 3.1.20 – Кардиология ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: shahunowa.julia@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-1010-9755>.

Николай Игоревич Ключников, кандидат медицинских наук, доцент кафедры социальной работы, социологии и психолого-педагогических дисциплин АНОО ВО «Институт социального образования», г. Воронеж, Российская Федерация, E-mail: klushnikowww@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6337-7129>.

Павел Георгиевич Осипов, кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной хирургии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: osipov@bsuedu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-3865-628X>.

Юрий Александрович Мезенцев, аспирант по научной специальности 31.06.01 – Клиническая медицина ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: mezentsev-yurij@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2772-9577>.

Сергей Юрьевич Попов, аспирант по научной специальности 3.1.31 – Геронтология и гериатрия АНОО ВО «Институт социального образования», г. Воронеж, Российская Федерация, E-mail: Ludmilvasil@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7914-0756>.

Information about the authors

Olga A. Osipova, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Professor at the Department of Hospital Therapy, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: osipova_7@inbox.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7321-6529>.

Elena V. Gosteva, Doct. Sci. (Medicine), Associate Professor, Professor at the Department of Hospital Therapy, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: gosteva@bsuedu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8771-2558>.

Nina I. Zhernakova, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Family Medicine, Belgorod State National Research

University, Belgorod, Russia, E-mail:
zhernakova@bsuedu.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0001-7648-0774>.

Yulia O. Shakhunova, Post-graduate Student in
Scientific Specialty 3.1.20 – Cardiology, Belgorod
State National Research University, Belgorod,
Russia, E-mail: shahunowa.julia@yandex.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-1010-9755>.

Nikolay I. Klyushnikov, Cand. Sci. (Medicine),
Associate Professor at the Department of Social
Work, Sociology and Psychological and
Pedagogical Disciplines, Institute of Social
Education, Voronezh, Russia, E-mail:
klushnikowww@yandex.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0001-6337-7129>.

Pavel G. Osipov, Cand. Sci. (Medicine), Associate
Professor at the Department of Hospital Surgery,
Belgorod State National Research University,
Belgorod, Russia, E-mail: osipov@bsuedu.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-3865-628X>.

Yuri A. Mezentsev, Post-graduate Student in
Scientific Specialty 31.06.01 – Clinical Medicine,
Belgorod State National Research University,
Belgorod, Russia, E-mail: mezentsev-
yurij@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2772-9577>.









Sergey Y. Popov, Post-graduate Student in
Scientific Specialty 3.1.31 – Gerontology and
Geriatrics, Institute of Social Education, Voronezh,
Russia, E-mail: Ludmilvasil@mail.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-7914-0756>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-9

УДК 576.54

Inhibitors of intracellular signaling affect the production of soluble endoglin by JEG-3 trophoblast cells upon interaction with NK cells

Valentina A. Mikhailova^{1,3,4} , Oksana B. Marko¹ , Edgar R. Mkrtchyan¹ , Anastasia Yu. Stolbovaya² , Ilya V. Smirnov² , Irina Yu. Krutetskaya² , Marina P. Samoylovich² , Dmitriy I. Sokolov^{1,3,4} 

¹ D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology,
3 Mendeleevskaya Line, Saint Petersburg, 199034, Russia

² A. Granov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies,
70 Leningradskaya St., Saint Petersburg, 197758, Russia

³ First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University,
6-8 Leo Tolstoy St., Saint Petersburg, 197022, Russia

⁴ Saint-Petersburg Pasteur Institute,
14 Mira St., Saint Petersburg, 197101, Russia

Corresponding author: Valentina A. Mikhailova (mva_spb@mail.ru)

Abstract

Background: The cytotoxic activity of natural killer (NK) cells is essential for the proper invasion of trophoblasts into the uterine mucosa. Endoglin (Eng) plays an important role in the interaction between NK cells and trophoblasts by assembling the TGF β receptor complex. The formation of soluble forms of (s)MICA and (s)MICB can help evade NK cell cytotoxicity. **The aim of the study:** to assess the interaction between NK-92 line NK cells and JEG-3 trophoblast cells via soluble forms of (s)Eng, sMICA and sMICB, when using a TGF β -dependent signaling pathway inhibitor and a cyclin-dependent kinase (CDK) 7 inhibitor. **Materials and methods:** We used NK-92 line cells and JEG-3 line trophoblast cells, the TGF β RI inhibitor LY3200882, and the CDK7 inhibitor THZ1. We incubated cells with LY3200882 or THZ1, and then cultured cells with inducers TNF α , IL-10, IFN γ , TGF β or trichostatin A (TSA). After 24 hours, we assessed the concentrations of sEng, sMICA, sMICB in the medium. **Results:** We showed that LY3200882 decreased sEng production in JEG-3 line cells. Cytokines IL-10, IFN γ , and TGF β abolished the effects of LY3200882 on sEng production by JEG-3 line cells. LY3200882 also induced sMICA formation by NK-92 line cells. THZ1 reduced sEng production by JEG-3 line cells, both in the absence of cytokines and following TNF α , IL-10, IFN γ , and TGF β stimulation. When co-cultured JEG-3 line cells with NK-92 line cells, THZ1 also lowered sEng levels. In the presence of TSA, JEG-3 cells increased sMICB production. However, after exposure of JEG-3 line cells to THZ1 and TSA, we observed a decrease in sMICB levels. **Conclusion:** Both the TGF β -dependent signaling inhibitor and the CDK7 inhibitor influence the interaction of NK-92 line cells with JEG-3 line trophoblast cells, affecting sEng production by JEG-3 line cells. The regulation of sEng formation by trophoblast cells presents new therapeutic avenues for managing reproductive pathologies.

Keywords: trophoblast; JEG-3; endoglin; TGF β ; MICA; MICB; NK cells; NK-92; THZ1; LY3200882

For citation: Mikhailova VA, Marko OB, Mkrtchyan ER, et al. Inhibitors of intracellular signaling affect the production of soluble endoglin by JEG-3 trophoblast cells upon interaction with NK cells. *Research Results in Biomedicine*. 2026;12(3):497-510. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-0-9

Introduction. Natural killer cells (NK cells) play an important role in regulating placental formation and, consequently, the normal course of pregnancy. Changes in their activation status are linked with reproductive disorders, such as recurrent miscarriage (RM) in the first trimester of pregnancy and preeclampsia (PE) in the third trimester [1]. NK cells are also key players in the anti-tumor immune response. However, during tumor progression, influenced by the cellular microenvironment, NK cells undergo phenotypic and functional changes, becoming similar to decidual NK cells in the uterus [2]. Studying NK cells is particularly relevant for developing targeted anti-tumor therapies [1, 2]. Due to the similarities between decidual NK cells and tumor-infiltrating NK cells, therapeutic strategies used for treatment of oncological diseases could potentially be adapted for threatening reproductive pathologies [1].

The cytokine TGF β is an important regulatory factor that influences NK cell functional activity in the uterus. Notably, tumor cells actively produce TGF β [2]. For example, activation of the TGF β -dependent signaling pathway was observed in cervical cancer [3]. TGF β is secreted in an inactive form, and its release from the inactivating peptide complex is necessary for signal transmission. The active form of TGF β binds to a TGF β receptor (T β R) II dimer, then to a T β RI dimer, forming a heterotetrameric complex [4]. There are three isoforms of the cytokine TGF β : TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3, all of which are present at the uteroplacental interface. TGF β 1 and TGF β 3 can directly bind to T β RII, with subsequent attachment of the co-receptor endoglin (Eng). Binding of TGF β 2, however, requires Eng for binding to T β RII [5, 6].

Eng is involved in activating different signaling pathways initiated by the assembly of the heterotetrameric TGF β receptor complex. For example, phosphorylation of its membrane form (L-Eng) results in activation of the Smad1/5/8 signaling pathway. The short form of Eng (S-Eng), containing a short cytoplasmic tail, binds to T β RI and triggers Smad2/3-dependent signaling [7]. A soluble form of Eng (sEng), generated through metalloproteinase 14 proteolytic activity, can bind TGF β and compete for its bioavailability [6]. Normally, Eng is expressed by trophoblast cells, however, high concentrations of sEng are observed in pregnant women with PE [6].

The interaction between NK cells with trophoblast cells involves the participation of Eng [8]. Blocking TGF β -dependent signaling may potentially regulate this interaction. For example, in RM, the expression of the protein EHD1 – a protein that regulates endocytosis of plasma membrane proteins – increased in trophoblast cells [9]. Experimentally demonstrated that EHD1 induces apoptosis of HTR8 trophoblast cells and reduces trophoblast invasion in mice, leading to impaired spiral artery remodeling [9]. Inhibition of TGF β -dependent signaling by LY3200882 suppressed the effects of EHD1, in particular reducing pSMAD2 levels [9]. X. Wu et al. concluded that the EHD1-TGF β RI-SMAD2/3 pathway could be a therapeutic target for overcoming RM [9]. However, the impact of the TGF β RI inhibitor LY3200882 on sEng production within the NK cell-trophoblast system remains poorly studied.

In the context of developing antitumor drugs, inhibitors of cyclin-dependent kinase (CDK) 7 – a protein that regulates gene transcription and the activity of other cyclin-dependent kinases within the RNA polymerase complex – are under investigation. CDK7 is known to stimulate the phosphorylation of

CDK1 and CDK2, thereby participating in cell cycle regulation [10]. The disruption of this regulation can contribute to malignancy. The selective CDK7 inhibitor THZ1 is used to block tumor cell proliferation [11]. TGF β induces tumor cell resistance to antitumor therapy with CDK7 inhibitors [11], although THZ1 also suppresses TGF β -dependent signaling [12]. It is important to note that TGF β also affects NK cells during cancer progression. For example, activation of the TGF β signaling pathway via the TGF β 3-T β RI/II interaction was observed in fibroblasts, T lymphocytes, and NK cells in cervical cancer [3]. However, the effects of THZ1 on NK cells, including in the microenvironment of TGF β -secreting cells, has not been previously studied.

NK cells can recognize target cells, including tumor cells of various origins, by binding the NK cell activation receptor NKG2D to proteins of the major histocompatibility complex, MICA and MICB [13, 14]. However, target cells can evade NK cell cytotoxicity by shedding MICA and MICB [13, 14]. The uterine decidua contains mesenchymal stromal cells expressing MICA and MICB, which can be targeted and lysed by activated NK cells [15]. Soluble forms of (s)MICA, (s)MICB found in cord blood plasma can alter the cytotoxic activity of NK cells in vitro [16]. In anti-tumor therapy, strategies aimed at reducing the levels of sMICA and sMICB and enhancing NK cell cytotoxicity are used [14]. Given the possibility of contact between NK cells and trophoblast cells in the uterus, it is important to determine their expression of sMICA and sMICB, as well as the impact of intracellular signaling inhibitors on these cells.

The aim of the study was to evaluate the interaction of NK-92 line NK cells with JEG-3 line trophoblast cells via sEng, sMICA and sMICB in the presence of an inhibitor of the TGF β -dependent signaling pathway and an inhibitor of the cyclin-dependent kinase CDK7.

Materials and Methods. *Cell lines.* We used the NK-92 cell line (ATCC, USA), which exhibits the primary phenotypic,

morphological and functional characteristics of activated natural killers [17]. We cultured the NK-92 line cells in a complete growth medium based on the minimal α -modified Eagle's medium (α -MEM) (Biolot, Russia) supplemented with IL-2 (500 U/ml) (Roncoleukin, Biotech, Russia). We cultured the cells in a humidified atmosphere at 37 °C with 5% CO₂ and subcultured them every two days.

We used the JEG-3 cell line (ATCC, USA) for trophoblast cells, as this mirrors the main properties of extravillous trophoblast cells during the first trimester of pregnancy [18, 19]. We cultured the cells in a complete growth medium based on the basic modified Eagle's medium (DMEM) (Biolot, Russia), in a humidified atmosphere at 37 °C with 5% CO₂ concentration. The cells were subcultured every 3-4 days.

Inductors and inhibitors. To inhibit T β RI signaling, we used the inhibitor LY3200882 at a concentration of 10 nmol/ml (Selleck Chemicals, USA). For selective transcription inhibition, the CDK7 kinase inhibitor THZ1 was used at a concentration of 1 nmol/ml (Selleck Chemicals, USA). We determined the concentrations of these inhibitors based on the manufacturer's recommendations and literature data [20, 21]. We chose the exposure duration for LY3200882 following the guidelines in the literature [22, 23].

The cytokines used as inducers included IL-10, IFN γ , TGF β , and TNF α , at the following working concentrations: IL-10 (10 ng/ml), IFN γ (1000 IU/ml), TGF β (5 ng/ml), and TNF α (50 U/ml) (all from R&D Systems, USA). Additionally, we utilized trichostatin A (TSA), a specific histone deacetylase inhibitor, at a working concentration of 1 μ g/ml (Merck, USA). We chose the cytokine concentrations in accordance with the manufacturers' recommendations. All stock solutions were prepared based on Hanks' solution (Biolot, Russia).

Cultivation of JEG-3 line trophoblast cells with NK-92 line cells in the presence and absence of cytokines and inhibitors. We seeded JEG-3 line trophoblast cells into

a 24-well adhesion plate at a concentration of 200,000 cells per ml. After 24 hours in culture, they formed a monolayer. The following day, we centrifuged the plate at 100×g for 3 minutes. After removing the medium, we added 500 μl of NK-92 line cell suspension (600,000 cells per ml) to the wells with the trophoblast cells (hereinafter referred to as co-culture). Additionally, we transferred some of the NK-92 cells to the wells that did not contain JEG-3 line trophoblast cells (hereinafter referred to as NK-92 cell monoculture). We also cultured some of the JEG-3 line cells without the addition of NK-92 line cells (hereinafter referred to as JEG-3 cell monoculture).

Subsequently, we added the LY3200882 inhibitor to some wells with NK-92 cells, JEG-3 cells, or the co-culture and incubated them for 24 hours. Four hours prior to the end of incubation, we added the THZ1 inhibitor to other wells containing NK-92 cells, JEG-3 cells, or the co-culture, thus exposing the cells to this inhibitor for 4 hours.

After incubation, we transferred the culture medium containing the cells into Eppendorf tubes and centrifuged them at

200×g for 5 minutes. The medium was then removed, and we added 500 μl of Hanks' solution to the Eppendorf tubes, thus washing the NK cells from the inhibitors. Similarly, we removed inhibitors from the trophoblast cells by adding 500 μl of Hanks' solution to the wells and centrifuging the plates at 200×g for 5 minutes. After disposing of the Hanks' solution, 500 μl of complete growth medium for NK cells was added to the Eppendorf tubes with the NK cells. We returned the contents of the Eppendorf tubes to the corresponding wells in the plate. We then incubated the cells for 24 hours, adding inducers (IL-10, IFN γ , TGF β and TNF α) in combination with each inhibitor, as well as in the absence of inhibitors. Some cells were left without inhibitors or inducers as a control. Four independent experiments were conducted (n = 4), with two technical replicates in each.

After incubation, we centrifuged the plates with cells at 100×g for 3 minutes and collected the conditioned medium (CM), which we stored at -80 °C for no more than 2 months. The experimental design is illustrated in Fig. 1.

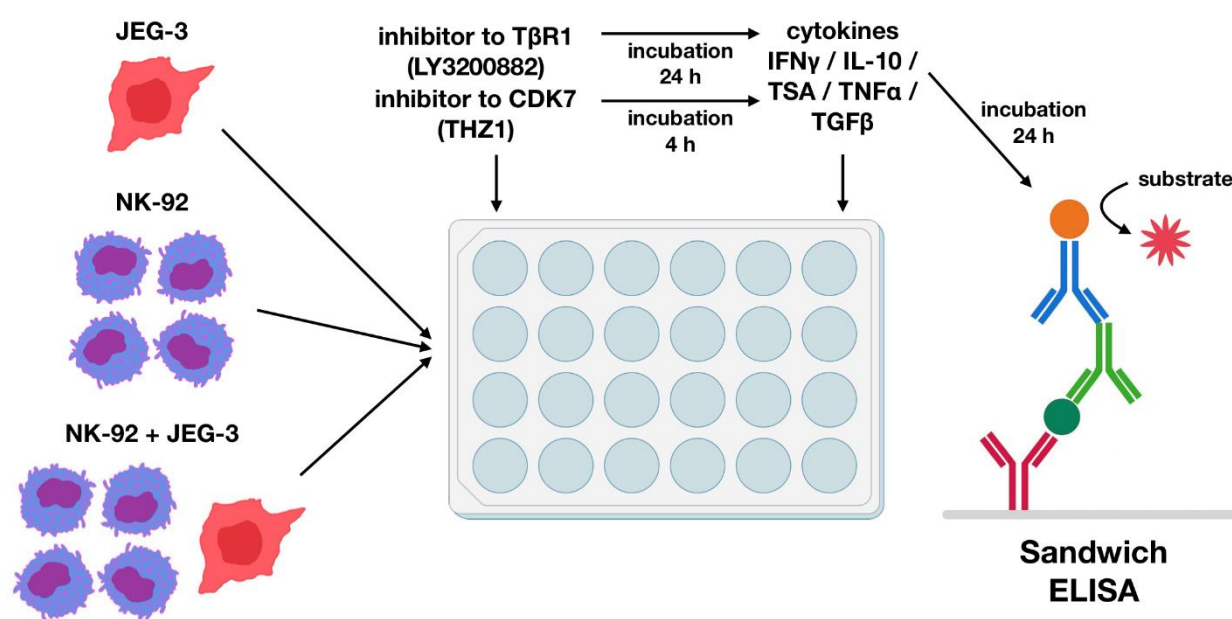


Fig. 1. Schematic diagram of the experiment, which involved culturing JEG-3 trophoblast cells alongside NK-92 cells in various combinations, with and without cytokines and inhibitors, followed by ELISA analysis

Evaluation of sMICA, sMICB, sEng secretion by JEG-3 line trophoblast cells and NK-92 line cells. For the two-center enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), we used a kit developed by the A. Granov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, Hybridoma Technology Laboratory [24]. The kit included monoclonal antibodies (MAB) against MICA (clones IA4+4AII/, IA4+2GI, 10 ng/ml), MICB (clones 4DII+4E3+2A3/1B8+2A8, 2.5 ng/ml), Eng (clone 4E4/4C9, 20 ng/ml); MAB for sorption; calibrator solution (R&D Systems, USA); Tris-Tween solution; TMB solution; reaction stop solution; phosphate saline solution (PSS). We also used 96-well Nunc MaxiSorp plates (Thermo Fisher Scientific, USA).

We assessed the secretion of sMICA, sMICB and sEng proteins in accordance with the manufacturer's instructions. We measured the optical density at a wavelength of 450 nm using an ELx808 spectrophotometer (Biotek Instruments, USA).

Statistical processing. We performed the statistical analyses using the GraphPad Prism 8 programme (GraphPad Software, USA). For paired comparisons, we used the non-parametric Mann-Whitney rank test. For multiple comparisons, we used the Kruskal-Wallis test with Dunn's post hoc test. We defined differences as statistically significant at $p < 0.05$. We analysed samples preliminarily for outliers.

The study adhered to the Code of Medical Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki). The Local Ethics Committee of D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology approved the research protocol (Protocol No. 135 dated 30th May 2024).

Results and discussion

sEng content in the CM of NK-92 and JEG-3 cell lines after their incubation with the

TGF β -dependent signaling pathway inhibitor LY3200882 and the cyclin-dependent kinase inhibitor CDK7 THZ1. To present the results more clearly, we prepared the graphs comparing the sEng concentration in the CM of the JEG-3 cell line monoculture after exposure to LY3200882 (Fig. 2A) and THZ1 (Fig. 2B). Figure 3 illustrates the comparison of sEng levels in the monocultures of NK-92 and JEG-3 cells, as well as in their co-culture. Additionally, the sEng content in the co-culture CM is presented in the presence of LY3200882 (Fig. 4A) and THZ1 (Fig. 4B).

Our findings indicate that sEng is present in the CM of JEG-3 cells. After incubation with the inhibitor LY3200882, the sEng concentration in the CM of the JEG-3 cell monoculture reduced compared to that in the CM of intact JEG-3 cells (Fig. 2A). We demonstrated that culturing JEG-3 cells with TSA resulted in a decrease in sEng concentration in the CM, whereas cytokines had no effect on sEng levels (Fig. 2). Furthermore, the sEng concentration in the CM of JEG-3 cell monocultures that were first treated with LY3200882, followed by TSA or the cytokine TNF α , was reduced compared to monocultures that were solely treated with TSA or TNF α (Fig. 2A).

We demonstrated that the concentration of sEng in the CM of JEG-3 cells treated with the THZ1 inhibitor was lower than in intact JEG-3 cells (Fig. 2B). THZ1 was found to maintain its inhibitory effect on sEng levels in the CM of the JEG-3 cell monoculture even when cytokines such as TNF α , IL-10, IFN γ and TGF β were present in the media (Fig. 2B).

In the CM of the NK-92 cell monoculture, sEng was absent after incubating the cells without inducers, after pretreating them with the inhibitors LY3200882 and THZ1, and during cultivation with all the inducers used in the study (see Fig. 3).

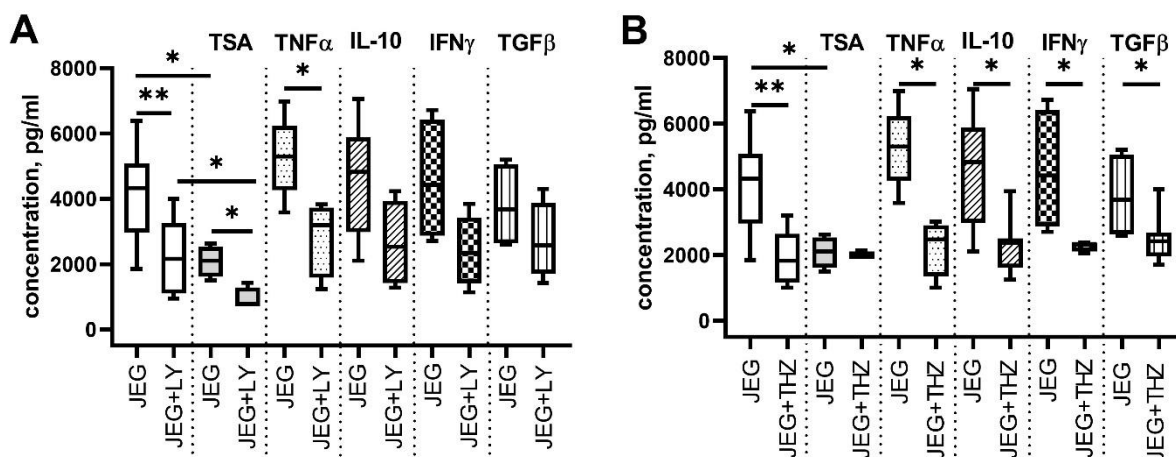


Fig. 2. sEng content in the CM of the JEG-3 cell monoculture incubated with inducers after pretreatment of the cells with inhibitor LY3200882 (A) or THZ1 (B). LY – LY3200882 inhibitor, THZ – THZ1 inhibitor. Statistical significance of differences: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$

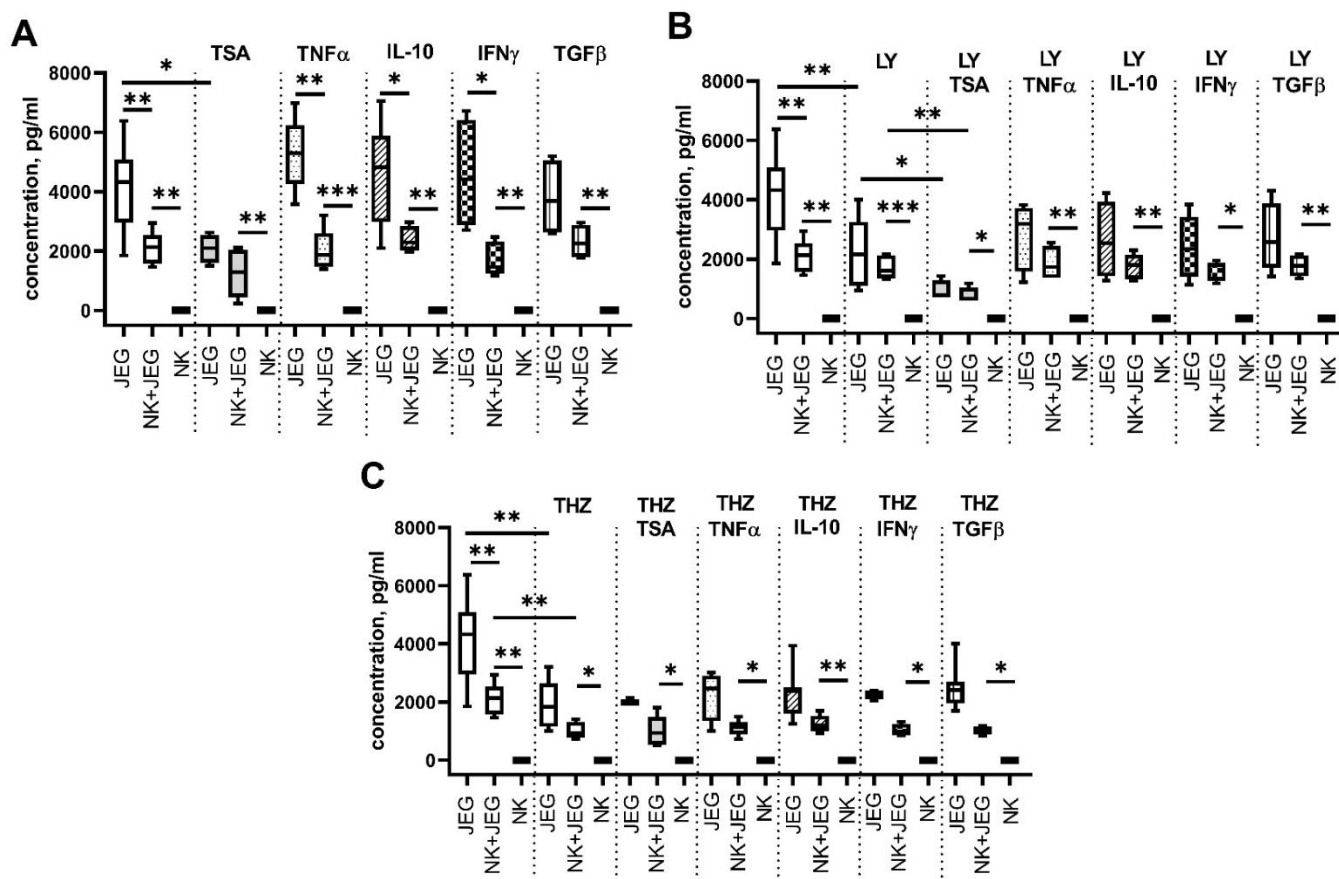


Fig. 3. sEng content in the CM of JEG-3 and NK-92 cell monocultures and their co-culture after incubation with inducers without pretreatment of cells (A) and after pretreatment with the inhibitor LY3200882 (B) or THZ1 (C). LY – inhibitor LY3200882, THZ – inhibitor THZ1. Statistical significance of differences: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$

We detected sEng in the CM from the co-culture, in contrast to the CM obtained from

the NK-92 cell monoculture (Fig. 3A-B). This increase in sEng levels was observed both in

the CM from cells cultured without inhibitors and in the CM from cells treated with the inhibitors LY3200882 (Fig. 3B) and THZ1 (Fig. 3C). Notably, cytokines and TSA did not alter the sEng concentration in the co-culture CM (Fig. 3A).

We observed that the concentration of sEng in the CM from the co-culture was lower than in the CM from the JEG-3 cell monoculture incubated without inducers (see Fig. 3). A similar trend was observed when cytokines TNF α , IL-10 and IFN γ were present, but not TGF β : the sEng concentrations in the co-culture CM were lower than in the JEG-3 cell monoculture (Fig. 3B). Furthermore, the sEng concentration in the CM of the co-culture did not differ from that of the JEG-3 cell monoculture in the presence of TSA (Fig. 3A).

Pre-incubation with the inhibitor LY3200882 had no effect on the concentration

of sEng in the CM of the JEG-3 cell monoculture or the co-culture (Fig. 3B), regardless of whether the cells were subsequently incubated with cytokines. TSA decreased the sEng concentration in co-culture CM pretreated with LY3200882 (Fig. 3B, 4A).

Similarly, pre-incubation with THZ1 reduced the sEng concentration in the CM of the JEG-3 cell monoculture, resulting in no difference compared to the co-culture (Fig. 3B). Comparisons of sEng concentrations in the co-culture indicated that THZ1 resulted in decreased sEng levels compared to the co-culture without the inhibitor (Fig. 3B, 4B).

We found that the inhibitor LY3200882 had no effect on sEng levels in the co-culture CM, either during incubation without cytokines or after culturing in a medium containing cytokine (Fig. 4A).

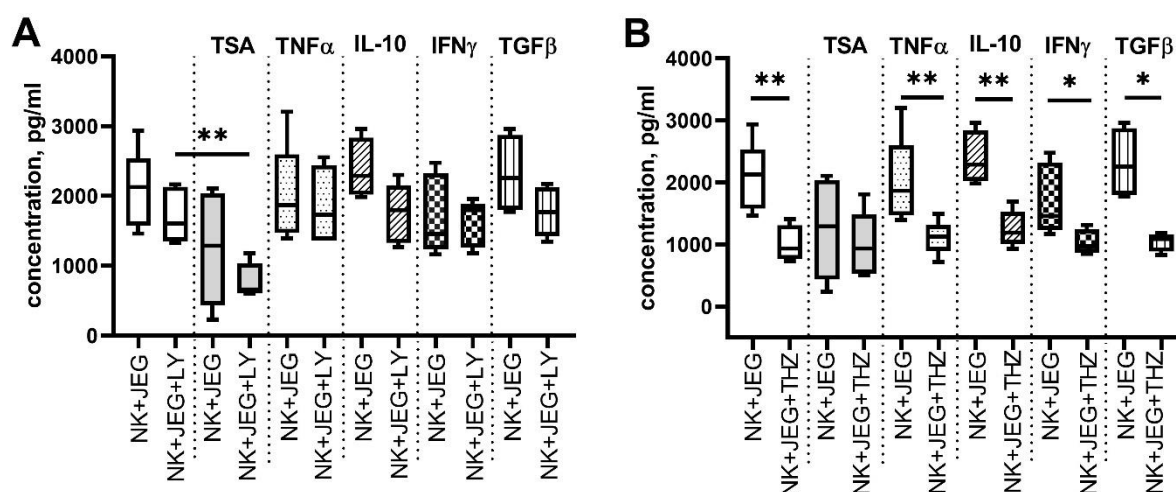


Fig. 4. sEng content in the CM of the co-culture of JEG-3 and NK-92 cells incubated with inducers after pretreatment of the cells with the inhibitor LY3200882 (A) or THZ1 (B). LY – inhibitor LY3200882, THZ – inhibitor THZ1. Statistical significance of differences: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$

The inhibitor THZ1 reduced the sEng concentration in the co-culture CM compared to the co-culture CM incubated without THZ1 (Fig. 4B). This effect maintained in the presence of the cytokines TNF α , TGF β , IL-10, IFN γ , but not TSA (Fig. 4B).

sMICA content in the CM of NK-92 and JEG-3 cell lines after their incubation with the TGF β -dependent signaling pathway inhibitor

LY3200882 and the cyclin-dependent kinase inhibitor CDK7 THZ1. We observed that both JEG-3 and NK-92 cell monocultures did not produce sMICA, regardless of whether they were cultured in the presence or absence of inducers. The addition of the inhibitor LY3200882 or THZ1 did not lead to the detection of sMICA in the CM of trophoblast cells (Fig. 5).

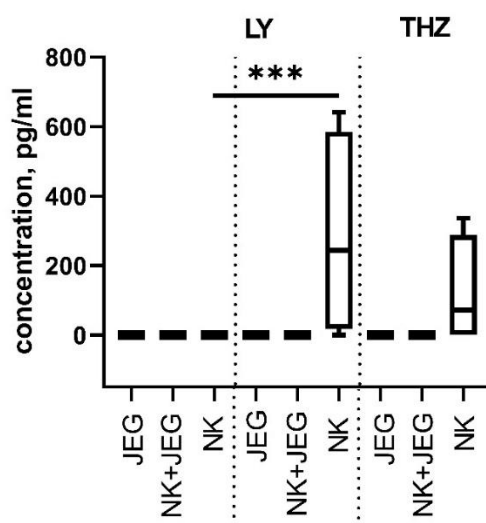


Fig. 5. Effect of LY3200882 and THZ1 inhibitors on the sMICA protein content in the CM of JEG-3 and NK-92 cell monocultures and their co-culture. LY – LY3200882 inhibitor, THZ – THZ1 inhibitor. Statistical significance of differences: *** – $p < 0.001$

However, the inhibitor LY3200882 resulted in an increased level of sMICA in the NK-92 cell monoculture compared to the CM from intact NK cells (Fig. 5). Furthermore, after treating NK cells with LY3200882 and subsequently adding inducers, we did not detect any sMICA proteins in the CM. Similarly, no sMICA was identified in the CM of the co-culture.

sMICB content in the CM of NK-92 and JEG-3 cell lines after their incubation with the TGF β -dependent signaling pathway inhibitor LY3200882 and the cyclin-dependent kinase inhibitor CDK7 THZ1. We detected sMICB in the CM of the JEG-3 cell monoculture (Fig. 6). The addition of cytokines TGF β , IFN γ , TNF α , IL-10 did not significantly alter the concentration of sMICB in the CM of the JEG-3 cells. However, following treatment with TSA, we observed an increase in the sMICB protein levels in the CM of the JEG-3 cells compared to those cultured without the inducer (Fig. 6).

The inhibitors LY3200882 and THZ1 did not affect the sMICB concentration in the CM of the JEG-3 cell monoculture. Notably, we detected a higher level of sMICB in the CM after pretreating JEG-3 cells with LY3200882 and then exposing them to TSA than when the cells were incubated with LY3200882 alone (Fig. 6).

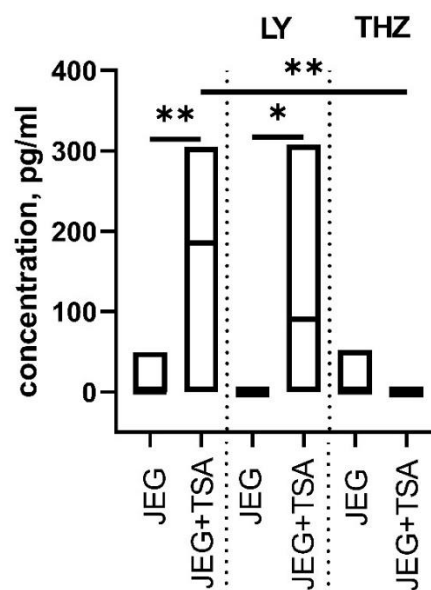


Fig. 6. Effect of LY3200882 and THZ1 inhibitors on the sMICB protein content in the CM of the JEG-3 cell monoculture. LY – LY3200882 inhibitor, THZ – THZ1 inhibitor. Statistical significance of differences: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$

While the inhibitor THZ1 did not change the sMICB concentration in the CM of JEG-3 cells without inducers, we found that the sMICB content was lower after treatment with both THZ1 and TSA compared to treatment with TSA alone (Fig. 6).

Additionally, we determined that NK-92 cells do not produce sMICB. No sMICB proteins we detected in the CM from the co-culture of NK-92 and JEG-3 cells. We did not reveal any effect of LY3200882 and THZ1 inhibitors, as well as the inducer TSA and

cytokines TGFβ, IFNγ, TNFα, IL-10 on the sMICB content in either the CM of the NK-92 cell monoculture or the CM of the co-culture.

Figure 7 summarizes the main findings of our study.

		monoculture NK-92	coculture NK-92+JEG-3	monoculture JEG-3
no inhibitor	inducing factor			
	—	—	+	+
	TSA	—	+	+ sEng ↓ (sMICB ↑)
	TNFα	—	+	+
	IL-10	—	+	+
	IFNγ	—	+	+
	TGFβ	—	+	+
LY3200882	—	— (sMICA ↑)	+	+ sEng ↓
	TSA	—	+ sEng ↓	+ sEng ↓ (sMICB ↑)
	TNFα	—	+	+ sEng ↓
	IL-10	—	+	+
	IFNγ	—	+	+
	TGFβ	—	+	+
	THZ1	—	—	+ sEng ↓
TSA		—	+	+ (sMICB ↓)
TNFα		—	+	+ sEng ↓
IL-10		—	+	+ sEng ↓
IFNγ		—	+	+ sEng ↓
TGFβ		—	+	+ sEng ↓

Fig. 7. Scheme showing the main results of the assessment of the effect of inhibitors LY3200882 and THZ1 on sEng production in monocultures of NK-92 and JEG-3 cell lines and their co-culture. Designations: “—” absence of sEng in CM, “+” presence of sEng in CM, “↑” increase in content, “↓” decrease in content. The diagram also shows data on the content of sMICA and sMICB in CM in brackets

Overall, we discovered that JEG-3 trophoblast cells produce sEng, and that treatment with TSA leads to a decrease in the concentration of sEng in the CM. Previous

studies have shown that JEG-3 cells express Eng on their plasma membrane and generate its soluble form [8]. The production of sEng by trophoblast cells is believed to be a mechanism

for evading the cytotoxic activity of NK cells [8]. According to the literature, epigenetic modifications of DNA, including histone deacetylation, influence the migration and proliferation capabilities of both primary trophoblast cells and JEG-3 cells [25, 26]. Exposure to TSA induces histone hyperacetylation, which relaxes DNA and modulates gene expression [27]. Therefore, the observed reduction in sEng production by JEG-3 cells after TSA treatment can be interpreted as a cellular response to a stress factor. Moreover, it is important to consider that sEng formation may not only result from the activity of MMPs but could also arise from epigenetic modifications occurring directly within the trophoblast cells.

The cytokine TGF β is synthesized by trophoblast cells, including JEG-3 cells [28]. It regulates the invasion of trophoblast cells [29], and a deficiency of this cytokine may lead to miscarriage. In the context of PE, an increased production of TGF β in the placenta has been observed [30]. Additionally, elevated levels of sEng have been detected in patients with PE [6]. We demonstrated that inhibiting TGF β -dependent signaling using LY3200882 reduced sEng concentrations in JEG-3 cells. This suggests that sEng production by trophoblast cells is dependent on TGF β , which may contribute to the pathogenesis of PE, alongside sEng synthesis by endothelial cells.

Following the treatment of JEG-3 cells with either the inhibitor LY3200882 or TSA, we observed a significant decrease in sEng concentrations. This is likely to be the result of the combined effects of TGF β deprivation and cellular stress. A similar reduction in sEng levels occurred when JEG-3 cells were co-cultured with NK cells.

Furthermore, adding TNF α to JEG-3 cells after treating them with LY3200882 resulted in a further decrease in sEng concentrations in the CM, likely due to TNF α 's pro-inflammatory effects. Conversely, the cytokines IL-10, IFN γ and TGF β counteracted the inhibitory effect of LY3200882 on sEng production by JEG-3 cells. Notably, IL-10 and IFN γ are present at the uteroplacental interface and have been shown to be secreted by

decidual NK cells [31]. Prolonged exposure to IL-10 and IFN γ results in stable HLA-G expression in JEG-3 trophoblast cells [32]. Therefore, inhibiting the TGF β -dependent signalling pathway may have a reduced impact on sEng production in the presence of these cytokines.

At the same time, it is important to highlight the cancellation of the effect of the inhibitor LY3200882 on the formation of sEng in the presence of TGF β . Previous studies have suggested that sEng can bind TGF β , functioning as a carrier protein that facilitates the transfer of sEng between cells, particularly from trophoblasts to NK cells [8]. When exogenous TGF β is added to JEG-3 cells, an excess amount of this cytokine may bind to sEng, inhibiting the detection of sEng by the antibodies used in the ELISA assay. This binding may lead to a decrease in the detectable sEng in the CM and result in no observable differences in sEng levels in JEG-3 cells following T β RI blockade. Overall, further research is needed to clarify the relationship between sEng production by trophoblast cells and the functional activity of T β RI.

We found that JEG-3 cells reduced sEng production upon exposure to the inhibitor THZ1, an effect noted both in the absence of cytokines and after stimulation with TNF α , IL-10, IFN γ , and TGF β . Notably, THZ1 also resulted in a decrease in sEng concentration in co-culture conditions. These findings suggest that THZ1 exerts a more pronounced effect on trophoblasts, diminishing their ability to regulate recognition by NK cells.

As established previously, NK-92 cells do not produce sEng [8]. In the current study, we demonstrated that coculturing NK-92 cells with JEG-3 cells led to a reduction in sEng content in the CM compared to the levels observed in the CM of JEG-3 cells alone. This finding supports the hypothesis that sEng is involved in the intercellular interactions between NK cells and trophoblasts. We noted these differences in sEng levels both in the absence of cytokines and in the presence of TNF α , IL-10, and IFN γ . However, in the presence of TGF β , there were no changes in

the sEng content in the JEG-3 cell monoculture and their co-culture with NK cells. The results obtained can be explained by our hypothesis regarding alterations in the configuration of sEng epitopes due to TGF β binding, which may occur when there is an excess of this cytokine in the CM, resulting in decreased sensitivity of the ELISA assay.

We observed that following preliminary incubation of cells with both the TGF β -dependent signaling pathway inhibitor and the CDK7 inhibitor, the sEng concentration in the CM of the co-culture did not differ from that observed in the JEG-3 cell monoculture. We attribute these results to the decreased sEng level in the CM from JEG-3 cells, which we detected after treatment with THZ1 and LY3200882.

In this study, we also evaluated the impact of inhibitors THZ1 and LY3200882 on the production of sMICA and sMICB by NK-92 and JEG-3 cell lines. The expression of MICA and MICB has been shown in many types of cancer [33]. Shedding of these ligands from the cell membrane may enable cells to evade recognition by cytotoxic lymphocytes and NK cells [34]. Elevated levels of sMICA and sMICB levels are associated with malignancy [35, 36]. Overall, there is currently limited data on MICA/B production by NK cells.

The NK-92 cells used in our experiments were derived from a patient with non-Hodgkin's lymphoma. Immunohistochemical analysis of lymph nodes from patients with this condition shows the expression of MICA and MICB, along with elevated levels of their soluble forms in the bloodstream [36]. A significant increase in the concentration of sMICA and sMICB has been linked with a poor prognosis of this disease [36]. Furthermore, NK-92 cells are known to express MICA and MICB on their membrane [8], suggesting that these cells may also produce sMICA and sMICB.

Our data indicate that intact NK-92 cells did not produce sMICA and sMICB. However, upon exposure to a TGF β -dependent signaling inhibitor, the concentration of sMICA in the CM from NK-92 cells increased. We have

previously established that NK-92 cells secrete TGF β [37]. It is likely that the blockade of T β RI resulting from incubation with LY3200882 serves as a stress signal for NK cells, prompting them to shed sMICA in an attempt to evade cytolysis.

We found that JEG-3 cells produce sMICB, and its concentration increases in the presence of TSA. These results indirectly support the hypothesis that TSA induces stress in JEG-3 cells. Interestingly, inhibition of TGF β -dependent signaling did not alter the secretion of sMICB by JEG-3 cells. When CDK7 was inhibited and JEG-3 cells were exposed to TSA, we observed a decrease in sMICB concentration. This may be attributed to TSA induced release of DNA from histone binding. Yet, THZ1 blocks the activity of the DNA polymerase complex. We assume that these opposing mechanisms contribute to the cancellation of the effect of TSA on JEG-3 cells.

Conclusion. Inhibiting TGF β -dependent signaling with LY3200882 decreased sEng levels in JEG-3 cells. However, the presence of the cytokines IL-10, IFN γ and TGF β negated the effect of LY3200882 on sEng production in these cells. Furthermore, LY3200882 induced sMICA formation in NK-92 cells, which suggests that these cells avoid cytolysis when deprived of TGF β signaling.

Furthermore, the CDK7 inhibitor THZ1 decreased sEng production in JEG-3 cells, both in the absence of cytokines and following stimulation with TNF α , IL-10, IFN γ , and TGF β . In co-culture of JEG-3 cells with NK-92 cells, THZ1 also led to a decrease in sEng concentration. These findings suggest that THZ1 significantly affects trophoblast cells, resulting in a diminished ability to regulate their recognition by NK cells. In the presence of TSA, JEG-3 cells increased the production of sMICB. However, after treatment with both THZ1 and TSA, we observed a decrease in sMICB concentration, which may be linked to the inhibition of the DNA polymerase complex.

Thus, both the TGF β -dependent signaling inhibitor and the CDK7 inhibitor influence the interaction of NK-92 cells with

JEG-3 trophoblast cells, thereby altering the production of sEng by JEG-3 cells.

Financial support

The work was supported by Grant № 25-24-00028 (2025-2026) from the Russian Science Foundation.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Small HY, Cornelius DC, Guzik TJ, Delles C. Natural killer cells in placentation and cancer: Implications for hypertension during pregnancy. *Placenta*. 2017;56:59-64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2017.03.003>
2. Albin A, Noonan DM. Decidual-Like NK Cell Polarization: From Cancer Killing to Cancer Nurturing. *Cancer Discovery*. 2021;11(1):28-33. DOI: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-0796>
3. Qu H, Zhao J, Zuo X, et al. TGF-beta-mediated activation of fibroblasts in cervical cancer: implications for tumor microenvironment and prognosis. *PeerJ*. 2025;13:e19072. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.19072>
4. Chia ZJ, Cao YN, Little PJ, et al. Transforming growth factor-beta receptors: versatile mechanisms of ligand activation. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2024;45(7):1337-1348. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41401-024-01235-6>
5. Horvat Mercnik M, Schliefssteiner C, Sanchez-Duffhues G, et al. TGFbeta signalling: a nexus between inflammation, placental health and preeclampsia throughout pregnancy. *Human Reproduction Update*. 2024;30(4):442-471. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmae007>
6. Margioulas-Siarkou G, Margioulas-Siarkou C, Petousis S, et al. The role of endoglin and its soluble form in pathogenesis of preeclampsia. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2022;477(2):479-491. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04294-z>
7. Heldin CH, Moustakas A. Signaling Receptors for TGF-beta Family Members. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2016;8(8):a022053. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022053>
8. Tyshchuk E, Grebenkina P, Krutetskaya I, et al. Endoglin Regulates Intercellular Interactions between Trophoblast and Natural Killer Cells. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2024;60(3):930-946. DOI: <https://doi.org/10.1134/s0022093024030074>
9. Wu X, Shen J, Liu J, et al. Increased EHD1 in trophoblasts causes RSM by activating TGFbeta signaling. *Biology of Reproduction*. 2024;111(6):1235-1248. DOI: <https://doi.org/10.1093/biolre/iaoe110>
10. Sava GP, Fan H, Coombes RC, et al. CDK7 inhibitors as anticancer drugs. *Cancer Metastasis Reviews*. 2020;39(3):805-823. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10555-020-09885-8>
11. Webb BM, Bryson BL, Williams-Medina E, et al. TGF-beta/activin signaling promotes CDK7 inhibitor resistance in triple-negative breast cancer cells through upregulation of multidrug transporters. *Journal of Biological Chemistry*. 2021;297(4):101162. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101162>
12. Ning J, Ma X, Long C, et al. Anti-tumor Drug THZ1 Suppresses TGFbeta2-mediated EMT in Lens Epithelial Cells via Notch and TGFbeta/Smad Signaling Pathway. *Journal of Cancer*. 2019;10(16):3778-3788. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.30359>
13. Xing S, Ferrari de Andrade L. NKG2D and MICA/B shedding: a 'tag game' between NK cells and malignant cells. *Clinical and Translational Immunology*. 2020;9(12):e1230. DOI: <https://doi.org/10.1002/cti2.1230>
14. Whalen KA, Rakhra K, Mehta NK, et al. Engaging natural killer cells for cancer therapy via NKG2D, CD16A and other receptors. *mAbs*. 2023;15(1):2208697. DOI: <https://doi.org/10.1080/19420862.2023.2208697>
15. Abumaree MH, Bahattab E, Alsadoun A, et al. Characterization of the interaction between human decidua parietalis mesenchymal stem/stromal cells and natural killer cells. *Stem Cell Research and Therapy*. 2018;9(1):102. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0844-y>
16. Cox ST, Danby R, Hernandez D, et al. Functional Characterisation and Analysis of the Soluble NKG2D Ligand Repertoire Detected in Umbilical Cord Blood Plasma. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:1282. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01282>
17. Gong JH, Maki G, Klingemann HG. Characterization of a human cell line (NK-92) with phenotypical and functional characteristics of activated natural killer cells. *Leukemia*. 1994;8(4):652-658.
18. Hannan NJ, Paiva P, Dimitriadis E, et al. Models for study of human embryo implantation: choice of cell lines? *Biology of*

- Reproduction. 2010;82(2):235-245. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077800>
19. Kohler PO, Bridson WE. Isolation of hormone-producing clonal lines of human choriocarcinoma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1971;32(5):683-687. DOI: <https://doi.org/10.1210/jcem-32-5-683>
20. Cao H, Gao Y, Wang R, et al. Wogonin reverses the drug resistance of chronic myelogenous leukemia cells to imatinib through CXCL12-CXCR4/7 axis in bone marrow microenvironment. *Annals of Translational Medicine*. 2020;8(17):1046. DOI: <https://doi.org/10.21037/atm-20-1166>
21. Zeng M, Kwiatkowski NP, Zhang T, et al. Targeting MYC dependency in ovarian cancer through inhibition of CDK7 and CDK12/13. *eLife*. 2018;7:e39030. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.39030>
22. Simonds MM, Schlefman AR, McCahan SM, et al. The culture microenvironment of juvenile idiopathic arthritis synovial fibroblasts is favorable for endochondral bone formation through BMP4 and repressed by chondrocytes. *Pediatric Rheumatology*. 2021;19(1):72. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12969-021-00556-8>
23. Hu Y, Xu W, Zeng H, et al. OXPHOS-dependent metabolic reprogramming prompts metastatic potential of breast cancer cells under osteogenic differentiation. *British Journal of Cancer*. 2020;123(11):1644-1655. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41416-020-01040-y>
24. Stolbovaya AY, Pinevich AA, Gryazeva IV, et al. Detection and Quantification of Polymorphic MICA and MICB Molecules in Immunoassays: Initial Insights. *HLA*. 2025;105(2):e70039. DOI: <https://doi.org/10.1111/tan.70039>
25. Ma H, Qi MY, Zhang X, et al. HSPC117 is regulated by epigenetic modification and is involved in the migration of JEG-3 cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2014;15(6):10936-10949. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms150610936>
26. Wang P, Zhao C, Zhou H, et al. Dysregulation of Histone Deacetylases Inhibits Trophoblast Growth during Early Placental Development Partially through TFEB-Dependent Autophagy-Lysosomal Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(15):11899. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241511899>
27. Estella C, Herrer I, Atkinson SP, et al. Inhibition of histone deacetylase activity in human endometrial stromal cells promotes extracellular matrix remodelling and limits embryo invasion. *PLoS ONE*. 2012;7(1):e30508. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030508>
28. Liu Q, Ding J, Xie Q. Regulatory Effects of Fyn on Trophoblast Cell Behaviors and Function. *BioMed Research International*. 2022;2022:6006981. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/6006981>
29. Fang L, Yan Y, Gao Y, et al. TGF-beta1 inhibits human trophoblast cell invasion by upregulating kisspeptin expression through ERK1/2 but not SMAD signaling pathway. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2022;20(1):22. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00902-9>
30. Yang D, Dai F, Yuan M, et al. Role of Transforming Growth Factor-beta1 in Regulating Fetal-Maternal Immune Tolerance in Normal and Pathological Pregnancy. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:689181. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.689181>
31. Liu J, Dong P, Wen X, et al. Studys on the effect of decidual stromal cells and trophoblast cells on cytokine secretion by decidual NK cells. *Gynecological Endocrinology*. 2025;41(1):2497857. DOI: <https://doi.org/10.1080/09513590.2025.2497857>
32. Persson G, Bork JBS, Isgaard C, et al. Cytokine stimulation of the choriocarcinoma cell line JEG-3 leads to alterations in the HLA-G expression profile. *Cellular Immunology*. 2020;352:104110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2020.104110>
33. Lee S, Chae SJ, Jang IH, et al. B7H6 is the predominant activating ligand driving natural killer cell-mediated killing in patients with liquid tumours: evidence from clinical, in silico, in vitro, and in vivo studies. *eBioMedicine*. 2024;110:105459. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2024.105459>
34. Ou ZL, Luo Z, Wei W, et al. Hypoxia-induced shedding of MICA and HIF1A-mediated immune escape of pancreatic cancer cells from NK cells: role of circ_0000977/miR-153 axis. *RNA Biology*. 2019;16(11):1592-1603. DOI: <https://doi.org/10.1080/15476286.2019.1649585>
35. Tchacrome I, Zhu Q, Saleh MA, Zou Y. Diseases association with the polymorphic major histocompatibility complex class I related chain a: MICA gene. *Transplant Immunology*. 2022;75:101665. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trim.2022.101665>
36. Olivas-Bejarano AC, Montiel-Cervantes LA, Del Carmen Perez-Retiguin F, et al. Lymphocyte subsets and soluble forms of MIC-A and MIC-B are prognostic factors in non-Hodgkin lymphoma patients. *Annals of Hematology*.

2024;103(4):1317-1325. DOI:
<https://doi.org/10.1007/s00277-023-05583-x>

37. Grebenkina PV, Mikhailova VA, Bespalova ON, et al. Regulation of the cytokine profile of NK cells by the microenvironment factors typical for pregnancy. *Medical Immunology*. 2025;27(2):445-450. Russian. DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-ROT-3061>

Received 11 July 2025

Revised 22 September 2025

Accepted 7 October 2025

Information about the authors

Valentina A. Mikhailova, Doct. Sci. (Biology), Leading Researcher at the Laboratory of General and Clinical Immunology, Department of Immunology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology; Associate Professor at the Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Immunology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia, E-mail: mva_spb@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1328-8157>.

Oksana B. Marko, Junior Researcher at the Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, E-mail: okmarko@ya.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6078-1791>.

Edgar R. Mkrtychyan, Laboratory Assistant at the Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, E-mail: ed.mkk@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-0741-7101>.

Anastasia Yu. Stolbovaya, Researcher at the Hybridoma Technology Laboratory, A. Granov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, Saint Petersburg, Russia, E-mail: anastasia.stolbovaya@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5253-6016>.

Ilya V. Smirnov, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Hybridoma Technology Laboratory, A. Granov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, Saint Petersburg, Russia, E-mail: smirnov.iv.mail@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1341-825X>.

Irina Yu. Krutetskaya, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Hybridoma Technology Laboratory, A. Granov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, Saint Petersburg, Russia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2344-5884>.

Marina P. Samoylovich, Doct. Sci. (Biology), Head of the Department, Chief Researcher at the Hybridoma Technology Laboratory, A. Granov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, Saint Petersburg, Russia, E-mail: mpsamoylovich@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0957-8453>.

Dmitriy I. Sokolov, Doct. Sci. (Biology), Professor, Head of the Department of Immunology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Professor at the Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Immunology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia, E-mail: falcojugger@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5749-2531>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-1-0

УДК 616.71-001.5+616.127-05.8-07

Прогностические биомаркеры низкоэнергетических переломов среди пациентов старшего возраста

Н.М. Агарков^{1,2} , А.С.О. Ибиев³ , И.М. Федосеев¹ ,
А.А. Бахарева¹ , Д.Р. Шмарова¹ , А.А. Шорохова¹ , А.Е. Копылов² 

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

² Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», Рассказовское шоссе, д. 1, г. Тамбов, 392000, Российская Федерация

³ Общество с ограниченной ответственностью «Лахта Клиника», ул. Савушкина, д. 73/50, г. Санкт-Петербург, 197183, Российская Федерация

Автор для переписки: Н.М. Агарков (vitalaxen@mail.ru)

Резюме








Актуальность: Низкоэнергетические переломы часто встречаются среди пациентов пожилого и старческого возраста, но прогностическая способность отдельных биомаркеров крови в отношении этих переломов остаётся недостаточно изученной. **Цель исследования:** Выявление прогностических биомаркеров низкоэнергетических переломов среди пациентов старшего возраста. **Материалы и методы:** Обследовано 112 пациентов 65 лет и старше, получивших низкоэнергетические переломы бедра, и 109 лиц 65 лет и старше с отсутствием данных переломов. Диагностика низкоэнергетических переломов бедра проведена по данным анамнеза, жалоб, объективных клинических симптомов, рентгенографического исследования. Биохимические показатели крови анализировались в утренние часы до приема пищи по содержанию в сыворотке крови глюкозы, гемоглобина, абсолютного количества лимфоцитов, альбумина, глобулина, прямого билирубина, непрямого билирубина, креатинина, цистатина С. При статистической обработке использованы корреляционный, однофакторный и многофакторный логистический регрессионный анализ, ROC-анализ. **Результаты:** Среди пациентов с низкоэнергетическими переломами бедра статистически значимо ниже среди проанализированных биохимических параметров крови было содержание альбумина до $33,6 \pm 2,4$ г/л (ниже границ нормы), аполипротеина А до $0,8 \pm 0,1$ г/л, креатинина до $0,59 \pm 0,2$ мг/л, непрямого билирубина до $11,3 \pm 1,2$ мкмоль/л в сыворотке крови. Однако в этой группе по сравнению с лицами без низкоэнергетических переломов бедра достоверно выше уровень липопротеинов низкой плотности (до $2,76 \pm 0,7$ ммоль/л), цистатина С в сыворотке крови (до $1,34 \pm 0,3$ мг/л) и сниженный индекс саркопении до $44,0 \pm 3,8$ ($p < 0,001$). Независимыми прогностическими биомаркерами в многофакторном логистическом регрессионном анализе выявлены низкий уровень альбумина, аполипротеина А, креатинина, повышенный уровень цистатина С в сыворотке крови и сниженный индекс саркопении. ROC-анализ показал высокую прогностическую способность индекса саркопении, содержания креатинина и

цистатина С в сыворотке крови с площадью под кривой 0,847; 0,821 и 0,809 соответственно. **Заключение:** Содержание креатинина, цистатина С, аполипротеина А, альбумина в сыворотке крови и индекс саркопении могут использоваться в качестве прогностических биомаркеров низкоэнергетических переломов бедра среди пациентов старшего возраста.

Ключевые слова: низкоэнергетические переломы; переломы бедра; индекс саркопении; люди старшего возраста; прогностические биомаркеры; биохимические параметры крови

Для цитирования: Агарков НМ, Ибиев АСО, Федосеев ИМ, и др. Прогностические биомаркеры низкоэнергетических переломов среди пациентов старшего возраста. Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(3):511-525. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-1-0

Prognostic biomarkers of low-energy fractures in older patients

Nikolay M. Agarkov^{1,2} , Aslanbek S.O. Ibiev³ , Ilya M. Fedoseev¹ ,
Arina A. Bakhareva¹ , Diana R. Shmarova¹ , Anastasia A. Shorokhova¹ ,
Andrey E. Kopylov² 

¹ Southwest State University,

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

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

1 Rasskazovskoe Hgw., Tambov, 392000, Russia

³ Lahta Clinic,

73/50 Savushkina St., Saint Petersburg, 197183, Russia

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

Abstract

Background: Low-energy fractures are common among elderly and senile patients, but the predictive ability of individual blood biomarkers in relation to these fractures remains poorly understood. **The aim of the study:** To identify prognostic biomarkers of low-energy fractures in older patients. **Materials and methods:** 112 patients 65 years of age and older with low-energy hip fractures and 109 patients 65 years of age and older with no fracture data were examined. Diagnosis of low-energy hip fractures was carried out according to medical history, complaints, objective clinical symptoms, and X-ray examination. Biochemical blood parameters were determined in the morning hours before meals by the content of glucose, hemoglobin, absolute number of lymphocytes, albumin, globulin, direct bilirubin, indirect bilirubin, creatinine, and cystatin C in the blood serum. Correlation, univariate, and multifactorial logistic regression analysis, and ROC analysis were used in statistical processing. **Results:** Among patients with low-energy hip fractures, the following biochemical parameters of the blood serum were statistically significant: albumin content up to 33.6 ± 2.4 g/l (below normal limits), apolipoprotein A content up to 0.9 ± 0.1 g/l, creatinine content up to 0.59 ± 0.2 mg/l and indirect bilirubin content up to 11.3 ± 1.2 mmol/l. However, in this group, compared with patients without low-energy hip fractures, the level of low-density lipoproteins (up to 2.76 ± 0.7 mmol/l), serum cystatin C (up to 1.34 ± 0.3 mg/l) and a reduced sarcopenia index to 44.0 ± 3.8 ($p < 0.001$) were significantly higher. Independent prognostic biomarkers in multifactorial logistic regression analysis revealed low levels of albumin, apolipoprotein A, creatinine, elevated serum cystatin C levels and a decreased sarcopenia index. The ROC analysis showed a high predictive ability

of the sarcopenia index, the content of creatinine and cystatin C in blood serum with an area under the curve of 0.847; 0.821 and 0.809, respectively. **Conclusion:** Serum creatinine, cystatin C, apolipoprotein A, albumin, and sarcopenia index can be used as predictive biomarkers of low-energy hip fractures among older patients.

Keywords: low-energy fractures; hip fractures; sarcopenia index; older people; prognostic biomarkers; biochemical parameters of blood

For citation: Agarkov NM, Ibiev ASO, Fedoseev IM, et al. Prognostic biomarkers of low-energy fractures in older patients. Research Results in Biomedicine. 2026;12(3):511-525. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-3-1-0

Введение. Низкоэнергетические переломы – это, в соответствии с определением Всемирной организации здравоохранения [1] переломы, возникающие при росте стоя или ниже, а также переломы, вызванные механическими силами, которые обычно не приводят к переломам. К низкоэнергетическим переломам относятся переломы в позвоночнике (позвонках), бедренной кости, лучевой кости, плечевой кости, тазовых костей, рёбер и других костей.

Низкоэнергетические переломы составляют более 90% всех переломов в старших возрастных группах и обычно следуют у них за падениями [2]. Среди низкоэнергетических переломов наиболее часто встречаются переломы бедра среди людей пожилого и старческого возраста [3]. Эти переломы представляют собой растущую проблему здравоохранения в развитых странах, поскольку их частота увеличивается с возрастом населения. Ожидается, что проблема будет усугубляться, поскольку число пожилых людей, доживающих до очень преклонного возраста, в ближайшие десятилетия будет расти. Следовательно, необходимы более эффективные стратегии, направленные на выявление пациентов высокого риска, к которым следует применять более интенсивные профилактические меры [3].

Среди различных факторов риска, способствующих низкоэнергетическим переломам бедра, называется ортостатическая нестабильность, характеризующаяся нарушениями равновесия и гипотонией, способной

привести к внезапной потере контроля над телом [4]. Показано, что ортостатическая гипотензия и повышенная частота сердечных сокращений могут прогнозировать низкоэнергетические переломы, а также имеющиеся данные свидетельствуют о значительной распространённости сердечно-сосудистых и цереброваскулярных сопутствующих заболеваний среди пациентов, получивших низкоэнергетические переломы. Кроме того, некоторые сердечно-сосудистые биомаркеры, такие как копептин, про-предсердный натрийуретический пептид и про-адреномедуллин ассоциированы с низкоэнергетическими переломами бедра.

Возникновение низкоэнергетических переломов бедра ассоциируется с гериатрическими синдромами – мальнутрицией, зрительным дефицитом и саркопенией, а также с такими биомаркерами как уровень фолиевой кислоты, дефицит витамина D [5]. Распространённым гериатрическим состоянием среди пациентов с низкоэнергетическими переломами бедра является саркопения [2, 6], которая встречается у 21-74% у мужчин и 12-68% у женщин, получивших низкоэнергетические переломы бедра [7].

Саркопения, как известно, является возрастным заболеванием, характеризующимся потерей массы и функции скелетных мышц, распространённость которого в общей популяции составляет от 5% до 10% [8]. Саркопения тесно связана с остеопорозом у пожилых людей, что в совокупности увеличивает риск развития падений и

низкоэнергетических переломов бедра [9]. Перелом бедра является серьезной проблемой общественного здравоохранения среди пожилых людей. Исследования показали, что до 83,6% пациентов с переломом бедра могут страдать саркопенией, в зависимости от используемых диагностических критериев [10]. Саркопения связана с плохими послеоперационными результатами, включая более высокие показатели остаточной боли и осложнений, более длительное пребывание в больнице, ухудшение функционального восстановления и повышенную смертность [11]. Например, у пациентов с переломом бедра и саркопенией 5-летняя смертность составляет 82,7%, по сравнению с 52,7% у пациентов без саркопии. Ранняя диагностика и вмешательство при саркопии имеют решающее значение, в то время как существующие диагностические тесты на саркопию, такие как тест ходьбы на 6 метров и тест вставания со стула 5 раз, неприменимы для пациентов с переломом бедра. Поэтому существует потребность в более простых, но эффективных методах скрининга для выявления саркопии у пациентов с переломом бедра.

В связи с ограниченной подвижностью у пациентов с переломом бедра и, как следствие, невозможностью проведения основных тестов, используемых для оценки заболевания, инструментальные методы являются важной частью диагностики, даже если они могут заменить клиническое обследование. Поэтому для выявления саркопии предлагается выявлять массу скелетных мышц с помощью магнитно-резонансной томографии, биоимпедансометрии или компьютерной томографии, но эти методы не всегда доступны для многих пациентов в силу различных причин.

В настоящее время в качестве простого и экономически эффективного суррогатного биомаркера мышечной силы и саркопии предложен индекс саркопии [12]. Однако прогностическая способность

индекса саркопии и некоторых других показателей крови в качестве биомаркеров низкоэнергетических переломов бедра остаётся противоречивой.

Цель исследования. Выявление прогностических биомаркеров низкоэнергетических переломов бедра среди пациентов старшего возраста.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено среди пациентов 65 лет и старше, получивших низкоэнергетические переломы бедра, и среди людей 65 лет и старше с отсутствием низкоэнергетических переломов бедра. Поэтому критериями включения служили возраст пациентов 65 лет и старше, низкоэнергетический перелом бедра, легкие когнитивные нарушения, амбулаторное и стационарное лечение, наличие письменного согласия на участие в исследовании.

Критериями невключения являлись возраст менее 65 лет, тяжелые когнитивные нарушения, синдром старческой астении, соматические заболевания в стадии декомпенсации, новообразования костей и суставов, острые инфекционные заболевания, перенесенный острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения в последние полгода.

Критериями исключения являлись переезд пациента в другую территорию, смерть пациента, развитие жизнеугрожающих осложнений, потеря связи с пациентами.

Диагностика низкоэнергетических переломов осуществлялась путем многопланового диагностического обследования пациентов с изучением анамнеза, клинических субъективных и объективных симптомов, выполнения рентгенографического исследования и в соответствии с Клиническими рекомендациями «Патологические переломы, осложняющие остеопороз» [13].

С учетом вышеназванных критериев включения и исключения сформированы две клинические группы: основная – пациенты с низкоэнергетическими

переломами бедра, контрольная – с отсутствием низкоэнергетических переломов бедра.

Сведения о медико-демографических характеристиках пациентов получены путем опроса пациентов и извлечения необходимой информации из официальной медицинской документации. Эти характеристики предусматривали регистрацию возраста, пола пострадавших, наличия падений в анамнезе, наличия других переломов в анамнезе, заболеваемости артериальной гипертензией, сахарным диабетом 2-го типа, ишемической болезнью сердца, болезнями почек, оценку индекса массы тела, индекса коморбидности.

Сравнение медико-демографических характеристик участников двух выделенных групп выявило, что пациенты, получившие низкоэнергетические

переломы бедра, отличались от участников контрольной группы по таким критериям как пол пациентов, наличие синдрома падений за последний год, наличие других переломов за последний год, наличие сопутствующей артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца. В частности, среди пациентов основной группы преобладали женщины, достоверно выше частота синдрома падений, других переломов за год, а также распространенность артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца. По другим анализированным медико-демографическим характеристикам статистически значимых различий не установлено, в том числе по распространенности сахарного диабета 2-го типа, заболеваний почек, индексам полипрагмазии и коморбидности (табл. 1).

Таблица 1

Основные медико-демографические характеристики участников исследования (±SD)

Table 1

The main medical and demographic characteristics of the study participants (±SD)

Характеристики пациентов	Лица с отсутствием низкоэнергетических переломов бедра, n=109	Пациенты с низкоэнергетическими переломами бедра, n=112	p
Возраст, лет	73,4±6,9	74,9±8,6	>0,05
Мужчины, абс.ч./%	64/58,7±7,1	42/37,5±3,2	<0,01
Женщины, абс.ч./%	45/41,3±3,6	70/62,5±5,9	<0,01
Наличие синдрома падений за последний год, абс.ч./%	22/20,2±3,0	38/33,9±4,2	<0,01
Наличие других переломов за последний год, абс.ч./%	18/16,5±2,7	32/28,6±2,2	<0,01
Индекс массы тела, кг/м ²	24,2±2,4	22,9±2,4	>0,05
Индекс коморбидности, абс.ч.	4,1±0,7	4,3±0,8	>0,05
Артериальная гипертензия, абс.ч./%	38/34,9±3,3	54/48,2±4,5	<0,01
Ишемическая болезнь сердца, абс.ч./%	20/18,3±2,6	42/37,5±3,2	<0,01
Сахарный диабет, абс.ч./%	14/12,8±2,5	22/19,6±2,0	>0,05
Заболевания почек, абс.ч./%	7/6,4±1,3	10/8,9±1,1	>0,05
Индекс полипрагмазии, абс.ч.	3,2±0,9	3,8±0,7	>0,05

Биохимические исследования предусматривали изучение в утренние часы до приема пищи содержания в сыворотке крови глюкозы, гемоглобина, абсолютного количества лимфоцитов, альбумина, глобулина, прямого билирубина, непрямого билирубина, креатинина, цистатина С. На основе содержания в

сыворотке крови креатинина и цистатина С производился расчет индекса саркопении по общепринятой методике как отношение сывороточного креатинина к цистатину С, умноженное на 100 [12]. Сывороточный креатинин определялся определялась методом Яффе (с пикриновой кислотой), цистатин С – иммуноферментным методом

с использованием тест-систем Human Cystatin C ELISA фирмы BioVendor фирмы BioPorto, а другие биохимические показатели – на автоматическом анализаторе «KoneLab».

Исследование выполнено с соблюдением этических норм и принципов Хельсинской декларации.

При анализе статистических данных использованы стандартный статистический пакет «Statistica 17.0», персональный компьютер, корреляционный, однофакторный и многофакторный логистический регрессионный анализ, ROC-анализ по общепринятым методикам.

Для обработки полученных результатов применялись непараметрические критерии Шапиро-Уилка и Манна-Уитни. При статистическом анализе данных выполнялось попарное сравнение исследованных биохимических и медико-демографических показателей по критерию Манна-Уитни. Различие считалось статистически значимым при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

Сравнительная оценка биохимических показателей в сформированных клинических группах выявила статистически значимые различия по большинству из них (табл. 2). При этом наиболее существенно пациенты различались по содержанию в сыворотке крови аполипротеина А, уровень которого в 1,50 раза ниже среди пациентов, получивших низкоэнергетические переломы бедра. Среди последних оказался статистически значимо ниже уровень альбумина в сыворотке крови ($p < 0,05$). Содержание креатинина, как и названных двух биохимических параметров, оказалось также ниже в группе пациентов, получивших низкоэнергетические переломы бедра. Однако уровень цистатина С в сыворотке крови пациентов с низкоэнергетическими переломами бедра превышал таковой пациентов группы сравнения.

Таблица 2

Биохимические параметры крови у пациентов с низкоэнергетическими переломами бедра (M±SD)

Table 2

Biochemical blood parameters in patients with low-energy hip fractures (M±SD)

Биохимический параметр	Пациенты с отсутствием низкоэнергетических переломов бедра	Пациенты с низкоэнергетическими переломами бедра	p
Альбумин, г/л	42,4±4,6	33,6±2,4	<0,05
Аполипротеин А, г/л	1,2±0,2	0,8±0,1	<0,001
ЛПНП, ммоль/л	2,31±0,4	2,76±0,7	<0,05
Гемоглобин, г/л	106,4±6,9	105,2±7,2	>0,05
Прямой билирубин, мкмоль/л	5,2±6,3	5,4±5,8	>0,05
Непрямой билирубин, мкмоль/л	14,8±1,6	11,3±1,2	<0,001
Креатинин, мг/л	0,78±0,4	0,59±0,2	<0,01
Цистатин С, мг/л	1,01±0,2	1,34±0,3	<0,01
Индекс саркопении, отн.ч.	77,2±5,1	44,0±3,8	<0,001

Среди пациентов, получивших низкоэнергетические переломы бедра, выявлен достоверно более высокий уровень ЛПНП, хотя это различие было менее существенным, чем для ранее рассмотренных биохимических показателей. Более высокий уровень

цистатина С и сниженный уровень креатинина в сыворотке крови у пациентов с низкоэнергетическими переломами бедра повлиял на то, что у них индекс саркопении оказался в 1,75 раза ниже достоверно, чем у людей, не имевших низкоэнергетические переломы бедра.

Определение прогностической способности изученных биохимических показателей крови посредством однофакторного и многофакторного

логистического регрессионного анализа с расчетом величин отношения шансов (ОШ) и 95% доверительных интервалов (ДИ) представлено в таблице 3.

Таблица 3

Прогностическая способность биохимических показателей крови в получении низкоэнергетических переломов

Table 3

Predictive ability of blood biochemical parameters in obtaining low-energy fractures

Биохимический показатель	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
	ОШ	95% ДИ	p	ОШ	95% ДИ	p
Альбумин	1,784	1,511-2,109	0,008	1,725	1,643-2,017	0,003
Аполипротеин А	1,668	1,364-1,978	0,007	1,677	1,425-1,914	0,005
ЛПНП	0,875	0,709-0,963	0,104			
Гемоглобин	0,364	0,028-0,541	0,915			
Прямой билирубин	0,219	0,005-0,367	0,868			
Непрямой билирубин	0,741	0,516-0,908	0,217			
Креатинин	1,865	1,624-2,132	0,012	1,861	1,715-2,229	0,011
Цистатин С	1,904	1,786-2,243	0,004	1,889	1,734-2,198	0,002
Индекс саркопении	2,239	2,118-2,645	0,003	2,233	2,137-2,518	0,002

Рассчитанные величины отношения шансов в однофакторном логистическом регрессионном анализе показывают, что возникновению низкоэнергетических переломов бедра в наибольшей степени способствует индекс саркопении, повышающий их риск в 2,24 раза. Высокий риск получения низкоэнергетических переломов бедра также ассоциирован с составляющими индекса саркопении – с содержанием в сыворотке крови креатинина и цистатина С. Возникновение низкоэнергетических переломов ассоциировано в значительной степени со сниженным уровнем альбумина и аполипротеина А в сыворотке крови с достоверными доверительными интервалами. Другие изученные биохимические показатели крови (содержание ЛПНП, прямого билирубина, уровень гемоглобина) не оказывали статистически значимого влияния на возникновение низкоэнергетических переломов у людей старшего возраста.

В многомерном логистическом регрессионном анализе биохимические показатели, оказывающие достоверное влияние на риск получения низкоэнергетического перелома бедра,

согласно однофакторной логистической регрессии, сохранили свою значимость в повышении риска получения низкоэнергетических переломов. При этом величина отношения шансов аполипротеина А незначительно возросла. Однако величины отношения шансов всех других биохимических показателей – альбумина, креатинина, цистатина С и индекса саркопении несущественно уменьшились, сохранив достоверное влияние с 95% доверительными интервалами.

Корреляционный анализ выявил высокую обратную корреляционную связь между содержанием креатинина и цистатина С в сыворотке крови (рис. 1), что свидетельствует о разнонаправленном их влиянии на возникновение низкоэнергетических переломов бедра. Риск возникновения последних увеличивается при снижении креатинина в сыворотке крови и, наоборот, при повышении цистатина С в сыворотке крови.

Высокая прогностическая способность индекса саркопении, содержания креатинина и цистатина С в сыворотке крови подтверждена ROC-анализом (рис. 2).

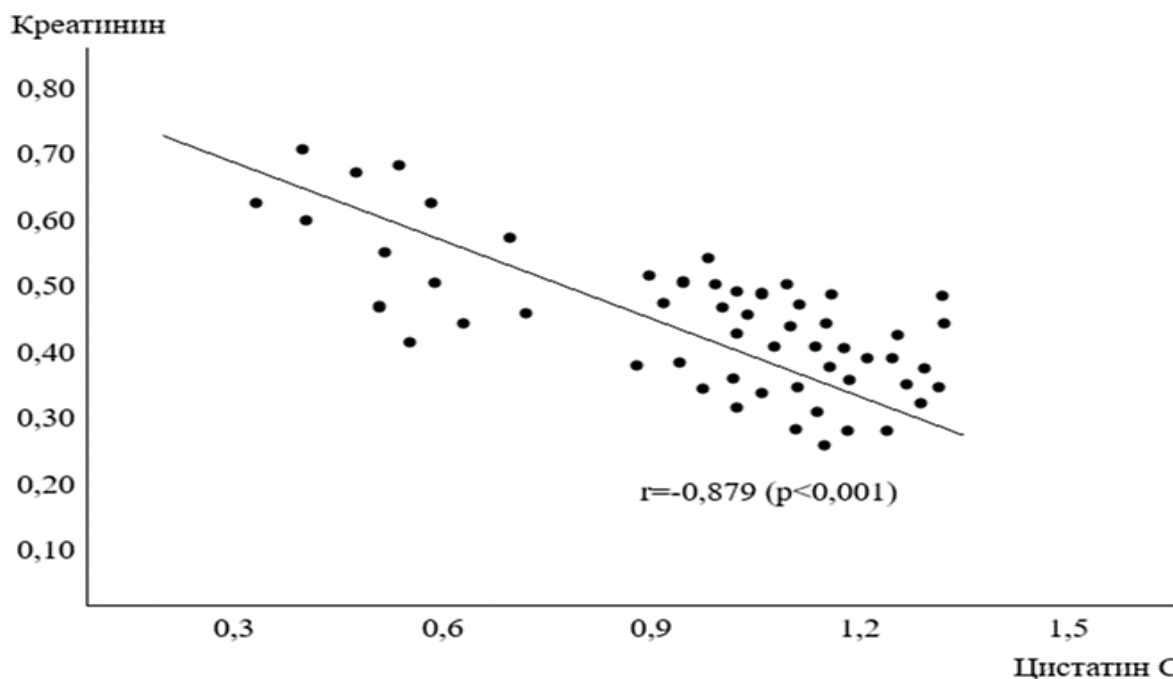


Рис. 1. Корреляционная связь между содержанием креатинина и цистатина С в сыворотке крови у пациентов с низкоэнергетическими переломами

Fig. 1. Correlation between serum creatinine and cystatin C in patients with low-energy fractures

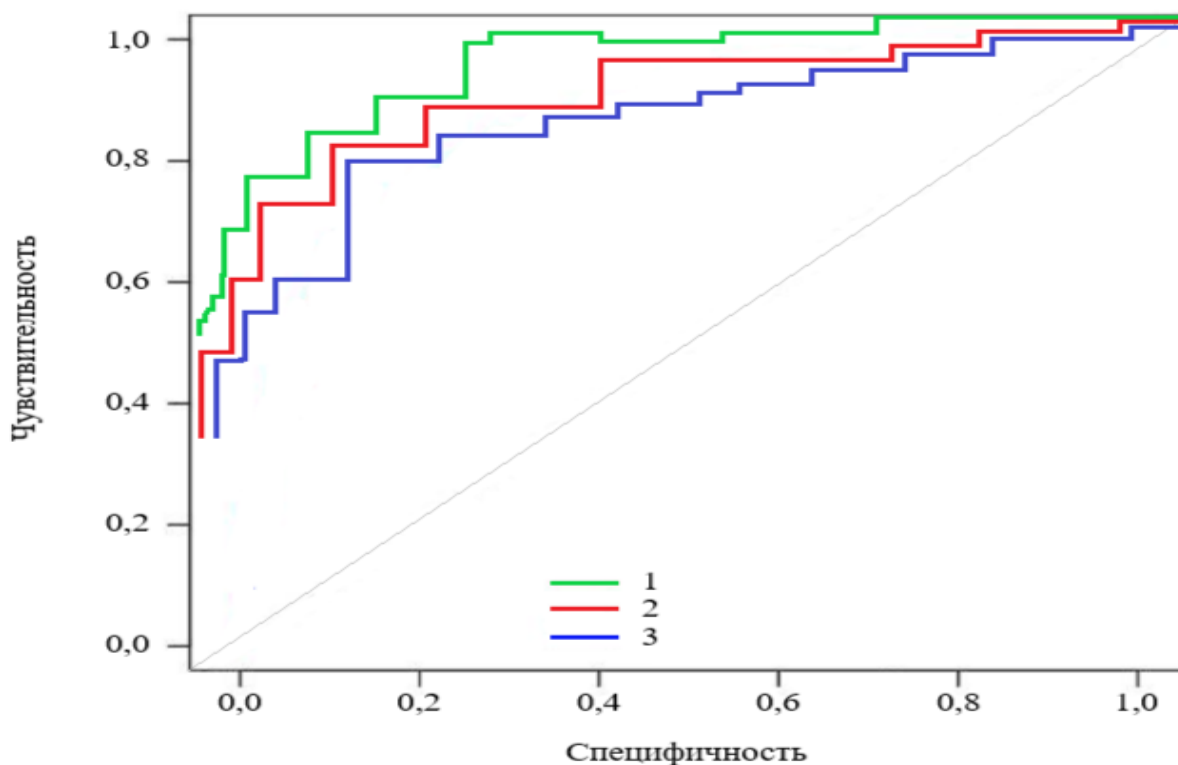


Рис. 2. Площадь под кривой для прогнозирования низкоэнергетических переломов по индексу саркопении (1), содержанию креатинина (2) и цистатина С (3) в сыворотке крови

Fig. 2. The area under the curve for predicting low-energy fractures based on the sarcopenia index (1), creatinine (2) and cystatin C (3) levels in blood serum

Значения площади под кривой составили для индекса саркопении 0,847, для содержания креатинина в сыворотке крови – 0,821 и содержания цистатина С в сыворотке крови – 0,809. Такие величины площади под кривой свидетельствуют о высокой прогностической способности содержания креатинина, цистатина С в сыворотке крови, индекса саркопении в получении низкоэнергетических переломов бедра. Прогностическая способность уровня альбумина и аполипротеина А в сыворотке крови по показателю площади под кривой незначительно ниже и составляет соответственно 0,764 и 0,705, что указывает на умеренную их прогностическую способность в отношении получения низкоэнергетических переломов бедра.

Ранее показано, что индекс саркопении может прогнозировать предоперационные и функциональные результаты в послеоперационном периоде у пациентов с сердечной недостаточностью и перенесшими хирургическое лечение переломов бедра [14], аналогичными по возрасту нашей клинической группы. У пациентов с сердечной недостаточностью индекс саркопении коррелировал с предоперационной способностью к ходьбе и мог прогнозировать послеоперационную способность к ходьбе. Так, индекс саркопении в предоперационном периоде в группе пациентов, самостоятельно передвигающихся, и в группе пациентов, передвигающихся с помощью вспомогательных средств (трость, поручни, ходунки) значительно различался ($70,2 \pm 12,4$ и $60,1 \pm 9,8$ соответственно, $p < 0,000001$). Через 2 недели после операции индекс саркопении был значительно выше в группе самостоятельного передвижения ($73,0 \pm 14,9$), чем в группе с помощью вспомогательных средств ($64,0 \pm 10,7$) ($p = 0,0003$). В предоперационном периоде самостоятельно передвигались 28 человек и могли ходить самостоятельно после операции, в то время как 49 нуждались в помощи ($p = 0,01$). У пациентов с переломом

шейки бедренной кости индекс саркопении был значительно выше в группе пациентов, самостоятельно передвигавшихся после операции ($78,6 \pm 15,7$), чем в группе пациентов, получавших послеоперационную помощь ($63,2 \pm 10,9$, $p = 0,002$). Логистический регрессионный анализ показал, что отношение шансов для послеоперационной способности к ходьбе составило 0,95 (0,91–0,99, $p = 0,03$). Корреляции индекса саркопении со значениями компьютерной томографии и площадями поперечного сечения были следующими: подвздошно-поясничная мышца в области верхушки головки бедренной кости ($r = 0,40$, $p < 0,001$ и $r = 0,49$, $p < 0,001$ соответственно); прямая мышца бедра ($r = 0,26$, $p = 0,007$ и $r = 0,37$, $p < 0,001$ соответственно) [14].

Индекс саркопении был независимо связан с массой скелетных мышц, силой и обычной скоростью походки у пациентов с хронической болезнью почек, не находящихся на диализе. Коэффициенты корреляции с показателями мышечной массы и дискриминационная способность индекса саркопении в отношении саркопении были аналогичны изменения 24-часового уровня креатинина в моче.

Оценка экскреции креатинина с мочой остается наиболее надежным маркером для прогнозирования массы скелетных мышц. У пациентов с хронической болезнью почек низкая экскреция креатинина с мочой связана со снижением массы скелетных мышц и повышенным риском смертности. Показана умеренная корреляция экскреции креатинина с мочой с массой и силой скелетных мышц у пациентов с хронической болезнью почек [15].

Продемонстрировано также, что индекс саркопении независимо предсказывает массу скелетных мышц, мышечную силу и физическую работоспособность на поздней стадии хронической болезни почек, даже после тщательной корректировки потенциальных факторов, влияющих на результат. Пороговые значения для индекса

саркопении показали высокую прогностическую ценность, что предполагает его потенциальное использование для скрининга саркопении у пациентов с поздней стадией хронической болезни почек. Кроме того, установлена тесная связь между низким индексом саркопении и смертностью от всех причин – у пациентов в группе с низким индексом саркопении риск смертности был в три раза выше после полной корректировки факторов риска по сравнению с пациентами в группе с нормальным индексом саркопении [15].

Саркопения увеличивает общий риск переломов бедра, но в некоторых исследованиях эта связь не была подтверждена. Учитывая противоречивые результаты текущих исследований, существует острая необходимость изучения того, что увеличивает ли саркопения риск будущих переломов бедра. Недавний метаанализ также показал, что саркопения увеличивает риск падений и низкоэнергетических переломов бедра. Взаимосвязь между саркопенией и риском перелома бедра может быть объяснена несколькими способами. Во-первых, саркопения может приводить к таким переломам, увеличивая риск падений. В частности, люди с низкой мышечной массой, как правило, имеют низкую мышечную массу и физическую силу, что, в свою очередь, увеличивает риск падений. Склонность к падениям у лиц с саркопенией может привести к переломам вследствие хрупкости костей. Во-вторых, снижение минеральной плотности костной ткани является общепризнанным предиктором переломов и является целью вмешательств, направленных на снижение риска остеопоротических переломов. Обнаружено, что некоторые пациенты страдают как саркопенией, так и остеопорозом и несколько исследований показали, что пациенты с диагнозом остеопороз и саркопения, так называемый «саркоостеопороз», имеют более высокий риск падений и низкоэнергетических переломов [16].

Саркопения чаще связана с риском переломов бедра у женщин, но эта связь не была менее значимой у мужчин при проведении анализа подгрупп по полу, поскольку пожилые женщины более подвержены саркопении из-за менопаузальной функции яичников и низкого уровня 17β -эстрадиола, ускоряющего возрастное ухудшение состояния мышц. Кроме того, пожилые женщины в постменопаузальном периоде быстро теряют костную массу из-за снижения уровня эстрогена и могут быть более уязвимы к низкоэнергетическим переломам [16].

Индекс саркопении может выступать прогностическим маркером риска послеоперационных осложнений при хирургическом лечении низкоэнергетических переломов бедра у пожилых людей [3]. Среди наблюдаемых осложнений наблюдались пневмония, инфекции мочевыводящих путей, дыхательная недостаточность, сердечная недостаточность, которые встречались у 12%, 1,8%, 1,5%, 1,6% пациентов в целом. В группе эндопротезирования суставов частота пневмонии была значительно связана с индексом саркопении. Однако не было существенных различий в частоте инфекций мочевыводящих путей, дыхательной недостаточности, сердечной недостаточности между группами с низким и высоким индексом саркопении ни в общей группе пациентов, ни в группах внутренней фиксации или эндопротезирования суставов. Не было выявлено существенных различий в корреляциях между индексом саркопении и риском инфекций мочевыводящих путей, дыхательной недостаточности, сердечной недостаточности у пациентов, перенесших внутреннюю фиксацию или эндопротезирование сустава.

Индекс саркопении у пациентов с низкоэнергетическими переломами бедра связан с общей смертностью [17] как в одномерном, так и в многомерном регрессионном анализе Кокса. Одномерный регрессионный анализ Кокса показал, что

возраст, С-реактивный белок, альбумин, расчетная скорость клубочковой фильтрации и индекс саркопении значимо связаны со смертностью и значимые переменные в одномерном анализе Кокса ($p < 0,05$) были включены в многомерный регрессионный анализ Кокса. Однако в многомерной модели только возраст ($OR=1,07$; 95% ДИ=1,04–1,10, $P < 0,001$) и индекс саркопении ($OR=0,98$, 95% ДИ=0,95–0,99, $P=0,018$) являлись независимыми факторами смертности от всех причин у пациентов с низкоэнергетическим переломом бедра. Результаты регрессионных моделей выявили значимую связь между индексом саркопении и повторными переломами бедра как в нескорректированной ($OR=0,96$, 95% ДИ=0,95–0,98, $P < 0,001$), так и в скорректированной с учетом демографических данных ($OR=0,97$, 95% ДИ=0,95–0,99, $P=0,004$), а также в полностью скорректированной моделях ($OR=0,97$, 95% ДИ=0,94–0,99, $P=0,018$). Обнаружена почти линейная зависимость между индексом саркопении и общим риском смерти, и общий риск смерти снижался с увеличением индекса саркопении.

У пациентов с низкоэнергетическими переломами бедра обнаружено, что плотность мышц по данным компьютерной томографии связана со смертностью. Однако некоторые исследования также показывают, что плотность и площадь мышц не имеют отношения к смертности в течение года, хотя большинство предыдущих исследований оценивали саркопению на основе потери мышечной массы и количества (площадь поперечного сечения) по данным компьютерной томографии, индекс саркопении являлся самым простым и наименее инвазивным методом оценки функции мышц, поскольку анализ крови перед операцией является обязательным.

Примечательно, что индекс саркопении обладает рядом клинических преимуществ, так как это экономически

эффективный и легкодоступный биомаркер, поскольку как креатинин, так и цистатин С обычно измеряются в клинической практике и это делает индекс саркопении особенно ценным в условиях ограниченных ресурсов, где недоступны передовые методы визуализации, например, компьютерная томография или биоимпедансометрия.

Более того, сообщается, что скорость клубочковой фильтрации, рассчитанная по уровню креатинина в сыворотке крови, выше у пациентов с сердечной недостаточностью и сниженной массой скелетных мышц [14]. Учитывая высокую распространённость саркопении у пациентов с сердечной недостаточностью, указывается на необходимость определения концентрации цистатина С в сыворотке крови у пациентов с сердечной недостаточностью при подготовке к операции по поводу низкоэнергетических переломов бедра. Нами же установлена важность оценки содержания уровня цистатина С и креатинина в сыворотке крови для прогнозирования низкоэнергетических переломов, что позволит выделить пациентов с содержанием цистатина С 1,34 мг/л и выше и креатинина 0,59 мг/л и менее в группу повышенного риска с реализацией в ней целевых профилактических мероприятий.

Наряду с этим нами предлагается использование также индекса саркопении для прогнозирования низкоэнергетических переломов бедра. Прогностическая способность индекса саркопении, равно как и указанных ранее содержания креатинина и цистатина С в сыворотке крови подтверждена в многофакторном логистическом регрессионном анализе и ROC-анализе, для которых площадь под кривой была высокой – от 0,809 до 0,847. Тем более, что индекс саркопении значительно коррелирует с изменениями мышечной массы, полученными с помощью компьютерной томографии. Например, исследование с участием пациентов на трансплантацию лёгких

выявило значительную корреляцию между индексом саркопении и площадью поперечного сечения скелетных мышц на определенных уровнях позвонков (L2 и L3), что указывает на его эффективность в качестве метода измерения мышечной массы [18].

Несколько других исследований [19, 20] подтвердили, что индекс саркопении коррелирует с массой скелетных мышц, измеренной посредством двухэнергетической рентгенологической абсорбциометрии и может прогнозировать саркопению у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и служить потенциально ценным биомаркером для прогнозирования неблагоприятных исходов, побочных эффектов лечения и переломов. Поэтому мы считаем, что индекс саркопении является надежным биомаркером для прогнозирования низкоэнергетических переломов бедра, наряду с другими биохимическими маркерами крови, такими как сниженное содержание альбумина, аполипротеина А.

Гипоальбуминемия связана с ограниченной функциональностью пациентов до операции по поводу низкоэнергетических переломов бедра и прогнозирует плохие функциональные исходы, но концентрация альбумина в пределах нормы положительно коррелирует с предоперационной и послеоперационной способностью к ходьбе после хирургического лечения низкоэнергетических переломов бедра [14]. Содержание альбумина в сыворотке крови у зависимых пациентов, прошедших хирургическое лечение низкоэнергетических переломов бедра, составляло $3,4 \pm 0,5$ г/дл, что достоверно ($p=0,0006$) ниже, чем у независимых к передвижению пациентов с аналогичными переломами. Однако по содержанию лимфоцитов в крови между сравниваемыми двумя группами пациентов с хирургическим лечением низкоэнергетических переломов бедра достоверных различий не выявлено, хотя содержание лимфоцитов и альбуминов в

крови позволяет оценить уровень питания пациентов, выявить мальнутрицию, способствующую саркопении.

Заключение. Среди изученных биохимических показателей крови прогностически значимыми в отношении получения низкоэнергетических переломов бедра, в соответствии с результатами многофакторной логистической регрессии являются сниженные уровни альбумина до 33,6 г/л и менее, аполипротеина А до 0,8 г/л и менее, креатинина до 0,59 мг/л и менее в плазме крови, повышенное содержание цистатина С в сыворотке крови и низкий индекс саркопении. При этом содержание креатинина, цистатина С в сыворотке крови и индекс саркопении обладают высокой прогностической способностью, а уровни альбумина и аполипротеина А – умеренной прогностической ценностью. Поэтому содержание креатинина, цистатина С, альбумина, аполипротеина А в сыворотке крови и индекс саркопении могут использоваться как прогностические биомаркеры низкоэнергетических переломов среди пациентов старшего возраста.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Härstedt M, Holmberg A, Rogmark C, et al. Cardiovascular biomarkers and risk of low-energy fractures among middle-aged men and women-A population-based study. PLoS ONE. 2018;13(9):e0203692. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203692>
2. Sheng R, Song M, Xie T, et al. Sarcopenia index is a superior prognostic marker to creatinine-

- cystatin C ratio in older adults with hip fracture. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;21(1):30. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-06540-2>
3. Chen X, Shen Y, Hou L, et al. Sarcopenia index based on serum creatinine and cystatin C predicts the risk of postoperative complications following hip fracture surgery in older adults. *BMC Geriatrics*. 2021;21(1):541. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12877-021-02522-1>
4. Papakostidis KC, Giannoudis PV. Evolution of treatment of fragility fractures of the pelvic ring. An update. *Injury*. 2025;56(2):112145. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.injury.2025.112145>
5. Capdevila-Reniu A, Navarro-López M, Sapena V, et al. Predictive factors of osteoporotic hip fracture in octogenarians. *Revista Clinica Espanola*. 2024;224(2):77-85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rceng.2024.01.001>
6. Mahran DG, Khalifa AA, Abdelhafeez AH, et al. Sarcopenia and its associated factors among hip fracture patients admitted to a North African (Egyptian) Level one trauma center, a cross-sectional study. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;20(1):459. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05841-w>
7. Sánchez-Castellano C, Martín-Aragón S, Bermejo-Bescós P, et al. Biomarkers of sarcopenia in very old patients with hip fracture. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2020;11(2):478-486. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12508>
8. Sayer AA, Cooper R, Arai H, et al. Sarcopenia. *Nature Reviews Disease Primers*. 2024;10(1):68. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-024-00550-w>
9. Gao J, Li Y. Relationship between muscle size and density and proximal femoral bone mineral density in elderly men with hip fractures across different age groups. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;20(1):162. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05570-0>
10. Wong RMY, Wong PY, Chau WW, et al. Very high prevalence of osteosarcopenia in hip fracture patients: risk and protective factors. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;20(1):423. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05828-7>
11. Miao D, Fan M, Zhang W, et al. The risk factors for low back pain following oblique lateral interbody fusion: focus on sarcopenia. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;20(1):171. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05584-8>
12. Lin YL, Chen SY, Lai YH, et al. Serum creatinine to cystatin C ratio predicts skeletal muscle mass and strength in patients with non-dialysis chronic kidney disease. *Clinical Nutrition*. 2020;39(8):2435-2441. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.10.027>
13. Клинические рекомендации «Патологические переломы, осложняющие остеопороз». М.: Российская ассоциация эндокринологов; 2025.
14. Okubo N, Yoshida T, Tanaka K, et al. Serum creatinine to cystatin C ratio reflects preoperative and early postoperative walking ability in older patients with hip fracture. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2022;13(2):945-954. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12940>
15. Lin YL, Wang CH, Chang IC, et al. A Novel Application of Serum Creatinine and Cystatin C to Predict Sarcopenia in Advanced CKD. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:828880. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.828880>
16. Huang P, Luo K, Xu J, et al. Sarcopenia as a Risk Factor for Future Hip Fracture: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2021;25(2):183-188. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1474-5>
17. Yu L, Liu F, Zhang Q, et al. Association between sarcopenia index and the risk of second hip fracture in older adults. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2025;29(6):100532. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnha.2025.100532>
18. Tang T, Xie L, Hu S, et al. Serum creatinine and cystatin C-based diagnostic indices for sarcopenia in advanced non-small cell lung cancer. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2022;13(3):1800-1810. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12977>
19. Kashani K, Sarvottam K, Pereira NL, et al. The sarcopenia index: A novel measure of muscle mass in lung transplant candidates. *Clinical Transplantation*. 2018;32(3):e13182. DOI: <https://doi.org/10.1111/ctr.13182>
20. He Q, Jiang J, Xie L, et al. A sarcopenia index based on serum creatinine and cystatin C cannot accurately detect either low muscle mass or sarcopenia in urban community-dwelling older people. *Scientific Reports*. 2018;8(1):11534. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29808-6>

References

1. Härstedt M, Holmberg A, Rogmark C, et al. Cardiovascular biomarkers and risk of low-energy fractures among middle-aged men and

- women-A population-based study. *PLoS ONE*. 2018;13(9):e0203692. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203692>
2. Sheng R, Song M, Xie T, et al. Sarcopenia index is a superior prognostic marker to creatinine-cystatin C ratio in older adults with hip fracture. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;21(1):30. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-06540-2>
3. Chen X, Shen Y, Hou L, et al. Sarcopenia index based on serum creatinine and cystatin C predicts the risk of postoperative complications following hip fracture surgery in older adults. *BMC Geriatrics*. 2021;21(1):541. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12877-021-02522-1>
4. Papakostidis KC, Giannoudis PV. Evolution of treatment of fragility fractures of the pelvic ring. An update. *Injury*. 2025;56(2):112145. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.injury.2025.112145>
5. Capdevila-Reniu A, Navarro-López M, Sapena V, et al. Predictive factors of osteoporotic hip fracture in octogenarians. *Revista Clinica Espanola*. 2024;224(2):77-85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rceng.2024.01.001>
6. Mahran DG, Khalifa AA, Abdelhafeez AH, et al. Sarcopenia and its associated factors among hip fracture patients admitted to a North African (Egyptian) Level one trauma center, a cross-sectional study. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;20(1):459. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05841-w>
7. Sánchez-Castellano C, Martín-Aragón S, Bermejo-Bescós P, et al. Biomarkers of sarcopenia in very old patients with hip fracture. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2020;11(2):478-486. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12508>
8. Sayer AA, Cooper R, Arai H, et al. Sarcopenia. *Nature Reviews Disease Primers*. 2024;10(1):68. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-024-00550-w>
9. Gao J, Li Y. Relationship between muscle size and density and proximal femoral bone mineral density in elderly men with hip fractures across different age groups. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;20(1):162. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05570-0>
10. Wong RMY, Wong PY, Chau WW, et al. Very high prevalence of osteosarcopenia in hip fracture patients: risk and protective factors. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;20(1):423. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05828-7>
11. Miao D, Fan M, Zhang W, et al. The risk factors for low back pain following oblique lateral interbody fusion: focus on sarcopenia. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;20(1):171. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05584-8>
12. Lin YL, Chen SY, Lai YH, et al. Serum creatinine to cystatin C ratio predicts skeletal muscle mass and strength in patients with non-dialysis chronic kidney disease. *Clinical Nutrition*. 2020;39(8):2435-2441. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.10.027>
13. Clinical recommendations «Pathological fractures complicating osteoporosis». Moscow: Russian Association of Endocrinologists; 2025. Russian.
14. Okubo N, Yoshida T, Tanaka K, et al. Serum creatinine to cystatin C ratio reflects preoperative and early postoperative walking ability in older patients with hip fracture. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2022;13(2):945-954. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12940>
15. Lin YL, Wang CH, Chang IC, et al. A Novel Application of Serum Creatinine and Cystatin C to Predict Sarcopenia in Advanced CKD. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:828880. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.828880>
16. Huang P, Luo K, Xu J, et al. Sarcopenia as a Risk Factor for Future Hip Fracture: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2021;25(2):183-188. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1474-5>
17. Yu L, Liu F, Zhang Q, et al. Association between sarcopenia index and the risk of second hip fracture in older adults. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2025;29(6):100532. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnha.2025.100532>
18. Tang T, Xie L, Hu S, et al. Serum creatinine and cystatin C-based diagnostic indices for sarcopenia in advanced non-small cell lung cancer. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2022;13(3):1800-1810. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12977>
19. Kashani K, Sarvottam K, Pereira NL, et al. The sarcopenia index: A novel measure of muscle mass in lung transplant candidates. *Clinical Transplantation*. 2018;32(3):e13182. DOI: <https://doi.org/10.1111/ctr.13182>
20. He Q, Jiang J, Xie L, et al. A sarcopenia index based on serum creatinine and cystatin C cannot accurately detect either low muscle mass or sarcopenia in urban community-dwelling older people. *Scientific Reports*. 2018;8(1):11534. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29808-6>

Статья поступила в редакцию 3 февраля 2026 г.
Поступила после доработки 25 апреля 2026 г.
Принята к печати 5 мая 2026 г.

Received 3 February 2026

Revised 25 April 2026

Accepted 5 May 2026

Информация об авторах

Николай Михайлович Агарков, доктор медицинских наук, профессор кафедры биомедицинской инженерии ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет», г. Курск; научный сотрудник, Тамбовский филиал ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», г. Тамбов, Российская Федерация, E-mail: vitalaxen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4821-3692>.

Асланбек Сабирович Оглы Ибиев, врач травматолог-ортопед, врач УЗИ ООО «Лахта Клиника», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: info@lahtaclinic.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6625-4394>.

Илья Максимович Федосеев, студент ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: ilya_fedoseev_2020@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4322-5408>.

Арина Александровна Бахарева, студент ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: evgeniaforfec@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2305-4226>.

Диана Руслановна Шмарова, студент ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: shmarova.diana@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9037-7247>.

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>.

Андрей Евгеньевич Копылов, кандидат медицинских наук, заведующий отделением

лазерного центра, Тамбовский филиал ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», г. Тамбов, Российская Федерация, E-mail: kopylovx@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3536-1645>.

Information about the authors

Nikolay M. Agarkov, Doc. Sci. (Medicine), Professor at the Department of Biomedical Engineering, Southwest State University, Kursk; Researcher, Academician S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution (Tambov Branch), Tambov, Russia, E-mail: vitalaxen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4821-3692>.

Aslanbek S.O. Ibiev, Traumatologist-orthopedist, Ultrasound Doctor, Lahta Clinic, Saint Petersburg, Russia, E-mail: info@lahtaclinic.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6625-4394>.

Ilya M. Fedoseev, Student, Southwest State University, Kursk, Russia, E-mail: ilya_fedoseev_2020@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4322-5408>.

Arina A. Bakhareva, Student, Southwest State University, Kursk, Russia, E-mail: evgeniaforfec@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2305-4226>.

Diana R. Shmarova, Student, Southwest State University, Kursk, Russia, E-mail: shmarova.diana@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9037-7247>.

Anastasia A. Shorokhova, Student, Southwest State University, Kursk, Russia, E-mail: shorohova20015@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2390-1739>.

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