



Кв. Павлов

PAVLOV UNIVERSITY

THE SCIENTIFIC NOTES

of Pavlov University

Uchyonye zapiski Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo
meditsinskogo universiteta im. akad. I. P. Pavlova

Editor-in-chief
Sergei F. BAGNENKO

Vol. XXIX · № 1 · 2022

SAINT PETERSBURG
2022

ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени академика И. П. ПАВЛОВА

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

Санкт-Петербургского государственного
медицинского университета им. акад. И. П. Павлова

Главный редактор
С. Ф. БАГНЕНКО

Том XXIX · № 1 · 2022

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
2022

РЕДКОЛЛЕГИЯ

Главный редактор – *Багненко Сергей Фёдорович*, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, ректор ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Заместители главного редактора –

Звартау Эдвин Эдуардович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии, директор института фармакологии им. А. В. Вальдмана, советник при ректорате, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Полушин Юрий Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, проректор по научной работе, руководитель центра анестезиологии-реанимации, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Ответственный секретарь – *Хрусталева Максим Борисович*, кандидат медицинских наук, начальник организационно-методического отдела Управления научных исследований, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Аль-Шукри Сальман Хасунович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой урологии с курсом урологии с клиникой, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Баранова Елена Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой, директор НИИ сердечно-сосудистых заболеваний научно-клинического исследовательского центра, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Баранцевич Евгений Робертович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии и мануальной медицины ФПО, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Беженарь Виталий Федорович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства, гинекологии и неонатологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Витрищак Алина Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФПО, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Вишняков Николай Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой общественного здоровья и здравоохранения с курсом экономики и управления здравоохранением, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Власов Тимур Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, декан лечебного факультета, заведующий кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, директор научно-образовательного института биомедицины, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Дулаев Александр Кайсинович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела травматологии, ортопедии и вертебрологии Государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Захаренко Александр Анатольевич – доктор медицинских наук, заместитель главного врача по онкологии, руководитель отдела абдоминальной онкологии НИИ хирургии и неотложной медицины, профессор кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Илькович Михаил Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, директор научно-исследовательского института интерстициальных и орфанных заболеваний легких научно-клинического исследовательского центра, заведующий кафедрой пульмонологии факультета последипломного образования, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Исаева Елена Рудольфовна – доктор психологических наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической психологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Карпищенко Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой оториноларингологии с клиникой, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Клюковкин Константин Сергеевич – доктор медицинских наук, проректор по послевузовскому образованию, профессор кафедры общественного здоровья и здравоохранения с курсом экономики и управления здравоохранением, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Корольков Андрей Юрьевич – доктор медицинских наук, доцент, руководитель отдела неотложной хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Люзнов Дмитрий Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Мельникова Елена Валентиновна – доктор медицинских наук, заместитель главного врача СПбГБУЗ «Городская больница № 26», руководитель Регионального сосудистого центра, главный внештатный специалист по медицинской реабилитации МЗ РФ в СЗФО, Санкт-Петербург, Россия

Незnanов Николай Григорьевич – доктор медицинских наук, профессор, директор СПбНИПНИ им. В. М. Бехтерева, заведующий кафедрой психиатрии и наркологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Петрищев Николай Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент МАН ВШ, руководитель Центра лазерной медицины, профессор кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Потапчук Алла Аскольдовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской реабилитации и адаптивной физической культуры, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Пчелина Софья Николаевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории молекулярной генетики человека Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова», заведующий лабораторией медицинской генетики отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий научно-исследовательского центра, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резник Олег Николаевич – доктор медицинских наук, руководитель отдела трансплантологии и органного донорства научно-исследовательского института хирургии и неотложной медицины, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Рыбакова Маргарита Григорьевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии с патологоанатомическим отделением, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Семёнов Дмитрий Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии общей с клиникой, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Смирнов Алексей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней с клиникой, директор НИИ нефрологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Тец Виктор Вениаминович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Томсон Владимир Викторович – доктор медицинских наук, профессор, директор научно-исследовательского центра, профессор кафедры патологической анатомии с патологоанатомическим отделением, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Толоян Арег Артемович – доктор медицинских наук, академик РАН, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, заведующий кафедрой иммунологии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Трофимов Василий Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапии госпитальной с курсом аллергологии и иммунологии им. академика Черноруцкого с клиникой, директор научно-исследовательского института ревматологии и аллергологии научно-клинического исследовательского центра, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Черембилло Владислав Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нейрохирургии, заслуженный врач России, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Шляхто Евгений Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

Яременко Андрей Ильич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Yekaterina Zueva – M. D., Ph. D., D. Sci (Med.), Senior Researcher, Ariel University, Israel

Dr. Igor Jouline – Joint Faculty Professor, Department of Microbiology; Distinguished Scientist, Oak Ridge National Laboratory, University of Tennessee

Э. К. Айламазян – акад. РАН (Санкт-Петербург)

В. Л. Быков – д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург)

А. А. Воробьев – акад. РАН (Москва)

Г. И. Воробьев – акад. РАН (Москва)

А. М. Дыгай – д-р мед. наук, проф. (Томск)

Н. В. Корнилов – чл.-корр. РАН (Санкт-Петербург)

М. Т. Луценко – д-р мед. наук, проф. (Благовещенск)

Л. В. Поташов – чл.-корр. РАН (Санкт-Петербург)

М. Р. Сапин – акад. РАН (Москва)

С. Б. Середенин – акад. РАН (Москва)

А. А. Скоромец – акад. РАН (Санкт-Петербург)

М. М. Соловьев – д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург)

А. С. Тиганов – акад. РАН (Москва)

И. С. Фрейдлин – чл.-корр. РАН (Санкт-Петербург)

Н. А. Яицкий – акад. РАН (Санкт-Петербург)

Г. Г. Лежава – д-р мед. наук, проф. (Тбилиси)

Jan M. van Ree (Нидерланды)

F. De Rosa (Италия)

George E. Woody (США)

James A. Hoxie (США)

Ian Frank (США)

A. Zander (Германия)

Решением Высшей Аттестационной Комиссии (ВАК) Министерства образования и науки РФ журнал «Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова» включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендована публикация основных результатов диссертационных исследований на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

EDITORIAL BOARD

Editor-in-chief –

S. F. Bagnenko, Dr. Sci. (Med.), prof.
Academician, Russian Academy of Sciences

Deputy Editor –

E. E. Zvartau, Dr. Sci. (Med.), prof.

Deputy Editor –

Yu. S. Polushin, Dr. Sci. (Med.), prof.,
Academician, Russian Academy of Sciences

Assistant Editor –

M. B. Khrustalev, Cand. Sci. (Med.)

S. Kh. Al-Shukri – Dr. Sci. (Med.), prof.

E. I. Baranova – Dr. Sci. (Med.), prof.

E. R. Barantsevich – Dr. Sci. (Med.), prof.

V. F. Bezhenar – Dr. Sci. (Med.), prof.

A. A. Vitrischak – Cand. Sci. (Med.)

N. I. Vishniakov – Dr. Sci. (Med.), prof.

T. D. Vlasov – Dr. Sci. (Med.), prof.

A. K. Dulaev – Dr. Sci. (Med.), prof.

A. A. Zakharenko – Dr. Sci. (Med.), prof.

M. M. Ilkovich – Dr. Sci. (Med.), prof.

E. R. Isaeva – Dr. Sci. (Med.), prof.

I. B. Jouline – Cand. Sci. (Biol.)

Ye. E. Zueva – Dr. Sci. (Med.)

S. A. Karpischenko – Dr. Sci. (Med.), prof.

K. S. Klyukovkin – Dr. Sci. (Med.)

A. Yu. Korolkov – Dr. Sci. (Med.)

D. A. Lioznov – Dr. Sci. (Med.), prof.

E. V. Melnikova – Dr. Sci. (Med.)

N. G. Neznanov – Dr. Sci. (Med.), prof.

N. N. Petrishchev – Dr. Sci. (Med.), prof.

A. A. Potapchuk – Dr. Sci. (Med.), prof.

S. N. Pchelina – Dr. Sci. (Biol.)

O. N. Reznik – Dr. Sci. (Med.)

M. G. Rybakova – Dr. Sci. (Med.), prof.

D. Yu. Semjonov – Dr. Sci. (Med.), prof.

A. V. Smirnov – Dr. Sci. (Med.), prof.

V. V. Tez – Dr. Sci. (Med.), prof.

V. V. Tomson – Dr. Sci. (Med.), prof.

A. A. Totolian – Dr. Sci. (Med.), prof.,

Academician, Russian Academy of Sciences

V. I. Trofimov – Dr. Sci. (Med.), prof.

V. U. Cherebillo – Dr. Sci. (Med.), prof.

E. V. Shliakhto – Dr. Sci. (Med.), prof.,

Academician, Russian Academy of Sciences

A. I. Yarjomenko – Dr. Sci. (Med.), prof.

EDITORIAL COUNCIL

E. K. Ailamazyan – Academician, Russian
Academy of Sciences (Saint Petersburg)

V. L. Bykov – prof. (Saint Petersburg)

A. A. Vorobjov – Academician, Russian Academy
of Sciences (Moscow)

G. I. Vorobjov – Academician, Russian Academy
of Sciences (Moscow)

A. M. Dygai – prof. (Tomsk)

N. V. Kornilov – Corresponding Member, Russian
Academy of Sciences (Saint Petersburg)

M. T. Lytsenko – prof. (Blagoveshchensk)

L. V. Potashov – Corresponding Member, Russian
Academy of Sciences (Saint Petersburg)

M. R. Sapin – Academician, Russian Academy
of Sciences (Moscow)

S. B. Seredenin – academician RAS (Moscow)

A. A. Scoromets – academician RAS
(Saint Petersburg)

M. M. Soloujov – prof. (Saint Petersburg)

A. S. Tiganov – Academician, Russian Academy
of Sciences (Moscow)

Academy of Sciences (Saint Petersburg)

I. S. Freidlin – Corresponding Member, Russian
Academy of Sciences (Saint Petersburg)

N. A. Yaitsky – Academician, Russian Academy
of Sciences (Saint Petersburg)

G. G. Lezhava – prof. (Tbilisi)

Jan M. van Ree (Netherlands)

F. De Rosa (Italy)

George E. Woody (USA)

James A. Hoxie (USA)

Ian Frank (USA)

A. Zander (Germany)

In accordance with the resolution of the Supreme Attestation Commission (SAC) of the Ministry of Education and Science the journal «The Scientific Notes of Pavlov University» is included in the list of the leading reviewed scientific journals issued in the Russian Federation and is recommended for publication of the main results of dissertation researches for scientific degree of a Candidat of Science and of a Doctor of Science.

СОДЕРЖАНИЕ

История и современность

Пчелина С. Н.

РАЗВИТИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ
В ПСПБГМУ им. И. П. ПАВЛОВА: 20 ЛЕТ ИСТОРИИ И ДОСТИЖЕНИЙ 9

Оригинальные работы

Савченко А. А., Суханов И. М., Улитина А. С., Драволлина О. А., Белозерцева И. В.,
Емельянов А. К., Звартау Э. Э.

НАРУШЕНИЯ АССОЦИАТИВНОГО ОБУЧЕНИЯ У КРЫС
БЕЗ ДОФАМИНОВОГО ТРАНСПОРТЕРА 18

Сироткина О. В., Улитина А. С., Кулабухова Д. Г., Николаев М. А., Изюмченко А. Д., Гараева Л. А.,
Шлык И. В., Гаврилова Е. Г., Полушин Ю. С., Пчелина С. Н.

КОРРЕЛЯЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА
С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ И РАЗМЕРОМ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МИКРОЧАСТИЦ ПЛАЗМЫ КРОВИ
У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 28

Безрукова А. И., Башарова К. С., Милюхина И. В., Тимофеева А. А., Сенкевич К. А., Пчелина С. Н.,
Усенко Т. С.

СНИЖЕННАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ НЕЙРОГЕНЕЗА КАК БИОМАРКЕР
БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *GBA*:
ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИЗА ДАННЫХ ТРАНСКРИПТОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 37

Драчева К. В., Побожьева И. А., Анисимова К. А., Хамид З. М., Сапожникова А. П., Баландов С. Г.,
Василевский Д. И., Пчелина С. Н., Мирошникова В. В.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *FABP4* В ПОДКОЖНОЙ И ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ
У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА 46

Османов З. Х., Рыбакова М. Г., Тихонова Ю. А., Семенов Д. Ю., Корольков А. Ю., Мыльникова А. А.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСЛОЖНЕННЫХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ЯЗВ 54

Суркова К. Л., Зверева Н. В., Сергиенко А. А., Строгова С. Е., Зверева М. В.

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА РЕЧЕВОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ, ЗАЧАТЫХ С ПОМОЩЬЮ
ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ 63

Правила для авторов.....70

CONTENTS

History and present day events

Pchelina S. N.

DEVELOPMENT OF MOLECULAR GENETIC TECHNOLOGIES IN PAVLOV UNIVERSITY:
20 YEARS HISTORY AND ACHIEVEMENTS 9

Original papers

Savchenko A. A., Sukhanov I. M., Ulitina A. S., Dravolina O. A., Belozertseva I. V., Emelianov A. K., Zvartau E. E.

ASSOCIATIVE LEARNING IMPAIRMENTS IN RATS LACKING DOPAMINE TRANSPORTER 18

Sirotkina O. V., Ulitina A. S., Kulabukhova D. G., Nikolaev M. A., Izumchenko A. D., Garaeva L. A., Shlyk I. V.,
Gavrilova E. G., Polushin Yu. S., Pchelina S. N.

CORRELATION OF LABORATORY MARKERS OF HEMOSTATIC SYSTEM ACTIVATION
WITH CONCENTRATION AND SIZE OF PLASMA EXTRACELLULAR MICROPARTICLES
IN PATIENTS WITH COVID-19 28

Bezrukova A. I., Basharova K. S., Miliukhina I. V., Timofeeva A. A., Senkevich K. A., Pchelina S. N., Usenko T. S.

REDUCED EXPRESSION OF NEUROGENESIS GENES AS BIOMARKERS OF PARKINSON'S
DISEASE ASSOCIATED WITH MUTATIONS IN THE *GBA* GENE: VALIDATION OF THE DATA
ANALYSIS OF TRANSCRIPTOME STUDY 37

Dracheva K. V., Pobozheva I. A., Anisimova K. A., Hamid Z. M., Sapojnikova A. P., Balandov S. G., Vasilevsky D. I.,
Pchelina S. N., Miroshnikova V. V.

FABP4 GENE EXPRESSION IN SUBCUTANEOUS AND VISCERAL ADIPOSE TISSUE
IN PATIENTS WITH OBESITY AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS 46

Osmanov Z. H., Rybakova M. G., Tikhonova Yu. A., Semenov D. Ju., Korolkov A. Yu., Mylnikova A. A.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF COMPLICATED GASTRODUODENAL ULCERS 54

Surkova K. L., Zvereva N. V. , Sergienko A. A., Strogova S. E. , Zvereva M. V.

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE SPEECH DEVELOPMENT
OF CHILDREN CONCEIVED BY IVF 63

Regulations for authors.....70



© CC С. Н. Пчелина, 2022
УДК 577.21 : 378.961 (470.23-2)
DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-9-17

С. Н. Пчелина*

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

РАЗВИТИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ В ПСПБГМУ им. И. П. ПАВЛОВА: 20 ЛЕТ ИСТОРИИ И ДОСТИЖЕНИЙ

Поступила в редакцию 04.03.2022 г.; принята к печати 27.04.2022 г.

Резюме

С момента подписания приказа о создании Отдела молекулярно-генетических технологий НИЦ прошел 21 год (приказ № 118 подписан академиком Н. А. Яицким 5 июня 2001 г.), и 20 лет прошло с момента начала деятельности Отдела. Ведущий ученый в области молекулярной медицины профессор Евгений Иосифович Шварц не только возглавил Отдел, но и привел с собой своих учеников — коллектив лаборатории молекулярной генетики человека Петербургского института ядерной физики Российской академии наук. Коллектив был первым в стране, применившим метод полимеразной цепной реакции для диагностики наследственных заболеваний человека, а на тот момент имевшим опыт как в составлении карт мутационных повреждений при моногенных заболеваниях человека, так и своих исследований в области мультифакторной патологии. Отдел положил начало развитию молекулярно-генетических технологий в Университете и стал базой для выполнения диссертационных исследований и освоения современных методов молекулярной генетики. В статье описана история создания Отдела и его основные достижения.

Ключевые слова: молекулярно-генетические исследования, медицинская генетика, ПСПБГМУ им. И. П. Павлова

Для цитирования: Пчелина С. Н. Развитие молекулярно-генетических технологий в ПСПБГМУ им. И. П. Павлова: 20 лет истории и достижений. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2022;29(1):9–17. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-9-17.

* **Автор для связи:** Софья Николаевна Пчелина, ФГБОУ ВО ПСПБГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. E-mail: sopchelina@hotmail.com.

Sofya N. Pchelina*

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

DEVELOPMENT OF MOLECULAR GENETIC TECHNOLOGIES IN PAVLOV UNIVERSITY: 20 YEARS HISTORY AND ACHIEVEMENTS

Received 04.03.2022; accepted 27.04.2022

Summary

21 years have passed since the signing of the order on the establishment of the Department of Molecular Genetic Technologies of the Scientific Research Center (order № 118 was signed by Academic N. A. Yaitsky on June 5, 2001) and 20 years have passed since the beginning of the Department's activities. The leading scientist in the field of molecular medicine, Professor Evgeny Iosifovich Schwartz, not only headed the Department, but also brought there his team — the team of the Laboratory of Human Molecular Genetics of the Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute». The team was the first in the country to use the polymerase chain reaction (PCR) method to diagnose human hereditary diseases, and at that time had experience both in mapping mutational damage in monogenic human diseases and in its research in the field of multifactorial pathology. The department creation marked the beginning of molecular genetic technologies at the University and became the basis for fundamental scientific researches and the development of modern methods of molecular genetics. The review describes the history of Department and its main achievements.

Keywords: molecular genetics research, medical genetics, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University

For citation: Pchelina S. N. Development of molecular genetic technologies in Pavlov University: 20 years history and achievements. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2022;29(1):9–17. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-9-17.

* **Corresponding author:** Sofya N. Pchelina, Pavlov University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: sopchelina@hotmail.com.

В июне 2022 г. исполняется 20 лет с момента начала работы Отдела молекулярно-генетических технологий НИЦ (ныне Отдел молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ, далее — Отдел). Следует отметить, что приказ о создании Отдела был подписан ректором СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова (ныне ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, далее — Университет) академиком Николаем Антоновичем Яицким 5 июня 2001 г. (Приказ № 118 от 5 июня 2001 г.). Однако на ремонт помещений Отдела (первый и второй этаж западного крыла корпуса 28) ушел год. За это время штатное расписание Отдела претерпело изменение, и вместо планируемых изначально четырех лабораторий в июне 2002 г. было открыто две лаборатории (лаборатория высокотехнологических методов молекулярного анализа ДНК (ныне лаборатория медицинской генетики) и лаборатория анализа структуры полиморфных генов человека (ныне лаборатория молекулярной биологии)). Фактическое открытие Отдела и оформление первых сотрудников произошло в июне 2002 г. Работы, выполненные в Отделе, положили начало развитию молекулярно-генетических исследований в Университете, а также создали базу для развития трансляционной медицины и передачи современных технологий в клиническую практику.

Нужно сказать, что в те годы руководству Университета стало очевидным, что развитие фундаментальной науки невозможно без внедрения в исследования современных молекулярно-генетических методов. Отдел создавался при большой поддержке проректора по науке профессора Эдвина Эдуардовича Звартау. А первым руководителем отдела и его идейным организатором стал выдающийся генетик, стоявший у истоков формирования молекулярной медицины в России, профессор Евгений Иосифович Шварц. Имя Евгения Иосифовича связано с формированием нескольких научно-педагогических коллективов. Так, в 1989 г. под руководством Евгения Иосифовича была открыта вторая в России кафедра медицинской генетики в медицинском вузе (впервые в России преподавание основ медицинской генетики для будущих врачей началось в Первом Московском медицинском институте, где в 1988 г. академик Н. П. Бочков организовал кафедру медицинской генетики), которую Евгений Иосифович возглавлял до 2001 г. Также в 1992 г. в стенах Отдела молекулярной и радиационной биофизики (ОМРБ) Петербургского института ядерной физики им. Б. П. Константинова Российской академии наук (ПИЯФ РАН) (ныне Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт») была создана возглавляемая Евгением Иосифовичем лаборатория молекулярной генетики человека, которую, как и образованный Отдел, Евгений Иосифович возглавлял до своей смерти 1 июня 2003 г.

Быстрое развитие Отдела было обусловлено созданной базой и опытом многолетних научных исследований. Евгений Иосифович пришел в стены Университета со своим коллективом лаборатории молекулярной генетики человека ПИЯФ РАН. К тому моменту коллектив уже имел множество пионерских достижений в области молекулярной генетики человека. Коллектив, возглавляемый Е. И. Шварцем, первым в России применил метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики наследственных заболеваний [1, 2], разработал метод проведения ПЦР с сухого пятна крови [3], описал спектр мутаций в генах при ряде наследственных заболеваний человека [4–8], одним из первых в стране приступил к изучению наследственных основ мультифакторных заболеваний [9–11], в основе развития которых лежит сложное взаимодействие наследственных и средовых факторов. На момент открытия Отдела были начаты работы по изучению основ наследственной предрасположенности к диабету I типа, сердечно-сосудистым и тромботическим заболеваниям, бронхолегочной патологии, болезни Паркинсона. Исследования проводились в сотрудничестве с выдающимися учеными в области молекулярной генетики и кардиологии: академиком Российской академии медицинских наук В. А. Алмазовым, членом-корреспондентом Российской академии медицинских наук В. С. Гайцхоки, академиком РАН Е. В. Шляхто.

Следует отметить, что фактический запуск работы Отдела требовал решения ряда проблем. На момент подписания приказа о его создании не было не только помещений, но даже стен. На месте будущего Отдела когда-то размещались помещения для содержания собак (рис. 1). При большой поддержке руководства Университета, а именно — ректора академика Н. А. Яицкого и проректора по науке профессора Э. Э. Звартау, а также директора НИЦ В. В. Томсона, полное преобразование помещений произошло за год. Более того, через год, в июне 2002 г., в Отделе была размещена лабораторная и офисная мебель. Материально-техническая база была сформирована как из новых поступлений, так и в результате того, что по договору о сотрудничестве часть оборудования была передана в пользование из ПИЯФ РАН. Тесное научное сотрудничество с НИЦ «Курчатовский институт» — ПИЯФ сохраняется до сих пор, а руководитель Отдела доктор биологических наук Софья Николаевна Пчелина, как когда-то Евгений Иосифович, возглавляет как лабораторию молекулярной генетики человека в ПИЯФе, так и Отдел НИЦ Университета.

В основные возложенные на Отдел задачи входило обеспечение научных исследований, проводимых в подразделениях Университета, современными молекулярно-генетическими технологиями и оказание консультативной помощи сотрудникам Университета по молекулярно-генетическим



а



б

Рис. 1. Помещения Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ в 2001 г. (а) и в 2004 г. (б)
 Fig. 1. Rooms of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies of the Scientific Research Center in 2001 (а) and in 2004 (б)

проблемам медицины, а также подготовка научно-педагогических кадров (аспирантура, докторантура) в области молекулярно-генетических исследований. Благодаря тому, что Отдел, как указано выше, создавался на базе существующих научных разработок, уже в первые годы существования Отдела был получен ряд уникальных результатов: описаны генетические факторы развития инфаркта миокарда у мужчин молодого возраста [12–14], а также подтверждена роль конкретных генетических вариантов в развитии наследственной тромбофилии [15], хронической обструктивной болезни легких [16], описаны наследственные формы болезни Паркинсона [17], начаты пионерские работы по фармакогенетике, в частности, выявлены генетические факторы индивидуальной чувствительности к варфарину [18]. Полученные результаты легли в основу ряда диссертационных исследований на соискание степени кандидата биологических и медицинских наук, а также трех докторских диссертаций: Ольга Александровна Беркович — «Состояние эндотелия сосудов и структурные полиморфизмы кандидатных генов у мужчин, перенесших инфаркт миокарда в молодом возрасте» по специальностям 03.00.15 — «Генетика», 14.00.06 — «Кардиология» (2002), Татьяна Васильевна Ивчик — «Роль наследственных факторов в формировании и прогнозировании хронической обструктивной болезни легких» по специальностям 03.00.15 — «Генетика», 14.00.43 — «Пульмонология» (2004) и Татьяна Владимировна Вавилова — «Система гемостаза у больных с механическими искусственными клапанами сердца» по специальностям 14.00.46 — «Клиническая лабораторная диагностика», 14.00.44 — «Сердечно-сосудистая хирургия» (2004). Разработанная панель генетических тестов на определение наследственной тромбофилии и индивидуальной чувствительности к варфарину была внедрена в Университете

в клиническую практику. Таким образом, с самого начала функционирования Отдела молекулярно-генетических технологий его сотрудники стремились не только внести вклад в понимание фундаментальных механизмов развития заболеваний человека, но и разработать практические подходы для усовершенствования, персонификации диагностики и терапии в лечебно-профилактических учреждениях.

В последующие годы (январь 2004 г. — сентябрь 2017 г.) Отделом руководил выпускник ПСПбГМУ академик РАН Михаил Владимирович Дубина. В 2004 г. им защищена докторская диссертация «Новый патогенетический подход к ранней диагностике и хирургическому лечению колоректального рака». Впоследствии М. В. Дубина развивал данную тематику в стенах Отдела. В эти годы под руководством Михаила Владимировича в Отделе были выявлены ряд патогенетически значимых молекулярно-генетических изменений для направленного (таргетного) лечения следующих заболеваний человека: рак желудка, толстой кишки, простаты, опухоли головного мозга, хронический миелоидный лейкоз, гипертоническая болезнь, бронхиальная астма [19–21]. Под руководством М. В. Дубины расширилась тематика проектов, пополнилась и обновилась приборная база Отдела, что позволило продолжать выполнять молекулярно-генетические исследования на современном уровне. Так, сотрудники Отдела приняли участие в проведении Всероссийской и Международной стандартизации молекулярных исследований для диагностики и мониторинга хронического миелоидного лейкоза (количественное определение мРНК гена *BCR-ABL*). За исследования молекулярных предикторов развития рака прямой кишки М. В. Дубина был удостоен Первой премии и золотой медали Алферовского фонда (2003).



Рис. 2. Руководители Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ. Слева направо: профессор Е. И. Шварц (2001 – 2003), академик РАН М. В. Дубина (2004 – 2017), доктор биологических наук С. Н. Пчелина (с 2017 г.)
Fig. 2. Heads of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies of the Scientific Research Center. From left to right: Professor E. I. Schwartz (2001 – 2003), Academician of the Russian Academy of Sciences M. V. Dubina (2004 – 2017), Doctor of Biological Sciences S. N. Pchelina (since 2017)

Параллельно М. В. Дубина являлся первым проректором Санкт-Петербургского национального исследовательского Академического университета им. акад. Ж. И. Алферова РАН (ранее – Санкт-Петербургский физико-технологический научно-образовательный центр РАН), что требовало времени и сил. В 2016 г. М. В. Дубина награжден медалью ЮНЕСКО за совокупность научных работ в области нанотехнологий, которые могут быть использованы для совершенствования способов диагностики и лечения заболеваний человека, также является лауреатом научной Премии им. И. П. Павлова в области физиологии и медицины (2016) за развитие молекулярно-биологических подходов в персонализированной медицине.

В эти годы в Отделе продолжались исследования в основных четырех направлениях, а именно – изучение основ бронхолегочной, сердечно-сосудистой патологии, болезни Паркинсона и расстройств шизофренического спектра. Новое развитие получило направление фармакогенетических исследований. Были выявлены генетические предикторы развития терапевтической резистентности, включая стероидорезистентность, у пациентов с бронхиальной астмой и идиопатическим фиброзирующим альвеолитом (ИФА). Данные легли в основу докторской диссертации, защищенной Жанной Александровной Мироновой по специальности 14.01.25 – «Пульмонология» (2012). В эти же годы получены приоритетные данные в группе, возглавляемой Софьей Николаевной Пчелиной, по наследственным основам развития болезни Паркинсона. Разработан алгоритм молекулярно-генетического обследования для выявления наследственных форм заболевания [22, 23]. По результатам исследования С. Н. Пчелиной была защищена докторская диссертация по специальности 03.02.07 – «Генетика» (2012).

Доктор биологических наук Софья Николаевна Пчелина является руководителем Отдела с октября 2017 г. Руководители Отдела с момента его открытия приведены на рис. 2. С. Н. Пчелина работает в Отделе с момента его открытия в 2002 г., является ученицей Евгения Иосифовича Шварца, а в настоящее время является известным специалистом в области молекулярной генетики человека, лауреатом ряда стипендий и премий губернатора Ленинградской области, Мэрии Санкт-Петербурга, удостоена Государственной Почетной грамоты от Министерства науки и образования. На протяжении всех лет Отдел работает в тесном сотрудничестве с ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова» НИЦ «Курчатовский институт». В Отдел входят две лаборатории: лаборатория медицинской генетики (заведующая лабораторией – кандидат биологических наук В. В. Мирошникова) и лаборатория молекулярной биологии (заведующая лабораторией – кандидат биологических наук А. Е. Тараскина). За годы существования Отдела на его базе было выполнено более 20 диссертационных исследований, среди них пять докторских диссертаций. Многие фундаментальные темы, начатые учениками Е. И. Шварца, получили свое развитие. В частности, исследования в области молекулярной кардиологии, лабораторной диагностики (профессор О. А. Беркович, профессор Т. В. Вавилова, доктор биологических наук О. В. Сироткина). Выполнены исследования по выявлению молекулярных основ развития нейросенсорной тугоухости (совместно с профессором С. Г. Журавским), выявлены генетические основы предрасположенности к развитию алкогольной зависимости (совместно с профессором Э. Э. Звартау, профессором М. Е. Крупицким) [24, 25]. Проведено молекулярно-генетическое обследование семей с



Рис. 3. Коллектив Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ. Слева направо: канд. мед. наук К. А. Сенкевич, канд. мед. наук И. В. Милыхина, Е. В. Волкова, Д. Г. Кулабухова, И. А. Побожева, М. А. Николаев, канд. биол. наук В. В. Мирошникова, В. В. Бойцов, канд. биол. наук Т. С. Усенко, доктор биол. наук С. Н. Пчелина, канд. мед. наук А. С. Улитина, канд. биол. наук А. Е. Тараскина, канд. биол. наук А. К. Емельянов, доктор биол. наук О. В. Сироткина, А. М. Заботина, К. В. Драчева

Fig. 3. The staff of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies of the Scientific Research Center. From left to right: Candidate of Medical Sciences K. A. Senkevich, Candidate of Medical Sciences I. V. Miliukhina, E. V. Volkova, D. G. Kulabukhova, I. A. Pobozeva, M. A. Nikolaev, Candidate of Biological Sciences V. V. Miroshnikova, V. V. Boitsov, Candidate of Biological Sciences T. S. Usenko, Doctor of Biological Sciences S. N. Pchelina, Candidate of Medical Sciences A. S. Ulitina, Candidate of Biological Sciences A. E. Taraskina, Candidate of Biological Sciences A. K. Emelianov, Doctor of Biological Sciences O. V. Sirotkina, A.M. Zabotina, K. V. Dracheva

наследственными формами болезни Паркинсона, а также нейросенсорной тугоухости, что позволило специалистам осуществлять медико-генетическое консультирование в семьях.

В Отделе осуществляется хранение множества коллекций образцов биоматериала нескольких типов: образцы цельной венозной крови, клеток крови, плазмы крови, биоптатов различных органов, геномной ДНК, мРНК, микроРНК, кДНК. Научный коллектив Отдела участвует в выполнении ряда Госзаданий Минздрава России, выполняя исследования по поиску биомаркеров развития распространенных заболеваний человека. Так, под руководством доктора биологических наук С. Н. Пчелиной в последние годы совместно с кафедрой неврологии получен ряд приоритетных данных по молекулярным механизмам развития наследственных форм болезни Паркинсона (руководители — академик А. А. Скоромец, доцент А. А. Тимофеева) [26 – 28]. Другим важным направлением исследований является исследование тканеспецифичной экспрессии генов: работа генов оценивается в различных тканях организма при определенных патологических состояниях. В частности, проводится оценка изменения работы ряда генов липидного метаболизма в висцеральной, эпикардиальной и

подкожной жировой ткани, получаемой хирургами при проведении плановых операций (совместно с кафедрой факультетской терапии, руководители — академик Е. В. Шляхто, профессор Е. И. Баранова; а также Центром хирургического лечения ожирения и метаболических нарушений) [29, 30]. Осуществляется поиск биомаркеров дисфункции жировой ткани и метаболических нарушений, а также последующего развития атеросклероза при ожирении, проводятся исследования роли секретируемых жировой тканью адипоцитокинов и экстраклеточных везикул в патогенезе сердечно-сосудистой патологии на фоне ожирения. С использованием метода массового параллельного секвенирования определен спектр мутаций у пациентов с семейной гиперхолестеринемией [31], проводится молекулярно-генетический анализ в семьях. Проводится оценка экспрессии таргетных генов в тканях легкого при развитии хронической бронхолегочной патологии, а также осуществляется анализ экспрессии микроРНК для изучения эпигенетической регуляции работы генов, вовлеченных в патогенез хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), бронхиальной астмы и их сочетания (совместно с кафедрой госпитальной терапии, руководители — профессор

В. И. Трофимов, профессор Ж. А. Миронова) [32]. В результате проведенных исследований уточнены механизмы стероидочувствительности у пациентов с сочетанием ХОБЛ и бронхиальной астмы, выявлены перспективные молекулярные мишени для фенотип-специфической терапии сочетания ХОБЛ и бронхиальной астмы.

Отдел участвует в изучении поведенческих и когнитивных дисфункций, обусловленных нарушением обмена дофамина и серотонина (совместно с отделом психофармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана, заведующий отделом — кандидат биологических наук И. В. Белозерцева, кандидат медицинских наук И. М. Суханов). Проводимые исследования на генетически модифицированных животных (крысах) позволяют определить потенциальные терапевтические мишени для разработки новых фармакологических подходов к нормализации обмена нейромедиаторов в центральной нервной системе у лиц с поведенческими и когнитивными нарушениями.

Также проводятся исследования особенностей дофаминергической нейротрансмиссии в лимфоцитах периферической крови и возможности прогнозирования ответа на терапию антипсихотическими препаратами у пациентов с психиатрическими заболеваниями. Получили развитие новые направления в работе отдела, в частности, работы с культурами клеток: ведутся исследования возможностей прогнозирования эффективности терапии определенными лекарственными препаратами по их воздействию на клетки периферической крови при их культивировании *in vitro* [33, 34]. Наиболее интересные результаты были получены при тестировании фармакологических шаперонов лизосомного фермента глюкоцереброзидазы (в частности, Амброксола) на первичной культуре макрофагов пациентов с болезнью Гоше и болезнью Паркинсона. В настоящее время данный препарат проходит клинические испытания в качестве нейропротектора при лечении болезни Паркинсона, связанной с мутациями в гене *GBA*. Нами показано, что клетки крови могут быть использованы при скрининге эффективности препарата [35]. Данный подход может лечь в основу персонифицированной терапии.

В настоящее время, отвечая стремительному развитию геномных технологий, исследования в Отделе переведены на современный уровень. Так, получены приоритетные данные по анализу РНК-секвенирования пациентов с наследственными формами болезни Паркинсона, ассоциированными с мутацией в гене *GBA*, позволяющие подойти к выявлению триггера развития данного заболевания у носителей мутаций [36]. Также в совместном исследовании, проводимом с кафедрой анестезиологии и реаниматологии (руководитель — академик Ю. С. Полушин), при сопоставлении транскрипционной активности генов пациентов, выживших и умерших от коронавирусной инфек-

ции, получены актуальные данные об активации пути эндогенного синтеза и обмена холестерина при летальном исходе от COVID-19 [37].

Проводимые в Отделе молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ исследования позволят выявить новые мишени для лекарственной терапии, а также предложить новые биомаркеры для диагностики различных заболеваний на ранних стадиях. О значимости полученных результатов говорят многочисленные рейтинговые публикации Отдела, в том числе в международных журналах с высоким импакт-фактором (5–10). В составе Отдела (всего 14 человек) в настоящее время работают два доктора наук и семь кандидатов наук. Коллектив Отдела показан на рис. 3. Выполняют свои работы аспиранты Университета по специальности 03.02.07 — «Генетика». Также Отдел является базой для выполнения научных исследований аспирантов и соискателей ученых степеней других специальностей, а также студентов различных вузов Санкт-Петербурга (выполнение бакалаврских и магистерских квалификационных работ). В Отделе регулярно проводятся семинары по актуальным вопросам молекулярной генетики.

В настоящее время молекулярно-генетические технологии активно развиваются на базе различных подразделений Университета и имеют как фундаментальную, так и прикладную направленность. Научные исследования, проводимые в нашем Отделе, затрагивают самые актуальные направления молекулярной медицины, а именно — кардиологии, пульмонологии, фармакогенетики, наследственных форм нейродегенеративных заболеваний, психиатрии. Полученные результаты обладают мировым приоритетом. В год в Отделе выходит около десяти публикаций в изданиях базы Scopus.

Конфликт интересов

Автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Автор подтверждает, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The author confirms that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шварц Е. И., Кабоев О. К., Гольцов А. А. и др. Праймерзависимая амплификация двух участков в-глобиново-

- го гена человека // Биоорганическая химия. – 1988. – Т. 14, № 11. – С. 1577–1579.
2. *Schwartz E. I., Goltsov A. A., Kaboev O. K. et al.* A novel frameshift mutation causing b-thalassaemia in Azerbaijan // *Nucleic Acids Research.* – 1989. – Vol. 17, № 10. – P. 3997. Doi: 10.1093/nar/17.10.3997.
3. Polymerase chain reaction amplification from dried blood spots on Guthrie cards / E. I. Schwartz, S. E. Khalchitsky, R. C. Eisensmith, S. L. Woo // *Lancet.* – 1990. – Vol. 336, № 8715. P. 639–640. Doi: 10.1016/0140-6736(90)93446-V.
4. *Барановская С. С., Шевцов С. П., Максимова С. П. и др.* Спектр мутационных повреждений гена фенилаланингидроксилазы у больных фенилкетонурией г. Санкт-Петербурга // *Доклады Академии наук.* – 1995. – Т. 340, № 5. – С. 709–711.
5. *Baranovskaya S. S., Shevtsov S. P., Maksimova S. P. et al.* The mutations and VNTRs in the phenylalanine hydroxylase gene of phenylketonuria in St Petersburg // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 1996. – Vol. 19, № 5. – P. 705.
6. *Воронина О. В., Гайтсхоки В. С., Шварц Е. И. и др.* Полимеразная цепная реакция в анализе делеции F-508 при кистозном фиброзе // *Биоорганическая химия.* – 1990. – Т. 16. – С. 1430–1431.
7. *Kuzmin A. I., Eisensmith R. C., Goltsov A. A. et al.* Complete spectrum of PAH mutations in Tataria: presence of Slavic, Turkic and Scandinavian mutations // *Eur. J. Hum. Genet.* – 1995. – Vol. 3, № 4. – P. 246–255.
8. *Mandelsham M., Chakir K., Shevtsov S. et al.* Prevalence of Lithuanian mutation among St. Petersburg Jews with familial hypercholesterolemia // *Hum. Mutat.* – 1998. – Vol. 12, № 4. – P. 255–228. Doi: 10.1002/(SICI)1098-1004(1998)12:4<255::AID-HUMU6>3.0.CO;2-E.
9. *Nejentsev S., Reijonen H., Adojnaan B. et al.* The effect of HLA-B allele on the IDDM risk defined by DRB1*04 subtypes and DQB1*0302 // *Diabetes.* – 1997. – Vol. 46. – P. 1888–1892. Doi: 10.2337/diab.46.11.1888.
10. *Fomicheva E., Gukova S., Larionova-Vasina V. et al.* Gene-gene interaction in RAS system in the predisposition to myocardial infarction in elder population of St. Petersburg (Russia) // *Molecular genetics and Metabolism.* – 2000. – Vol. 69, № 1. – P. 76–80. Doi: 10.1006/mgme.1999.2924.
11. Gln-Arg191 polymorphism of paraoxonase and Parkinson's disease / S. Akhmedova (Pchelina), S. Anisimov, A. Yakimovskiy, E. Schwartz // *Human Heredity.* – 1999. – Vol. 49, № 3. P. 178–180. Doi: 10.1159/000022868.
12. The combination of glycoprotein IIIa P1A polymorphism with polymorphism of serotonin transporter as an independent strong risk factor for the occurrence of coronary thrombosis / E. Schwartz, D. Demidova, O. Sirotkina, S. Kudinov // *Mol. Genet. Metab.* – 2003. – Vol. 79, № 3. – P. 229–230. Doi: 10.1016/s1096-7192(03)00090-8. PMID: 12855229.
13. *Пчелина С. Н., Кудинов С. В., Беркович О. А. и др.* Ассоциация структурных полиморфизмов промоторной области и кодирующей части гена параоксоназы с развитием инфаркта миокарда у мужчин до 45 лет // *Мед. академ. журн.* – 2003. – Т. 3, № 2. – С. 58–64.
14. *Пчелина С. Н., Сироткина О. В., Шейдина А. М. и др.* Генетические факторы риска развития инфаркта миокарда у мужчин молодого возраста, проживающих в северо-западном регионе России // *Кардиология.* – 2007. – Т. 47, № 7. – С. 29–34.
15. *Sirotkina O. V., Khaspekova S. G., Zabolina A. M. et al.* Effect of platelet glycoprotein IIb-IIIa number and glycoprotein IIIa Leu33Pro polymorphism on platelet aggregation and sensitivity to glycoprotein IIb-IIIa antagonists // *Platelet.* – 2007. – Vol. 18, № 7. – P. 506–514. Doi: 10.1080/09537100701326739.
16. *Янчина Е. Д., Ивчик Т. В., Шварц Е. И. и др.* Генное взаимодействие между глутатион-S-трансферазой M1 и матриксной металлопротеиназой 9 в формировании наследственной предрасположенности к развитию хронической обструктивной болезни легких // *Бюлл. эксперимент. биологии и мед.* – 2004. – Т. 137, № 1. – С. 75–77.
17. *Pchelina S. N., Yakimovskii A. F., Ivanova O. N. et al.* G2019S LRRK2 Mutation in Familial and Sporadic Parkinson's Disease in Russia // *Mov. Disord.* – 2006. – Vol. 21, № 12. – P. 2234–2236. Doi: 10.1002/mds.21134.
18. *Pchelina S. N., Sirotkina O. V., Taraskina A. E. et al.* The frequency of cytochrome P450 2C9 genetic variants in Russian population and their associations with individual sensitivity to warfarin therapy // *Thrombosis research.* – 2005. – Vol. 115, № 3. – P. 199–203. Doi: 10.1016/j.thromres.2004.08.020.
19. *Седов В. М., Яццкий А. Н., Мозговой Е. Д. и др.* Клиническое значение носительства генетического полиморфизма коннексина -26 при раке желудка // *Вест. хир. им. И. И. Грекова.* – 2007. – Т. 166, № 6. – С. 11–14.
20. *Симакова М. А., Миронова Ж. А., Трофимов В. И. и др.* Терапевтическая резистентность у больных с тяжелой БА // *Пульмонология.* – 2010. – Т. 2. – С. 108–112.
21. *Миронова Ж. А., Дьяченко Н. А., Улитина А. С. и др.* Геномные технологии в пульмонологии: роль микроРНК в развитии бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких // *Пульмонология.* – 2016. – Т. 26, № 1. – С. 5–11. Doi: 10.18093/0869-0189-2016-26-1-5-12.
22. *Pchelina S. N., Yakimovskii A. F., Emelyanov A. K. et al.* Screening for LRRK2 mutations in patients with Parkinson's disease in Russia: identification of a novel LRRK2 variant // *Eur. J. Neurol.* – 2008. – Vol. 15, № 7. – P. 692–696. Doi: 10.1111/j.1468-1331.2008.02149.x.
23. *Emelyanov A., Boukina T., Yakimovskii A. et al.* Glucocerebrosidase gene mutations are associated with Parkinson's disease in Russia // *Mov. Disord.* – 2012. – Vol. 27, № 1. – P. 158–159. Doi: 10.1002/mds.23950. Epub 2011 Sep 13. PMID: 21915911.
24. *Lappalainen J., Krupitsky E., Kranzler H. R. et al.* Mutation screen of the GAD2 gene and association study of alcoholism in three populations // *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* – 2007. – Vol. 144B, № 2. – P. 183–192. Doi: 10.1002/ajmg.b.30377. PMID: 17034009.
25. Ultrastructure of the hair in genetic prelingual deafness associated with the 35delG mutation in the connexin 26 gene (GJB2) / S. G. Zhuravskiy, A. A. Kurus, A. E. Taraskina, S. A. Ivanov // *Bull Exp Biol Med.* – 2009. – Vol. 148, № 1. – P. 79–81. Doi: 10.1007/s10517-009-0637-5. PMID: 19902103.
26. *Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M. et al.* Blood lysosphingolipids accumulation in patients with Parkinson's disease with glucocerebrosidase 1 mutations // *Movement disorders.* – 2018. – Vol. 33, № 8. – P. 1325–1330. Doi: 10.1002/mds.27393.
27. *Emelyanov A., Kulabukhova D., Garaeva L. et al.* SNCA variants and alpha-synuclein level in CD45+ blood cells in Parkinson's disease // *J. Neurol. Sci.* – 2018. – Vol. 395. – P. 135–140. Doi: 10.1016/j.jns.2018.10.002.
28. *Emelyanov A. K., Usenko T. S., Tesson C. et al.* Analysis of genetic variability in Parkinson's disease in Russia // *Neurobiology of Aging.* – 2018. – Vol. 71C. – P. 272.
29. *Miroshnikova V. V., Panteleeva A. A., Pobozeva I. A. et al.* ABCA1 and ABCG1 DNA methylation in epicardial adipose tissue of patients with coronary artery disease // *BMC Cardiovascular disorders.* – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 1–12. Doi: 10.1186/s12872-021-02379-7.
30. *Miroshnikova V. V., Polyakova E. A., Pobozeva I. A. et al.* FABP4 and Omentin-1 Gene Expression in Epicardial Adipose Tissue from Coronary Artery Disease Patients // *Genet.*

Molecular Biology. – 2021. – Vol. 44, № 4. – P. E20200441. Doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2020-0441.

31. Miroshnikova V. V., Romanova O. V., Ivanova O. N. et al. Targeted sequencing identified novel variants in the LDLR gene in Russian patients with familial hypercholesterolemia // Biomedical Reports. – 2021. – Vol. 14, № 1. – P. 1. Doi: 10.3892/br.2020.1391.

32. Дьяченко Н. А., Улитина А. С., Лукина О. В. и др. Экспрессия микроРНК miR21 и miR-146a у пациентов мужского пола с перекрестным фенотипом бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких // Пульмонология. – 2020. – Т. 30, № 3. – С. 263–269. Doi: 10.18093/0869-0189-2020-30-3-263-269.

33. Taraskina A. E., Nasyrova R. F., Zabolina A. M. et al. Potential diagnostic markers of olanzapine efficiency for acute psychosis: a focus on peripheral biogenic amines // BMC psychiatry. – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 1–12. Doi: 10.1186/s12888-017-1562-1.

34. Grumina M. N., Belinskaia M. A., Zhuravlev A. S. et al. Aberrant alternative splicing of HTR2A exon II in peripheral blood lymphocytes of drug-naïve schizophrenic patients // Heliyon. – 2020. – Vol. 6, № 12. – P. E05809. Doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05809.

35. Kopytova A. E., Rychkov G. N., Nikolaev M. A. et al. Amroxol increases glucocerebrosidase (GCase) activity and restores GCase translocation in primary patient-derived macrophages in Gaucher disease and Parkinsonism // Parkinsonism & Related Disorders. – 2021. – Vol. 84. – P. 112–121. Doi: 10.1016/j.parkreldis.2021.02.003

36. Usenko T., Bezrukova A., Basharova K. et al. Comparative Transcriptome Analysis in Monocyte-Derived Macrophages of Asymptomatic GBA Mutation Carriers and Patients with GBA-Associated Parkinson's Disease // Genes (Basel). – 2021. – Vol. 12, № 10. – P. 1545. Doi: 10.3390/genes12101545.

37. Шварц Е. И., Иващенко Т. Э., Гольцов А. А. и др. Использование метода цепной реакции синтеза ДНК для анализа частоты рестрикционного полиморфизма ДНК-локуса CS-7 в популяции и в семьях больных муковисцидозом // Доклады Академии наук. – 1989. – Т. 307, № 2. – С. 467–470.

38. Vlasov I., Panteleeva A., Usenko T. et al. Transcriptomic Profiles Reveal Downregulation of Low-Density Lipoprotein Particle Receptor Pathway Activity in Patients Surviving Severe COVID-19 // Cells. – 2021. – Vol. 10, № 12. – P. 3495. Doi: 10.3390/cells10123495.

REFERENCES

1. Schwarz E. I., Kaboev O. K., Goltsov A., Vinogradov S. V., Lebedenko E. N., & Berlin Y. A. Amplification Of 2 Segments Of The Human Beta-Globin Gene By Means Of Polymerase Chain-Reaction // Bioorganicheskaya Khimiya. 1988;14(11):1577–1579. (In Russ.).

2. Schwartz E. I., Goltsov A. A., Kaboev O. K. et al. A novel frameshift mutation causing b-thalassaemia in Azerbaijan // Nucleic Acids Research. 1989;17(10):3997. Doi: 10.1093/nar/17.10.3997.

3. Schwartz E. I., Khalchitsky S. E., Eisensmith R. C., Woo S. L. Polymerase chain reaction amplification from dried blood spots on Guthrie cards // Lancet 1990;336(8715):639–640. Doi: 10.1016/0140-6736(90)93446-V.

4. Baranovskaya S. S., Shevtsov S. P., Maksimova S. P., Kuzmin A. I., Shvartz E. I. The spectrum of mutational damage to the phenylalanine hydroxylase gene in patients with phenylketonuria. St. Petersburg // Reports of the Academy of Sciences. 1995;340(5):709–711. (In Russ.).

5. Baranovskaya S. S., Shevtsov S. P., Maksimova S. P., Kuzmin A. I., Schwartz E. I. The mutations and VNTRs in

the phenylalanine hydroxylase gene of phenylketonuria in St Petersburg // J Inherit Metab Dis. 1996;19(5):705.

6. Voronina O. V., Gaitshoki V. S., Schwartz E. I. et al. Polymerase chain reaction in the F-508 deletion assay in cystic fibrosis // Bioorganic chemistry. 1990;(16):1430–1431. (In Russ.).

7. Kuzmin A. I., Eisensmith R. C., Goltsov A. A. et al. Complete spectrum of PAH mutations in Tataria: presence of Slavic, Turkic and Scandinavian mutations // Eur J Hum Genet. 1995;3(4): 246–255.

8. Mandelstam M., Chakir K., Shevtsov S. et al. Prevalence of Lithuanian mutation among St. Petersburg Jews with familial hypercholesterolemia // Hum Mutat. 1998;12(4):255–258. Doi: 10.1002/(SICI)1098-1004(1998)12:4<255::AID-HUMU6>3.0.CO;2-E.

9. Nejentsev S., Reijonen H., Adojnaan B. et al. The effect of HLA-B allele on the IDDM risk defined by DRB1*04 subtypes and DQBI*0302 // Diabetes. 1997;(46):1888–1892. Doi: 10.2337/diab.46.11.1888.

10. Fomicheva E., Gukova S., Larionova-Vasina V., Kovalev Yu., Schwartz E. Gene-gene interaction in RAS system in the predisposition to myocardial infarction in elder population of St.Petersburg (Russia) // Molecular genetics and Metabolism. 2000;69(1):76–80. Doi: 10.1006/mgme.1999.2924.

11. Akhmedova (Pchelina) S., Anisimov S., Yakimovskiy A., Schwartz E. Gln-Arg191 polymorphism of paraoxonase and Parkinson's disease // Human Heredity. 1999; 49(3):178–180. Doi: 10.1159/000022868.

12. Schwartz E., Demidova D., Sirotkina O., Kudinov S. The combination of glycoprotein IIIa P1A polymorphism with polymorphism of serotonin transporter as an independent strong risk factor for the occurrence of coronary thrombosis // Mol Genet Metab. 2003;79(3):229–230. Doi: 10.1016/s1096-7192(03)00090-8. PMID: 12855229.

13. Pchelina S. N., Kudinov S. V., Berkovich O. A. et al. Association of structural polymorphisms of the promoter region and the coding part of the paraoxonase gene with the development of myocardial infarction in men under 45 years of age // Medical academic journal. 2003;3(2):58–64. (In Russ.).

14. Pchelina S. N., Sirotkina O. V., Sheidina A. M. et al. Genetic factors of risk of myocardial infarction in young men living in the north-western region of Russia // Cardiology. 2007;47(7):29–34. (In Russ.).

15. Sirotkina O. V., Khaspekova S. G., Zabolina A. M., Shimanjva Y. V., Mazurov A. V. Effect of platelet glycoprotein IIb-IIIa number and glycoprotein IIIa Leu33Pro polymorphism on platelet aggregation and sensitivity to glycoprotein IIb-IIIa antagonists // Platelet. 2007;18(7):506–514. Doi: 10.1080/09537100701326739.

16. Yanchina E. D., Ivchik T. V., Shvarts E. I., Khodzhayantz N. E., Kokosov A. N. Gene-gene interactions between glutathione-s transferase m1 and matrix metalloproteinase 9 in the formation of hereditary predisposition to chronic obstructive pulmonary disease // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2004;137(1):64–66.

17. Pchelina S. N., Yakimovskii A. F., Ivanova O. N., Emelianov A. K., Zakharchuk A. H., & Schwarzman A. L. G2019S LRRK2 Mutation in Familial and Sporadic Parkinson's Disease in Russia // Mov Disord. 2006;21(12):2234–2236. Doi: 10.1002/mds.21134.

18. Pchelina S. N., Sirotkina O. V., Taraskina A. E. et al. The frequency of cytochrome P450 2C9 genetic variants in Russian population and their associations with individual sensitivity to warfarin therapy // Thrombosis research. 2005;115(3):199–203. Doi: 10.1016/j.thromres.2004.08.020.

19. Sedov V. M., Iaitskiĭ A. N., Mozgovoi E. D., Volkov N. M., Moiseenko F. V., Dubina M. V., & Krutovskii

- kh V. A. Clinical significance of carriage of rare variants of connexin-26 genetic polymorphism in gastric cancer // *Vestnik khirurgii imeni I. I. Grekova*. 2007;166(6):11–14. (In Russ.).
20. Simakova M. A., Mironova Zh. A., Trofimov V. I., Yantchina E. D., Dubina M. V. Therapeutic resistance in patients with severe asthma // *Pulmonologiya*. 2010;(2):108–113. (In Russ.).
21. Mironova Z. A., D'yachenko N. A., Ulitina A. S., Trofimov V. I., Pchelina S. N., Dubina M. V. Genome technologies in pulmonology: a role of microRNA in asthma and COPD development // *Pulmonologiya*. 2016;26(1):5–12. (In Russ.). Doi: 10.18093/0869-0189-2016-26-1-5-12.
22. Pchelina S. N., Yakimovskii A. F., Emelyanov A. K., Ivanova O. N., Schwarzman A. L., Singleton A. B. Screening for LRRK2 mutations in patients with Parkinson's disease in Russia: identification of a novel LRRK2 variant // *Eur J Neurol*. 2008;15(7):692–696. Doi: 10.1111/j.1468-1331.2008.02149.x.
23. Emelyanov A., Boukina T., Yakimovskii A., Usenko T., Drosdova A., Zakharchuk A., Andoskin P., Dubina M., Schwarzman A., Pchelina S. Glucocerebrosidase gene mutations are associated with Parkinson's disease in Russia // *Mov Disord*. 2012;27(1):158–159. Doi: 10.1002/mds.23950. Epub 2011 Sep 13. PMID: 21915911.
24. Lappalainen J., Krupitsky E., Kranzler H. R., Luo X., Remizov M., Pchelina S., Taraskina A., Zvartau E., Räsänen P., Makikyro T., Somberg L. K., Krystal J. H., Stein M. B., Gelernter J. Mutation screen of the GAD2 gene and association study of alcoholism in three populations // *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2007;144B(2):183–192. Doi: 10.1002/ajmg.b.30377. PMID: 17034009.
25. Zhuravskiy S. G., Kurus A. A., Taraskina A. E., Ivanov S. A. Ultrastructure of the hair in genetic prelingual deafness associated with the 35delG mutation in the connexin 26 gene (GJB2) // *Bull Exp Biol Med*. 2009;148(1):79–81. Doi: 10.1007/s10517-009-0637-5. PMID: 19902103.
26. Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M. et al. Blood lysosphingolipids accumulation in patients with Parkinson's disease with glucocerebrosidase 1 mutations // *Movement disorders*. 2018;33(8):1325–1330. Doi: 10.1002/mds.27393.
27. Emelyanov A., Kulabukhova D., Garaeva L., Senkevich K., Nikolaev M., Andoskin P., Kopytova A., Milyukhina I., Yakimovskii A., Timofeeva A., Pchelina S. SNCA variants and alpha-synuclein level in CD45+ blood cells in Parkinson's disease // *J Neurol Sci*. 2018;(395):135–140. Doi: 10.1016/j.jns.2018.10.002.
28. Emelyanov A. K., Usenko T. S., Tesson C. et al. Analysis of genetic variability in Parkinson's disease in Russia // *Neurobiology of Aging*. 2018;(71C):272.
29. Miroshnikova V. V., Panteleeva A. A., Pobozheva I. A. et al. ABCA1 and ABCG1 DNA methylation in epicardial adipose tissue of patients with coronary artery disease // *BMC Cardiovascular disorders*. 2021;21(1):1–12. Doi: 10.1186/s12872-021-02379-7.
30. Miroshnikova V. V., Polyakova E. A., Pobozheva I. A. et al. FABP4 and Omentin-1 Gene Expression in Epicardial Adipose Tissue from Coronary Artery Disease Patients // *Genet Molecular Biology*. 2021;44(4):E20200441. Doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2020-0441.
31. Miroshnikova V. V., Romanova O. V., Ivanova O. N. et al. Targeted sequencing identified novel variants in the LDLR gene in Russian patients with familial hypercholesterolemia // *Biomedical Reports*. 2021;14(1):1. Doi: 10.3892/br.2020.1391.
32. D'yachenko N. A., Ulitina A. S., Lukina O. V., Pchelina S. N., Trofimov V. I., Mironova Z. A. MicroRNA miR-21 and miR-146a expression in male with a combination of bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease // *Pulmonologiya*. 2020;30(3):263–269. (In Russ.). Doi: 10.18093/0869-0189-2020-30-3-263-269.
33. Taraskina A. E., Nasyrova R. F., Zabolotina A. M. et al. Potential diagnostic markers of olanzapine efficiency for acute psychosis: a focus on peripheral biogenic amines // *BMC psychiatry*. 2017;17(1):1–12. Doi: 10.1186/s12888-017-1562-1.
34. Grunina M. N., Belinskaia M. A., Zhuravlev A. S. et al. Aberrant alternative splicing of HTR2A exon II in peripheral blood lymphocytes of drug-naïve schizophrenic patients. *Heliyon*. 2020;6(12):E05809. Doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05809.
35. Kopytova A. E., Rychkov G. N., Nikolaev M. A. et al. Ambroxol increases glucocerebrosidase (GCase) activity and restores GCase translocation in primary patient-derived macrophages in Gaucher disease and Parkinsonism // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2021;(84):112–121. Doi: 10.1016/j.parkreldis.2021.02.003
36. Usenko T., Bezrukova A., Basharova K. et al. Comparative Transcriptome Analysis in Monocyte-Derived Macrophages of Asymptomatic GBA Mutation Carriers and Patients with GBA-Associated Parkinson's Disease // *Genes (Basel)*. 2021;12(10):1545. Doi: 10.3390/genes12101545.
37. Shvarts E. I., Ivashchenko T. E., Gol'tsov A. A., Kabov O. K., Gorbunova V. N., Baranov V. S. Dna polymerase chain reaction in analysis of restriction polymorphism frequency of the dna locus cs-7 in the population and in families of patients with mucoviscidosis // *Doklady Biological Sciences*. 1989;307(2):455–457. (In Russ.).
38. Vlasov I., Panteleeva A., Usenko T. et al. Transcriptomic Profiles Reveal Downregulation of Low-Density Lipoprotein Particle Receptor Pathway Activity in Patients Surviving Severe COVID-19 // *Cells*. 2021;10(12):3495. Doi: 10.3390/cells10123495.

Информация об авторе

Пчелина Софья Николаевна, доктор биологических наук, руководитель Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-7431-6014.

Information about author

Pchelina Sofya N., Dr. of Sci (Biol.), Head of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies of the Research Center, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-7431-6014.



© CC Коллектив авторов, 2022
УДК [371.3 : 577.174.5] : 59.085
DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-18-27

А. А. Савченко, И. М. Суханов*, А. С. Улитина, О. А. Драволина, И. В. Белозерцева,
А. К. Емельянов, Э. Э. Звартау

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

НАРУШЕНИЯ АССОЦИАТИВНОГО ОБУЧЕНИЯ У КРЫС БЕЗ ДОФАМИНОВОГО ТРАНСПОРТЕРА

Поступила в редакцию 04.03.2022 г.; принята к печати 27.04.2022 г.

Резюме

Введение. Изменения в экспрессии дофамина транспортера (DAT) выявлены у пациентов с рядом невропсихических заболеваний, однако их значимость для патогенеза остается невыясненной. Нокаутные по гену *DAT* крысы — перспективная модель одного из вариантов дисфункций фронтостриарной системы, вовлеченной в адаптацию обучения к текущим потребностям, мотивации и опыту.

Цель — оценить влияние выключения гена *DAT* на взаимодействие процессов выработки классических и инструментальных рефлексов (ассоциативное обучение).

Методы и материалы. Использованы крысы из локальной колонии: нокауты ($n = 31$), гетерозиготы ($n = 32$) и «дикий тип» ($n = 24$). Нокаут гена *DAT* (*Slc6a3*) выявляли методом полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом. Крыс содержали индивидуально с ограниченным доступом к пище и неограниченным — к воде. В оперантных камерах, оборудованных интерфейсом MED-PC (*MED Associates*, США), выполнили три эксперимента: 1) классическое обусловливание; 2) автоформирование оперантной реакции; 3) обучение на основе вторичного подкрепления. Статистический анализ выполняли с помощью «SigmaPlot 12.5» (*Systat Software Inc.*, США) и «SPSS Statistics 21» (*IBM*, США).

Результаты. Выявлено, что выключение гена *DAT* у крыс не влияет на формирование условно-рефлекторных связей при классическом обусловливании (1), однако сопровождается нарушениями автоформирования оперантной реакции (2) и обучения на основе вторичного подкрепления (3).

Заключение. Обнаруженные нарушения ассоциативного обучения могут быть связаны со снижением побудительной значимости стимулов в условиях гипердофаминергии.

Ключевые слова: дофамин, дофаминавый транспортер (DAT), ассоциативное обучение, крысы, нокаутные по гену *DAT*

Для цитирования: Савченко А. А., Суханов И. М., Улитина А. С., Драволина О. А., Белозерцева И. В., Емельянов А. К., Звартау Э. Э. Нарушения ассоциативного обучения у крыс без дофаминавого транспортера. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2022;29(1):18–27. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-18-27.

* Автор для связи: Илья Михайлович Суханов, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. E-mail: ilia.sukhanov@gmail.com.

Artem A. Savchenko, Ilya M. Sukhanov*, Anna S. Ulitina, Olga A. Dravolina,
Irina V. Belozertseva, Anton K. Emelianov, Edwin E. Zvartau

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

ASSOCIATIVE LEARNING IMPAIRMENTS IN RATS LACKING DOPAMINE TRANSPORTER

Received 04.03.2022; accepted 27.04.2022

Summary

Introduction. Changes in the expression of the dopamine transporter (DAT) have been identified in patients with a number of neuropsychiatric disorders, but their significance for pathogenesis remains unclear. *DAT* knockout rats are a promising

model of frontostriatal dysfunctions involved in adapting learning processes to current organism's needs, motivation, and experience.

The objective was to evaluate the effect of *DAT* disruption on the interaction of classical and instrumental conditioning processes (associative learning).

Methods and materials. Rats from a local colony were used: knockouts ($n = 31$), heterozygotes ($n = 32$), and wild type rats ($n = 24$). *DAT* knockout (*Slc6a3*) was detected by PCR followed by restriction analysis. The rats were kept individually with limited access to food and unlimited access to water. In the operant chambers equipped with a MED-PC interface (MED Associates, USA), 3 experiments were performed: 1) classical conditioning; 2) autoshaping of operant responding; 3) reward learning based on secondary reinforcement. Statistical analysis was performed using SigmaPlot 12.5 (Systat Software Inc., USA) and SPSS Statistics 21 (IBM, USA).

Results. We revealed that *DAT* disruption in rats did not affect the formation of conditioned reflex connections in classical conditioning (1) but was accompanied by impairments in the autoshaping of the operant response (2) and learning based on secondary reinforcement (3).

Conclusion. The observed impairments of associative learning might be associated with a decreased incentive value of stimuli in hyperdopaminergic state.

Keywords: dopamine, *DAT*, associative learning, *DAT-KO* rats

For citation: Savchenko A. A., Sukhanov I. M., Ulitina A. S., Dravolina O. A., Belozertseva I. V., Emelianov A. K., Zvartau E. E. Associative learning impairments in rats lacking dopamine transporter. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2022;29(1):18–27. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-18-27.

* **Corresponding author:** Ilya M. Sukhanov, Pavlov University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: ilia.sukhanov@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Количество дофаминовых нейронов в мозге относительно невелико (у человека — около 400 000 — 600 000) [1–3], но они играют важнейшую роль в регулировании различных процессов в центральной нервной системе, связанных с контролем произвольных движений, сна, эмоций, подкрепления и познавательной деятельности [4, 5]. Черная субстанция и вентральная область покрышки среднего мозга модулируют активность полосатого тела и префронтальной коры, функционально связанных в единую фронтостриарную систему, которая критически вовлечена в различные виды обучения [6–13]. Такая модуляция обеспечивает адаптацию обучения к текущим потребностям, мотивации и опыту [14].

Дофаминовый транспортер (*dopamine transporter*, *DAT*), представитель семейства зависимых от Na^+/Cl^- белков-переносчиков, избирательно экспрессируется в дофаминергических нейронах и является одним из ключевых элементов регуляции, опосредованной дофамином, осуществляя обратный захват этого медиатора в пресинаптические окончания аксонов [15]. Изменения в экспрессии *DAT* выявлены у пациентов с рядом нервно-психических заболеваний, сопровождающихся когнитивным дефицитом, включая шизофрению, синдром дефицита внимания и гиперактивности, болезнь Паркинсона [16–18]. Однако до сих пор остается не ясным, значимы ли эти изменения для патогенеза когнитивных нарушений данных нозологических единиц.

Белок-переносчик *DAT* кодируется геном *Slc6a3* (*solute carrier family 6 member 3*). В 2018 г. с помощью метода редактирования генома с использованием нуклеаз с «цинковыми пальцами» (*zinc fingers*) были созданы крысы, нокаутные по гену *Slc6a3* — *DAT*-knockout- (*DAT-KO*) крысы, которые отличаются высокой внеклеточной концентрацией

дофамина в полосатом теле [19, 20] и характерным фенотипом. Как и созданные ранее *DAT-KO*-мышь [21], *DAT-KO*-крысы имеют меньшую массу тела по сравнению с гетерозиготами (*heterozygote type*, *HT*) и особями «дикого типа» (*wild type*, *WT*), им свойственна выраженная двигательная гиперактивность и различные стереотипии [19, 22]. Установлено также, что мутантные крысы хуже справляются с задачами для оценки рабочей памяти [9] и визуального обучения [23].

В целом *DAT-KO*-крысы признаются перспективной доклинической моделью одного из вариантов дисфункций фронтостриарной системы, оценка влияния которого на ассоциативное обучение как результат взаимодействия процессов выработки классических и инструментальных рефлексов явилась **целью** исследования.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Лабораторные животные. Эксперименты выполнены на крысах из колонии Отдела психофармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана, которая была заложена в 2019 г. путем скрещивания четырех *DAT-KO*-самцов (СПбГУ, Институт трансляционной биомедицины) и самок стока Wistar (исходно — питомник лабораторных животных «Рапполово»). В экспериментах использовали животных разного генетического статуса: *DAT-KO* ($n = 31$), *HT* ($n = 32$) и *WT* ($n = 24$).

Молекулярно-генетическое исследование крыс было выполнено в Отделе молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Биоматериалом для анализа являлись биоптаты наружного уха, полученные с помощью ушного перфоратора (*FST*, США) у детенышей в возрасте 28 дней (день отъема от матери). Место перфорации уха одновременно являлось индивидуальной меткой особи. Таким образом, отсутствие отдельной инвазивной

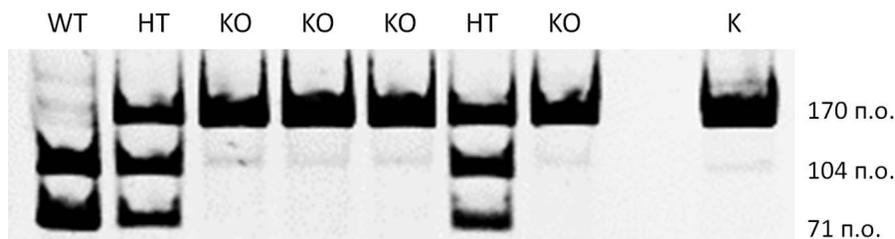


Рис. 1. Выявление нокаута гена дофаминового транспортера (DAT): пример электрофореграммы продуктов рестрикционного анализа: здесь и далее WT – «дикий тип»; HT – гетерозигота; KO – нокаут гена *DAT*; K – контрольный ПЦР-продукт, не подвергавшийся воздействию эндонуклеазы рестрикции *BtsI*MutI; п. о. – пары оснований

Fig. 1. Detection of the dopamine transporter (*DAT*) knockout: an example of an electrophoregram of restriction analysis products: here and further WT – «wild type»; HT – heterozygote; KO – *DAT* knockout; K – control PCR product that was not exposed to *BtsI*-MutI restriction endonuclease; п. о. – base pairs

процедуры по забору биоматериала позволило минимизировать стресс у животных. Выявление нокаута гена дофаминового транспортера *Slc6a3* выполняли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом по протоколу, адаптированному из работы D. Leo et al. [19].

Из биоптатов выделяли геномную ДНК стандартным фенол-хлороформным способом. ПЦР проводили в смеси объемом 15 мкл, содержащей 0,15 мкл раствора Taq М полимеразы (арт. 751-50, «Алкор Био»); 1,5 мкл ПЦР-буфера и 2,25 мкл раствора $MgCl_2$ 25 мМ (поставляются в комплекте с полимеразой); 1,5 мкл смеси дезоксирибонуклеозидтрифосфатов по 25 мМ каждого (арт. R1121, *ThermoScientific*); 6,1 мкл деионизированной воды; 1,5 мкл раствора ДНК; по 10 пмоль прямого (5'-TCCTGGTCAAGGAGCAGAAC-3') и обратного (5'-CACAGGTAGGGAACCTCCA-3') праймеров (Синтол). ПЦР проводили в амплификаторе T100 Thermal Cycler (*Bio-Rad*) по протоколу: 95 °С – 15 мин; 35 циклов (95 °С – 30 с, 60 °С – 30 с, 72 °С – 45 с); 72 °С – 5 мин. Получали ПЦР-продукт длиной 170 или 175 пар оснований (п.о.) в случае наличия или отсутствия мутации соответственно, поскольку нокаут гена *Slc6a3* является результатом делеции 5 п. о., приводящей к образованию стоп-кодона. Рестрикционный анализ проводили при 55 °С в течение 20 ч в смеси объемом 20 мкл, содержащей 0,3 мкл эндонуклеазы рестрикции *BtsI*MutI (арт. R0664S, *New England BioLabs*); 2,0 мкл буфера CutSmart (поставляется в комплекте с *BtsI*MutI); 12,7 мкл деионизированной воды; 5,0 мкл ПЦР-продукта. Продукты рестрикционного анализа подвергали электрофоретическому разделению в 6 %-м полиакриламидном геле, окрашивали в водном растворе этидия бромидом и визуализировали в приборе Gel Doc XR Plus (*Bio-Rad*). Вариантам гена *DAT* соответствовали длины фрагментов ДНК: WT – 104 и 71 п.о.; *DAT*-KO – 170 п. о.; HT – 170, 104 и 71 п. о. (рис. 1).

Во время экспериментов крыс содержали индивидуально в ТПН-клетках (*Tecniplast*, Италия) в

помещении с автоматически регулируемым световым режимом (12 ч свет – с 8 ч утра/12 ч темнота), температурой (21 ± 2) °С и влажностью (50 ± 20) %. В качестве подстилочного материала использовали древесный наполнитель (*Lignocel*, ВК 8-15, *JRS, J. Rettenmaier & Söhne Group*, Германия). Животные имели ограниченный доступ к пище (полнорационный экструдированный комбикорм, ООО «Лабораторкорм», Москва, Россия), так, чтобы поддерживать сниженную на 10 – 15 % от исходной массу тела. Потребление воды было *ad libitum*.

Все экспериментальные процедуры выполняли в светлую фазу светового цикла в соответствии с рекомендациями «Руководства по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» [24]. Распределение животных по когортам и последовательность выполнения экспериментальных процедур приведены на рис. 2.

Экспериментальная установка. Исследование выполнено в шести экспериментальных установках, состоящих из оперантной камеры (30,5×24,1×29,2 см; ENV-007, *MED Associates Inc.*, East Fairfield, VT, США), помещенной в звукоизолирующую оболочку. Оболочка оснащена вентилятором, который обеспечивает циркуляцию воздуха и «белый» шум. На центральной панели боковой стенки камеры на высоте 2 см от пола помещен лоток для пищевых гранул, снабженный парой инфракрасных датчиков (ENV254-СВ) для фиксации заглядываний в него животных и сигнальной лампой. Лоток соединен с автоматически управляемым устройством (ENV-203-45), поставляющим пищевые гранулы 45 мг (*P. J. Noyes Inc.*, Lancaster, NH, США). Над лотком находился источник звука (ENV-223AM) и лампа (ENV-215M, 2,5 Вт) внутреннего (общего) освещения камеры. Справа и слева от лотка находились либо отверстия для выглядываний (*nose rock*), либо выдвигающиеся педали: совершаемые животными действия регистрировали. Для сбора и записи данных использовали компьютер IBM, оборудованный интерфейсом MED-PC (*MED Associates*, США).

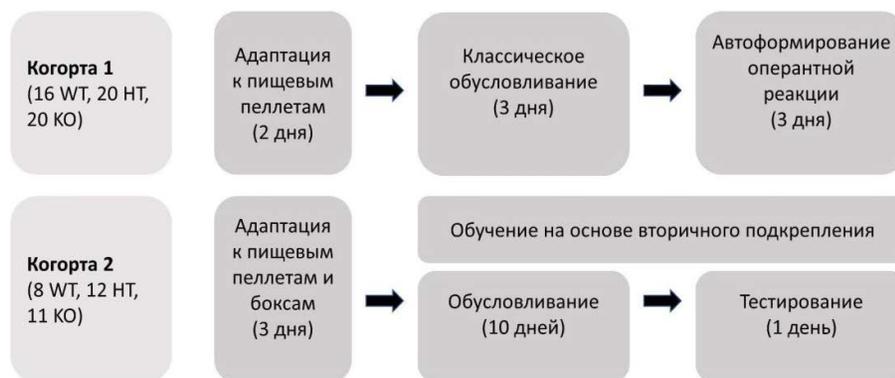


Рис. 2. Распределение крыс по когортам и порядок экспериментальных процедур

Fig. 2. Distribution rats by cohorts and the order of experimental procedures

Эксперимент 1: классическое обусловливание. После адаптации к условиям индивидуального содержания (1 неделя) и снижения массы тела на 10–15 % от исходной частично депривированным от пищи крысам в домашней клетке предоставляли 15 пищевых гранул, используемых в качестве подкрепления в оперантных камерах. Критерием включения в дальнейшие эксперименты было поедание животными гранул в течение суток. Экспериментальная процедура была адаптирована из предыдущих работ [25, 26]. Во время экспериментальных сессий, проводимых ежедневно в одно и то же время в течение 3 дней, крысу помещали в оперантную камеру с включенной лампой общего освещения. За сессию было предусмотрено 28 тестовых попыток: после предоставления звукового стимула (400 мс, 2,8 кГц, 78 дБ) животное получало пищевое подкрепление (1 гранула). Каждая новая попытка была отделена от предыдущей переменным интервалом от 30 до 110 с. Регистрировали следующие показатели: 1) число выглядываний в лоток для пищевых гранул за сессию; 2) «пропуски» — число тестовых попыток, в ходе которых крысы не выглядывали в лоток в течение 10 с после предоставления пищевого подкрепления.

Эксперимент 2: автоформирование оперантной реакции. Та же когорта животных, что и в эксперименте 1, была использована для оценки автоформирования оперантной реакции. Экспериментальная процедура была адаптирована из предыдущей работы [27]. Выполняли три последовательные ежедневные тестовые сессии, каждая включала в себя по 40 предъявлений условного стимула (выдвижение педали), сразу за которым следовало получение 1 пищевой гранулы. Продолжительность предъявления условного стимула (максимально — 8 с) зависела от поведения животных. Как только крыса нажимала на педаль, педаль немедленно задвигалась. Продолжительность интервала между предъявлениями стимулов варьировала от 30 до 90 с, составляя в среднем 60 с. Положение выдвигающейся педали (слева или справа по отношению к лотку, в который предоставляли

подкрепление) было сбалансировано. Учитывали число совершенных нажатий за каждую сессию.

Эксперимент 3: обучение на основе вторичного подкрепления. Экспериментальная процедура была адаптирована из предыдущей работы [28] и состояла из двух фаз.

1. Фаза «обусловливание». В течение каждой из 10 ежедневных экспериментальных сессий (15 мин) животным 30 раз предъявляли комплексный условный стимул длительностью 5 с: выключение «домашнего» света и сигнальной лампы в пищевом лотке, подача звукового сигнала. Сразу после предъявления условного стимула крысы получали пищевое подкрепление (1 гранула). Во время обусловливания доступ к отверстиям для выглядываний животным не предоставлялся.

2. Фаза «тестирование». Во время теста (60 мин) крысы получали доступ к двум отверстиям, число выглядываний в которые регистрировали. Одно из отверстий было «активным» — каждое выглядывание в него сопровождалось предъявлением условного стимула; второе отверстие было «неактивным» (контрольным) — выглядывание в него не имело никаких последствий. Расположение «активного» и «неактивного» отверстия (справа и слева от лотка) было сбалансировано среди животных группы. Во время теста крысы в случае выглядывания в «активное» отверстие получали только комплексный условный стимул (пищевое подкрепление не предоставляли). Оценивали следующие показатели: 1) число выглядываний в отверстия («активное» и «неактивное») и их соотношение; 2) число заглядываний в лоток; 3) латентный период заглядывания в лоток после предъявления условного стимула.

Статистический анализ данных проводили с помощью «SigmaPlot 12.5» (Systat Software Inc., San Jose, CA, США) и (или) «IBM SPSS Statistics 21» (IBM, Armonk, NY, США); использовали непараметрические методы (тест Крускала–Уоллиса и дисперсионный анализ смешанного типа на данных после рангового преобразования). Для апостериорных сравнений выполняли тесты Данна и Бонферрони.

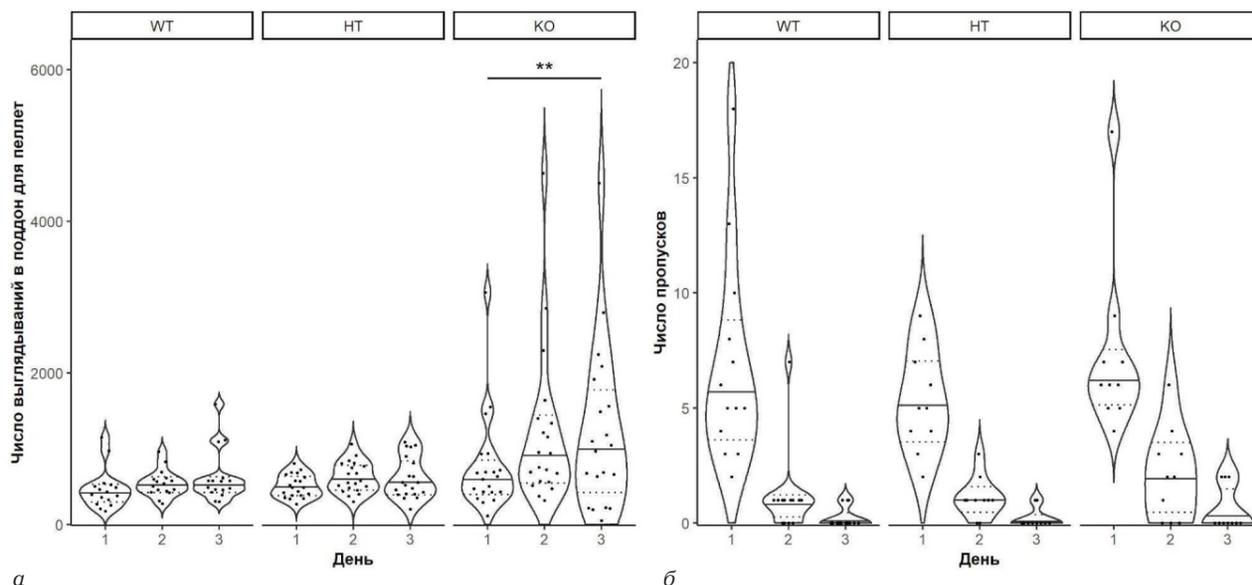


Рис. 3. Поведенческие паттерны крыс при классическом обусловливании: изменения числа заглядываний в лоток для пищевых гранул (а); изменения числа пропусков (б): данные представлены в виде скрипичных диаграмм. Сплошная линия внутри – медиана; нижняя и верхняя пунктирные линии – 25 %-й и 75 %-й квартили; точки – индивидуальные значения; ** – $P < 0,05$ – по тесту Данна

Fig. 3. Behavioral patterns of rats under classical conditioning: changes in the number of peeks into the food pellet tray (a); changes in the number of passes (b): the data is presented in the form of violin charts. The solid line inside reflects the median; the lower and upper dotted lines – 25% and 75% quartiles; the dots – individual values. ** – $P < 0.05$ by the Dunn's test

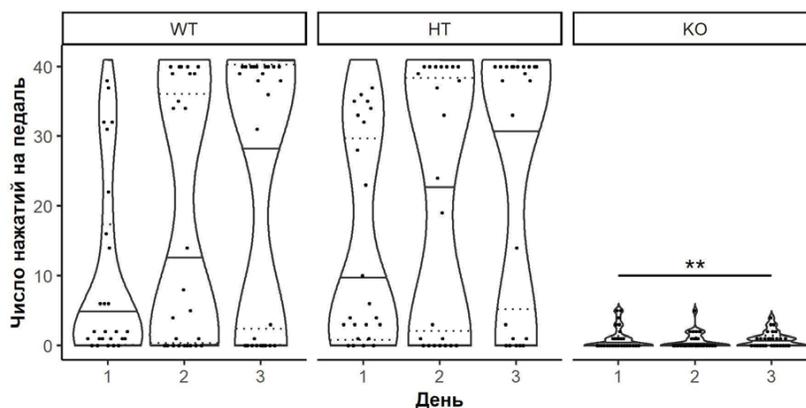


Рис. 4. Поведение крыс в тесте автоформирования оперантной реакции: данные представлены в виде скрипичных диаграмм. Сплошная линия внутри – медиана; нижняя и верхняя пунктирные линии – 25 %-й и 75 %-й квартили; точки – индивидуальные значения; ** – $P < 0,01$ по тесту Данна

Fig. 4. Behavior of rats in the test of autoshaping of operant response: the data is presented in the form of violin charts. The solid line inside reflects the median; the lower and upper dotted lines – 25 and 75% quartiles; the dots – individual values. ** – $P < 0.01$ by the Dunn's test

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эксперимент 1: классическое обусловливание. Все крысы выполнили условие включения в эксперименты, т. е. поедали пищевые гранулы.

Во время обусловливания число «пропусков» снижалось от 1-го к 3-му дню вне зависимости от генотипа крыс (рис. 3, а): дисперсионный анализ показал значимое влияние фактора «день» на число пропусков ($F_{(2,50)} = 155,9$; $P < 0,001$; тест Бонферрони: 1-й день vs 2-й день, 1-й день vs 3-й день, 2-й день vs 3-й день, $P < 0,001$), но не фактора «генотип» ($F_{(2,37)} = 1,9$; $P = 0,16$) или взаимодействия

этих факторов ($F_{(4,50)} = 0,14$; $P = 0,97$). На протяжении эксперимента число заглядываний в лоток для гранул увеличивалось (влияние фактора «день»: $F_{(2,64)} = 12,7$; $P < 0,001$; тест Бонферрони: 1-й день vs 2-й день, 1-й день vs 3-й день, $P < 0,01$) (рис. 3, б) в зависимости от генетического статуса животных (влияние фактора «генотип»: $F_{(2,54)} = 3,9$; $P < 0,05$). DAT-KO-крысы совершали значимо больше заглядываний в лоток, чем WT- (тест Бонферрони: $P < 0,05$), однако влияние взаимодействия факторов «день» и «генотип» не было статистически значимым ($F_{(4,64)} = 0,6$; $P = 0,67$).

Эксперимент 2: автоформирование оперантной реакции. Выявлена выраженная разница числа

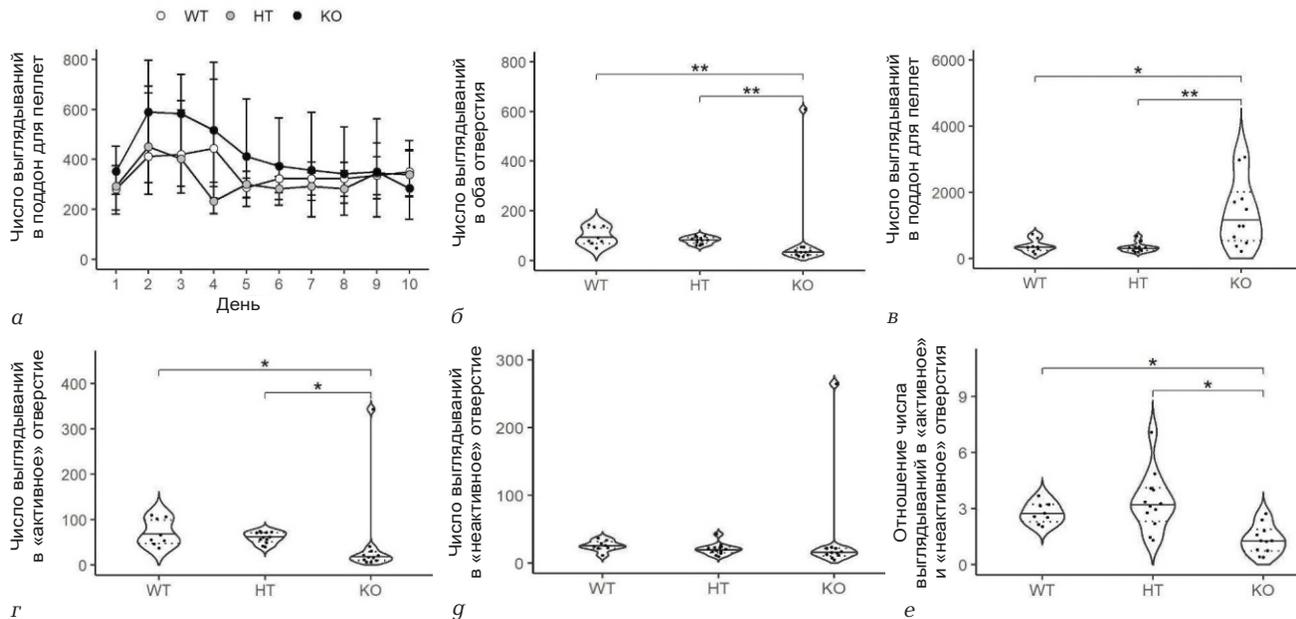


Рис. 5. Поведение крыс при обучении на основе вторичного подкрепления: *a* – изменение числа заглядываний в лоток для пищевых гранул во время фазы обусловливания; *b* – общее число заглядываний в отверстия во время теста; *v* – общее число заглядываний в лоток для пищевых гранул во время теста; *г* – общее число заглядываний в «активное» отверстие во время теста; *g* – общее число заглядываний в «неактивное» отверстие во время теста; *e* – соотношение заглядываний в «активное» и «неактивное» отверстия во время теста. Данные представлены в виде средних значений (± 95)-го доверительный интервал (*a*) и в виде скрипичных диаграмм (*b*–*e*). Сплошная линия внутри – медиана; нижняя и верхняя пунктирные линии – 25 %-й и 75 %-й квартили; точки – индивидуальные значения; * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ по тесту Данна

Fig. 5. Behavior of rats during secondary reinforcement training: *a* – change in the number of peeks into the food pellet tray during the conditioning phase; *b* – the total number of peeks out the holes during the test; *v* – the total number of peeks into the food pellet tray during the test; *г* – the total number of peeks out the «active» hole during the test; *g* – the total number of peeks out the «inactive» hole during the test; *e* – the ratio of peeks out the «active» and «inactive» holes during the test. The data are presented in the form of average values ± 95 confidence interval (*a*) and in the form of violin charts (*b*–*e*); the solid line inside reflects the median; the lower and upper dotted lines – 25% and 75% quartiles; the dots – individual values; * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ according to the Dunn test

нажатий на педаль в зависимости от генотипа животных (рис. 4). В то время как у крыс «дикого типа» и «гетерозигот» этот показатель увеличивался от 1-го к 3-му, число нажатий у DAT-KO-крыс оставалось стабильно низким: ни одна из них не совершила более 5 нажатий за сессию. По данным дисперсионного анализа установлено статистически значимое влияние факторов «день» ($F_{(2,51)} = 9,5$; $P < 0,001$; тест Бонферрони: 1-й день vs 3-й день $P < 0,001$) и «генотип» ($F_{(2,46)} = 11,8$; $P < 0,001$; тест Бонферрони: WT vs DAT-KO $P < 0,01$; HT vs DAT-KO $P < 0,01$). Влияние взаимодействия данных факторов было статистически не значимым ($F_{(4,51)} = 1,9$; $P = 0,13$).

Эксперимент 3: обучение на основе вторичного подкрепления. Во время обусловливания DAT-KO-крысы не отличались от животных других генотипов по числу заглядываний в лоток для корма (дисперсионный анализ: факторы «генотип» $F_{(2,27)} = 1,2$; $P = 0,3$; фактор «день» $F_{(9,39)} = 1,6$; $P = 0,17$; взаимодействие факторов «генотип» и «день» $F_{(18,39)} = 1,2$; $P = 0,3$) (рис. 5, *a*).

DAT-KO характеризовались меньшим числом заглядываний в оба отверстия (тест Крускала – Уоллиса: $H = 13,3$; $df = 2$; $P < 0,01$; тест Данна: DAT-KO vs WT и DAT-KO vs HT $P < 0,01$; рис. 5, *b*). У DAT-KO-крыс наблюдалось статистически значимо меньше заглядываний в «активное» отверстие,

чем у животных двух других генотипов (тест Крускала – Уоллиса: $H = 13,2$; $df = 2$; $P = 0,001$; тест Данна: DAT-KO vs WT и DAT-KO vs HT $P < 0,05$) (рис. 5, *g*). При этом влияние выключения гена *DAT* на число заглядываний в «неактивное» отверстие не достигало уровня статистической значимости (тест Крускала – Уоллиса: $H = 5,6$; $df = 2$; $P = 0,06$) (рис. 5, *g*). Анализ соотношения заглядываний в «активное» и «неактивное» отверстия показал, что крысы «дикого типа» и гетерозиготы, но не животные-нокауты, преимущественно заглядывали в подкрепляемое отверстие (тест Крускала – Уоллиса: $H = 15,6$; $df = 2$; $P < 0,001$; тест Данна: DAT-KO vs WT и DAT-KO vs HT $P < 0,05$) (рис. 5, *e*). Также DAT-KO совершали статистически значимо больше заглядываний в лоток для пищевых гранул, чем животные других исследованных групп (тест Крускала – Уоллиса: $H = 12,3$; $df = 2$; $P < 0,01$; тест Данна: DAT-KO vs WT $P < 0,05$; DAT-KO vs HT $P < 0,01$) (рис. 5, *v*).

В эксперименте 1 оценивали выработку условно-рефлекторных связей как обучение последовательности событий, которые происходят независимо от действий животного (классическое обусловливание). На основании полученных результатов (снижение числа «пропусков» от 1-й к 3-й сессии независимо от генетического статуса животных) можно предположить, что выключение

гена *DAT* не влияет на процессы обучения. Выявленное увеличение числа заглядываний в лоток у *DAT*-КО-крыс согласуется с результатами предыдущих работ [29]. Обнаруженные различия могут быть связаны с гиперактивностью *DAT*-КО-крыс. Однако они могут также быть следствием особенностей выработки условно-рефлекторных реакций при гипердофаминергических состояниях. Так, например, известно, что фармакологическое выключение *DAT* при локальном введении d-амфетамина в прилежащее ядро перегородки приводит к облегчению выработки классических условных рефлексов на основе пищевого подкрепления [30].

Автоформирование оперантной реакции – экспериментальный метод для оценки обучения и долговременной памяти [31]. По результатам исследования, автоформирование реакции было в значительной степени нарушено у крыс с выключенным геном *DAT*. Принимая во внимание неизменную (или даже ускоренную) выработку условно-рефлекторных реакций у таких животных в эксперименте 1, можно предположить, что выключение гена *DAT* ассоциировано со стратегией отслеживания цели/результата (*goal-tracking*), когда животные проводят время главным образом у лотка для пищевых пеллет. Такая стратегия может быть обусловлена гипердофаминергией вследствие выключения *DAT*, которая приводит к нарушениям процессов переноса стимульной значимости (*incentive salience*) от безусловного (пищевого) к условному (предъявление педали) стимулу. Так, ранее показано [32], что стратегия нацеленности на условные стимулы (*sign-tracking*) характерна для интактной дофаминергической нейротрансдукции. Тем не менее мы не можем исключить и другие объяснения обнаруженных поведенческих различий, как, например, влияние предшествующего опыта, полученного во время эксперимента 1, и (или) нарушение оперантного поведения.

По данным нашего исследования, выключение гена *DAT* также нарушало обучение на основе вторичного подкрепления. Важно отметить, что условные стимулы могут выступать в качестве подкрепления только у животных, для которых характерна поведенческая стратегия отслеживания условных стимулов (*sign-tracking*) [33]. Это косвенно подтверждает наше предположение о том, что для *DAT*-КО-крыс более свойственна стратегия отслеживания цели (*goal-tracking*), несмотря на успешную обучаемость при классическом обусловливании (эксперимент 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом патогенетические механизмы обнаруженных особенностей процессов ассоциативного обучения, предположительно, могут быть связаны с нарушениями в механизмах атрибуции побудительной значимости стимулов в условиях гипердофаминергии и требуют дальнейшего изучения.

Благодарности

Авторы благодарны директору Института трансляционной биомедицины СПбГУ (Санкт-Петербург) Р. Р. Гайнетдинову за любезно предоставленных *DAT*-КО-животных для создания колонии в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, а также сотрудникам отдела психофармакологии Института фармакологии А. М. Гавриловой, А. В. Иванову, С. В. Иванову, М. Г. Семиной, М. А. Тур, Ю. И. Шевчук за техническую помощь и уход за животными.

Acknowledgements

The authors are grateful to R. R. Gainetdinov (the director of the Institute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University) for the kindly provided *DAT*-КО animals for the start of colony in Pavlov University as well as to the staff of the Department of Psychopharmacology of the Institute of Pharmacology: A. M. Gavrilova, A. V. Ivanov, S. V. Ivanov, M. G. Semina, M. A. Tur, Yu. I. Shevchuk for technical assistance and animal care.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие норм этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

- Hegarty S. V., Sullivan A. M., O'Keeffe G. W. Midbrain dopaminergic neurons: A review of the molecular circuitry that regulates their development // *Dev Biol.* – 2013. – Vol. 379. – P. 123–138. Doi: 10.1016/j.ydbio.2013.04.014.
- German D. C., Schlusberg D. S., Woodward D. J. Three-dimensional computer reconstruction of midbrain dopaminergic neuronal populations: From mouse to man // *J Neural Transm.* – 1983. – Vol. 57. – P. 243–254. Doi: 10.1007/BF01248996.
- Pakkenberg B., Moller A., Gundersen H. J. G. et al. The absolute number of nerve cells in substantia nigra in normal subjects and in patients with Parkinson's disease estimated with an unbiased stereological method // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* – 1991. – № 54. – P. 30–33. Doi: 10.1136/jnnp.54.1.30.
- Beaulieu J. M., Gainetdinov R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors // *Pharmacol Rev.* – 2011. – Vol. 63. – P. 182–217. Doi: 10.1124/pr.110.002642.
- Klein M. O., Battagello D. S., Cardoso A. R. et al. Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases // *Cell. Mol. Neurobiol.* – 2019. – Vol. 39. – P. 31–59. Doi: 10.1007/s10571-018-0632-3.
- Featherstone R. E., McDonald R. J. Dorsal striatum and stimulus-response learning: Lesions of the dorsolateral,

but not dorsomedial, striatum impair acquisition of a simple discrimination task // *Behav. Brain Res.* – 2004. – Vol. 150. – P. 15–23. Doi: 10.1016/S0166-4328(03)00218-3.

7. *Sariñana J., Tonegawa S.* Differentiation of forebrain and hippocampal dopamine 1-class receptors, D1R and D5R, in spatial learning and memory // *Hippocampus.* – 2016. – Vol. 26. – P. 76–86. Doi: 10.1002/hipo.22492.

8. *Gutierrez A., Regan S. L., Hoover C. S. et al.* Effects of intrastriatal dopamine D1 or D2 antagonists on methamphetamine-induced egocentric and allocentric learning and memory deficits in Sprague – Dawley rats // *Psychopharmacology (Berl).* – 2019. – № 236. – P. 2243–2258. Doi: 10.1007/s00213-019-05221-3.

9. Deficit in working memory and abnormal behavioral tactics in dopamine transporter knockout rats during training in the 8-arm maze / N. P. Kurzina, I. Y. Aristova, A. B. Volnova, R. R. Gainetdinov // *Behav. Brain Res.* – 2020. – P. 390. Doi: 10.1016/j.bbr.2020.112642.

10. *Roffman J. L., Tanner A. S., Eryilmaz H. et al.* Dopamine D1 signaling organizes network dynamics underlying working memory // *Sci Adv.* – 2016. – P. 2. Doi: 10.1126/sciadv.1501672.

11. *Stefani M. R., Moghaddam B.* Rule learning and reward contingency are associated with dissociable patterns of dopamine activation in the rat prefrontal cortex, nucleus accumbens, and dorsal striatum // *J. Neurosci.* 2006;(26):8810–8818. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.1656-06.2006.

12. *Bach M. E., Simpson E. H., Kahn L. et al.* Transient and selective overexpression of D2 receptors in the striatum causes persistent deficits in conditional associative learning // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2008. – Vol. 105. – P. 16027–16032. Doi: 10.1073/pnas.0807746105.

13. Circuit Mechanisms of Sensorimotor Learning / H. Makino, E. J. Hwang, N. G. Hedrick, Komiyama T // *Neuron.* – 2016. – Vol. 92. – P. 705–721. Doi: 10.1016/j.neuron.2016.10.029.

14. *Schultz W.* Reward functions of the basal ganglia // *J/ Neural/ Transm.* – 2016. – Vol. 123. – P. 679–693. Doi: 10.1007/s00702-016-1510-0.

15. *Bu M., Farrer M. J., Khoshbouei H.* Dynamic control of the dopamine transporter in neurotransmission and homeostasis // *Npj Park Dis.* – 2021. – P. 7. Doi: 10.1038/s41531-021-00161-2.

16. *Purves-Tyson T. D., Owens S. J., Rothmond D. A. et al.* Putative presynaptic dopamine dysregulation in schizophrenia is supported by molecular evidence from post-mortem human midbrain // *Transl Psychiatry.* – 2017. – P. 7. Doi: 10.1038/tp.2016.257.

17. *Dresel S., Krause J., Krause K. H. et al.* Attention deficit hyperactivity disorder: Binding of 99mTc.TRODAT-1 to the dopamine transporter before and after methylphenidate treatment // *Eur. J. Nucl. Med.* – 2000. – № 27. – P. 1518–1524. Doi: 10.1007/s002590000330.

18. *Palermo G., Ceravolo R.* Molecular Imaging of the Dopamine Transporter // *Cells.* – 2019. – P. 8. Doi: 10.3390/cells8080872.

19. *Leo D., Sukhanov I., Zoratto F. et al.* Pronounced hyperactivity, cognitive dysfunctions, and BDNF dysregulation in dopamine transporter knock-out rats // *J Neurosci.* – 2018. – Vol. 38. – P. 1959–1972. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.1931-17.2018.

20. *Jones S. R., Gainetdinov R. R., Jaber M. et al.* Pro-found neuronal plasticity in response to inactivation of the dopamine transporter // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1998. – Vol. 95. – P. 4029–4034. Doi: 10.1073/pnas.95.7.4029.

21. *Giros B., Jaber M., Jones S. R. et al.* Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lack-

ing the dopamine transporter // *Nature.* – 1996. – № 379. – P. 606–612. Doi: 10.1038/379606a0.

22. Rats lacking dopamine transporter display increased vulnerability and aberrant autonomic response to acute stress / P. Illiano, G. E. Bigford, R. R. Gainetdinov, M. Pardo // *Biomolecules.* – 2020. – P. 10. Doi: 10.3390/biom10060842.

23. A New Paradigm for Training Hyperactive Dopamine Transporter Knockout Rats: Influence of Novel Stimuli on Object Recognition / N. P. Kurzina, A. B. Volnova, I. Y. Aristova, R. R. Gainetdinov // *Front Behav. Neurosci.* – 2021. – P. 15. Doi: 10.3389/fnbeh.2021.654469.

24. *Белозерцева И. В., Драволлина О. А., Тур М. А.* Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова / под ред. Э. Э. Звартау. – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2014. – С. 79.

25. *Choi W. Y., Balsam P. D., Horvitz J. C.* Extended habit training reduces dopamine mediation of appetitive response expression // *J Neurosci.* – 2005. – Vol. 25. – P. 6729–6733. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.1498-05.2005.

26. *Bespalov A. Y., Harich S., Jongen-Rêlo A. L. et al.* AMPA receptor antagonists reverse effects of extended habit training on signaled food approach responding in rats // *Psychopharmacology (Berl).* – 2007. – Vol. 195. – P. 11–18. Doi: 10.1007/s00213-007-0875-z.

27. Effects of nimodipine on learning in normotensive and spontaneously hypertensive rats / A. Meneses, J. A. Terrón, M. Ibarra, E. Hong // *Behav. Brain Res.* – 1997. – Vol. 85. – P. 121–5. Doi: 10.1016/S0166-4328(97)87580-8.

28. *Olausson P., Jentsch J. D., Taylor J. R.* Repeated nicotine exposure enhances responding with conditioned reinforcement // *Psychopharmacology (Berl).* – 2004. – Vol. 173. – P. 98–104. Doi: 10.1007/s00213-003-1702-9.

29. *Yin H. H., Zhuang X., Balleine B. W.* Instrumental learning in hyperdopaminergic mice // *Neurobiol Learn Mem.* – 2006. – Vol. 85. – P. 283–288. Doi: 10.1016/j.nlm.2005.12.001.

30. *Phillips G. D., Setzu E., Hitchcott P. K.* Facilitation of appetitive pavlovian conditioning by d-amphetamine in the shell, but not the core, of the nucleus accumbens // *Behav. Neurosci.* – 2003. – Vol. 117. – P. 675–684. Doi: 10.1037/0735-7044.117.4.675.

31. *Meneses A.* A pharmacological analysis of an associative learning task: 5-HT 1 to 5-HT7 receptor subtypes function on a Pavlovian/instrumental autoshaped memory // *Learn Mem.* – 2003. – Vol. 10. – P. 363–372. Doi: 10.1101/lm.60503.

32. *Flagel S. B., Clark J. J., Robinson T. E. et al.* A selective role for dopamine in stimulus-reward learning // *Nature.* – 2011. – Vol. 469. – P. 53–59. Doi: 10.1038/nature09588.

33. Examining the role of dopamine D2 and D3 receptors in Pavlovian conditioned approach behaviors / K. M. Fraser, J. L. Haight, E. L. Gardner, S. B. Flagel // *Behav. Brain Res.* – 2016. – Vol. 305. – P. 87–99. Doi: 10.1016/j.bbr.2016.02.022.

REFERENCES

- Hegarty S. V., Sullivan A. M., O’Keefe G. W. Midbrain dopaminergic neurons: A review of the molecular circuitry that regulates their development // *Dev Biol.* 2013;(379):123–38. Doi: 10.1016/j.ydbio.2013.04.014.
- German D. C., Schlusserberg D. S., Woodward D. J. Three-dimensional computer reconstruction of midbrain dopaminergic neuronal populations: From mouse to man // *J Neural Transm.* 1983;(57):243–254. Doi: 10.1007/BF01248996.
- Pakkenberg B., Moller A., Gundersen H. J. G., Dam A. M., Pakkenberg H. The absolute number of nerve cells in substantia nigra in normal subjects and in patients with

- Parkinson's disease estimated with an unbiased stereological method // *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;(54):30–33. Doi: 10.1136/jnnp.54.1.30.
4. Beaulieu J. M., Gainetdinov R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors // *Pharmacol Rev.* 2011;(63):182–217. Doi: 10.1124/pr.110.002642.
5. Klein M. O., Battagello D. S., Cardoso A. R., Hauser D. N., Bittencourt J. C., Correa R. G. Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases // *Cell Mol Neurobiol.* 2019;(39):31–59. Doi: 10.1007/s10571-018-0632-3.
6. Featherstone R. E., McDonald R. J. Dorsal striatum and stimulus-response learning: Lesions of the dorsolateral, but not dorsomedial, striatum impair acquisition of a simple discrimination task // *Behav Brain Res* 2004;(150):15–23. Doi: 10.1016/S0166-4328(03)00218-3.
7. Sariñana J., Tonegawa S. Differentiation of forebrain and hippocampal dopamine 1-class receptors, D1R and D5R, in spatial learning and memory // *Hippocampus.* 2016;(26):76–86. Doi: 10.1002/hipo.22492.
8. Gutierrez A., Regan S. L., Hoover C. S., Williams M. T., Vorhees C. V. Effects of intrastratial dopamine D1 or D2 antagonists on methamphetamine-induced egocentric and allocentric learning and memory deficits in Sprague – Dawley rats // *Psychopharmacology (Berl).* 2019;(236):2243–2258. Doi: 10.1007/s00213-019-05221-3.
9. Kurzina N. P., Aristova I. Y., Volnova A. B., Gainetdinov R. R. Deficit in working memory and abnormal behavioral tactics in dopamine transporter knockout rats during training in the 8-arm maze // *Behav Brain Res.* 2020:390. Doi: 10.1016/j.bbr.2020.112642.
10. Roffman J. L., Tanner A. S., Eryilmaz H., Rodriguez-Thompson A., Silverstein N. J., Ho N. F. et al. Dopamine D1 signaling organizes network dynamics underlying working memory // *Sci Adv.* 2016;2. Doi: 10.1126/sciadv.1501672.
11. Stefani M. R., Moghaddam B. Rule learning and reward contingency are associated with dissociable patterns of dopamine activation in the rat prefrontal cortex, nucleus accumbens, and dorsal striatum // *J Neurosci.* 2006;(26):8810–8818. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.1656-06.2006.
12. Bach M. E., Simpson E. H., Kahn L., Marshall J. J., Kandel E. R., Kellendonk C. Transient and selective overexpression of D2 receptors in the striatum causes persistent deficits in conditional associative learning // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;(105):16027–16032. Doi: 10.1073/pnas.0807746105.
13. Makino H., Hwang E. J., Hedrick N. G., Komiyama T. Circuit Mechanisms of Sensorimotor Learning // *Neuron.* 2016;(92):705–721. Doi: 10.1016/j.neuron.2016.10.029.
14. Schultz W. Reward functions of the basal ganglia // *J Neural Transm* 2016;(123):679–693. Doi: 10.1007/s00702-016-1510-0.
15. Bu M., Farrer M. J., Khoshbouei H. Dynamic control of the dopamine transporter in neurotransmission and homeostasis // *Npj Park Dis.* 2021;(7). Doi: 10.1038/s41531-021-00161-2.
16. Purves-Tyson T. D., Owens S. J., Rothmond D. A., Halliday G. M., Double K. L., Stevens J., et al. Putative presynaptic dopamine dysregulation in schizophrenia is supported by molecular evidence from post-mortem human midbrain // *Transl Psychiatry.* 2017;7. Doi: 10.1038/tp.2016.257.
17. Dresel S., Krause J., Krause K. H., LaFougere C., Brinkbäumer K., Kung H. F. et al. Attention deficit hyperactivity disorder: Binding of 99mTc.TRODAT-1 to the dopamine transporter before and after methylphenidate treatment // *Eur J Nucl Med* 2000;(27):1518–1524. Doi: 10.1007/s002590000330.
18. Palermo G., Ceravolo R. Molecular Imaging of the Dopamine Transporter // *Cells.* 2019;8. Doi: 10.3390/cells8080872.
19. Leo D., Sukhanov I., Zoratto F., Illiano P., Caffino L., Sanna F. et al. Pronounced hyperactivity, cognitive dysfunctions, and BDNF dysregulation in dopamine transporter knock-out rats // *J Neurosci.* 2018;(38):1959–1972. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.1931-17.2018.
20. Jones S. R., Gainetdinov R. R., Jaber M., Giros B., Wightman R. M., Caron M. G. Profound neuronal plasticity in response to inactivation of the dopamine transporter // *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;(95):4029–4034. Doi: 10.1073/pnas.95.7.4029.
21. Giros B., Jaber M., Jones S. R., Wightman R. M., Caron M. G. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter // *Nature.* 1996;(379):606–612. Doi: 10.1038/379606a0.
22. Illiano P., Bigford G. E., Gainetdinov R. R., Pardo M. Rats lacking dopamine transporter display increased vulnerability and aberrant autonomic response to acute stress // *Biomolecules.* 2020;10. Doi: 10.3390/biom10060842.
23. Kurzina N. P., Volnova A. B., Aristova I. Y., Gainetdinov R. R. A New Paradigm for Training Hyperactive Dopamine Transporter Knockout Rats: Influence of Novel Stimuli on Object Recognition // *Front Behav Neurosci.* 2021;15. Doi: 10.3389/fnbeh.2021.654469.
24. Belozertseva I. V., Dravolina O. A., Tur M. A. Guidelines for the use of laboratory animals for scientific and educational purposes at the I. P. Pavlov St. Petersburg State Medical University / ed. E. E. Zvartau. SPB., Publishing House of St. Petersburg State Medical University, 2014:79. (In Russ.).
25. Choi W. Y., Balsam P. D., Horvitz J. C. Extended habit training reduces dopamine mediation of appetitive response expression // *J Neurosci.* 2005;(25):6729–6733. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.1498-05.2005.
26. Bernalov A. Y., Harich S., Jongen-Rêlo A. L., Van Gaalen M. M., Gross G. AMPA receptor antagonists reverse effects of extended habit training on signaled food approach responding in rats // *Psychopharmacology (Berl).* 2007;(195):11–18. Doi: 10.1007/s00213-007-0875-z.
27. Meneses A., Terrón J. A., Ibarra M., Hong E. Effects of nimodipine on learning in normotensive and spontaneously hypertensive rats // *Behav Brain Res.* 1997;(85):121–125. Doi: 10.1016/S0166-4328(97)87580-8.
28. Olausson P., Jentsch J. D., Taylor J. R. Repeated nicotine exposure enhances responding with conditioned reinforcement // *Psychopharmacology (Berl).* 2004;(173):98–104. Doi: 10.1007/s00213-003-1702-9.
29. Yin H. H., Zhuang X., Balleine B. W. Instrumental learning in hyperdopaminergic mice // *Neurobiol Learn Mem.* 2006;(85):283–288. Doi: 10.1016/j.nlm.2005.12.001.
30. Phillips G. D., Setzu E., Hitchcott P. K. Facilitation of appetitive pavlovian conditioning by d-amphetamine in the shell, but not the core, of the nucleus accumbens // *Behav Neurosci.* 2003;(117):675–684. Doi: 10.1037/0735-7044.117.4.675.
31. Meneses A. A pharmacological analysis of an associative learning task: 5-HT 1 to 5-HT7 receptor subtypes function on a Pavlovian/instrumental autoshaped memory // *Learn Mem.* 2003;(10):363–372. Doi: 10.1101/lm.60503.
32. Fligel S. B., Clark J. J., Robinson T. E., Mayo L., Czuj A., Willuhn I. et al. A selective role for dopamine in stimulus-reward learning // *Nature.* 2011;(469):53–59. Doi: 10.1038/nature09588.
33. Fraser K. M., Haight J. L., Gardner E. L., Fligel S. B. Examining the role of dopamine D2 and D3 receptors in Pavlovian conditioned approach behaviors // *Behav Brain Res.* 2016;(305):87–99. Doi: 10.1016/j.bbr.2016.02.022.

Информация об авторах

Савченко Артем Александрович, аспирант кафедры фармакологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия); **Суханов Илья Михайлович**, доктор медицинских наук, зав. лабораторией фармакологии поведения отдела психофармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-9251-9923; **Улитина Анна Сергеевна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории медицинской генетики отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия); **Драволina Ольга Андреевна**, кандидат биологических наук, зав. лабораторией экспериментальной фармакологии аддиктивных состояний отдела психофармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-7100-7857; **Белозерцева Ирина Владимировна**, кандидат биологических наук, зав. отделом психофармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-8572-3600; **Емельянов Антон Константинович**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории медицинской генетики отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия); **Звартау Эдвин Эдуардович**, доктор медицинских наук, профессор, директор Института фармакологии им. А. В. Вальдмана, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-3597-7482.

Information about authors

Savchenko Artem A., Postgraduate Student of the Department of Pharmacology, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); **Sukhanov Ilya M.**, Dr. of Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Behavioral Pharmacology of the Department of Psychopharmacology of the Institute of Pharmacology named after A. V. Valdman, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-9251-9923; **Ulitina Anna S.**, Cand. of Sci. (Med.), Senior Research Fellow at the Laboratory of Medical Genetics of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); **Dravolina Olga A.**, Cand. of Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology of Addictive States of the Department of Psychopharmacology of the Institute of Pharmacology named after A. V. Valdman, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-7100-7857; **Belozertseva Irina V.**, Cand. of Sci. (Biol.), Head of the Department of Psychopharmacology of the Institute of Pharmacology named after A. V. Valdman, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-8572-3600; **Emelianov Anton K.**, Cand. of Sci. (Biol.), Senior Research Fellow at the Laboratory of Medical Genetics of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); **Zvartau Edwin E.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Director of the Institute of Pharmacology named after A. V. Valdman, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-3597-7482.



© CC Коллектив авторов, 2022
УДК [578.834.1:616-005.1-08] : 530.145.6
DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-28-36

О. В. Сироткина¹⁻³, А. С. Улитина^{1*}, Д. Г. Кулабухова^{1,2}, М. А. Николаев^{1,2},
А. Д. Изюмченко², Л. А. Гараева², И. В. Шлык¹, Е. Г. Гаврилова¹, Ю. С. Полушин¹,
С. Н. Пчелина^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики имени Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

КОРРЕЛЯЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ И РАЗМЕРОМ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МИКРОЧАСТИЦ ПЛАЗМЫ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Поступила в редакцию 13.04.2022 г.; принята к печати 27.04.2022 г.

Резюме

Введение. В последние годы большое внимание уделяется изучению внеклеточных микрочастиц — микровезикул и экзосом — и их роли в патогенезе заболеваний человека.

Цель — проанализировать количество и размеры внеклеточных микрочастиц плазмы крови (ВМЧПК) у пациентов с COVID-19 тяжелого и крайне тяжелого течения и сопоставить эти параметры с лабораторными маркерами активации гемостаза, воспаления и повреждения тканей.

Методы и материалы. В исследование были включены 29 пациентов с COVID-19 тяжелого и крайне тяжелого течения. Концентрацию и размеры ВМЧПК определяли методом анализа траекторий наночастиц (nanoparticle trajectory analysis, NTA). Пациентам выполняли общий клинический анализ крови и тромбоэластометрию (ТЭМ), а также оценивали в крови коагулологические, биохимические и иммунологические показатели, включая фибриноген, протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время, D-димер, С-реактивный белок, лактатдегидрогеназу, прокальцитонин, антиген фактора Виллебранда, интерлейкины-6 и -18.

Результаты. Были выписаны из отделения реанимации и интенсивной терапии с улучшением 14 (48,3%) пациентов (группа 1 — выжившие), а 15 (51,7%) пациентов умерли (группа 2 — летальный исход); концентрация ВМЧПК между этими группами не различалась. В группе 2 была выявлена гетерогенность размера ВМЧПК, а также тенденция к увеличению размера ВМЧПК ($p = 0,074$). Среди всех обследованных пациентов концентрация ВМЧПК обратно коррелировала с протромбиновым временем и числом крупных тромбоцитов, а размер ВМЧПК обратно коррелировал с уровнем антигена фактора Виллебранда и имел прямую корреляцию с фибриногеном. В группе 1 концентрация ВМЧПК имела прямую корреляцию с интерлейкином-18 и максимальным лизисом тромба при ТЭМ, а размер ВМЧПК прямо коррелировал с максимальным лизисом тромба при ТЭМ и обратно коррелировал с прокальцитонином и максимальной плотностью сгустка при ТЭМ.

Заключение. Проведенное исследование подтверждает важность процесса образования внеклеточных микрочастиц в патогенезе новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и согласуется с гипотезой о том, что параметры пула ВМЧПК могут являться прогностическими биомаркерами степени тяжести COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, новая коронавирусная инфекция, внеклеточные микрочастицы, экзосомы, система свертывания крови, система гемостаза

Для цитирования: Сироткина О. В., Улитина А. С., Кулабухова Д. Г., Николаев М. А., Изюмченко А. Д., Гараева Л. А., Шлык И. В., Гаврилова Е. Г., Полушин Ю. С., Пчелина С. Н. Корреляция лабораторных маркеров активации системы гемостаза с концентрацией и размером внеклеточных микрочастиц плазмы крови у пациентов с COVID-19. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2022;29(1):28–36. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-28-36.

* Автор для связи: Анна Сергеевна Улитина, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. E-mail: anna.s.ulitina@yandex.ru.

Olga V. Sirotkina¹⁻³, Anna S. Ulitina^{1*}, Darya G. Kulabukhova^{1,2}, Mikhail A. Nikolaev^{1,2}, Artem D. Izumchenko², Luiza A. Garaeva², Irina V. Shlyk¹, Elena G. Gavrilova¹, Yury S. Polushin¹, Sofya N. Pchelina^{1,2}

¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

² Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia

³ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

CORRELATION OF LABORATORY MARKERS OF HEMOSTATIC SYSTEM ACTIVATION WITH CONCENTRATION AND SIZE OF PLASMA EXTRACELLULAR MICROPARTICLES IN PATIENTS WITH COVID-19

Received 13.04.2022; accepted 27.04.2022

Summary

Introduction. In recent years, much attention has been paid to the study of extracellular microparticles (microvesicles and exosomes) and their role in the pathogenesis of human diseases.

The objective of this study was to determine the number and size of plasma extracellular microparticles (PEMP) in patients with severe and extremely severe COVID-19 and correlate these data with the markers of hemostasis activation, inflammation, and tissue damage.

Methods and Materials. The study included 29 patients with severe and extremely severe COVID-19. Concentration and size of PEMP were determined by nanoparticle trajectory analysis (NTA). All patients underwent the complete blood count and the thromboelastometry (TEM). Hemostatic, biochemical, and immunological parameters were assessed including fibrinogen, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, D-dimer, C-reactive protein, lactate dehydrogenase, procalcitonin, von Willebrand factor antigen, interleukin 6, and interleukin 18.

Results. There were 14 patients (48.3 %) discharged from the ICU with improvement (group 1 – survived patients), and 15 patients (51.7 %) with lethal outcomes (group 2 – lethal outcome); the PEMP concentration did not differ between these groups. In group 2, there were heterogeneity of PEMP population, and a tendency to the larger PEMP size ($p=0.074$). In all patients, the PEMP concentration correlated negatively with both prothrombin time and the number of large platelets; the size of PEMP correlated negatively with the level of von Willebrand factor antigen, and positively with the fibrinogen. In group 1, the PEMP concentration had a direct correlation with both the level of interleukin 18 and maximum clot lysis in TEM; the PEMP size had a direct correlation with the maximum clot lysis in TEM and an inverse correlation with both the level of procalcitonin and maximum clot density in TEM.

Conclusion. Our study confirms the importance of the process of extracellular microparticles formation in the COVID-19 pathogenesis. Our findings are consistent with the hypothesis that the parameters of PEMP population can be predictive biomarkers of the COVID-19 severity.

Keywords: COVID-19, novel coronavirus infection, extracellular microparticles, exosomes, blood coagulation system, hemostatic system

For citation: Sirotkina O. V., Ulitina A. S., Kulabukhova D. G., Nikolaev M. A., Izumchenko A. D., Garaeva L. A., Shlyk I. V., Gavrilova E. G., Polushin Yu. S., Pchelina S. N. Correlation of laboratory markers of hemostatic system activation with concentration and size of plasma extracellular microparticles in patients with COVID-19. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2022;29(1):28–36. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-28-36.

* **Corresponding author:** Anna S. Ulitina, Pavlov University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: anna.s.ulitina@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы большое внимание уделяется изучению внеклеточных микрочастиц — микровезикул и экзосом — и их роли в патогенезе различных заболеваний человека, таких как сердечно-сосудистая патология, нейродегенеративные процессы, онкопатология, гематологические синдромы, воспалительные заболевания [1]. Многие исследования посвящены анализу внеклеточных микрочастиц у пациентов с инфекционными заболеваниями, в том числе вызываемыми вирусом иммунодефицита человека (HIV-1), герпесвирусами (EBV, HSV-1, CMV), вирусом гепатита С (HCV), коронавирусами (MERS-CoV, SARC-CoV, SARS-CoV-2) [2, 3]. С начала пандемии новой коронавирусной инфекции внеклеточные микрочастицы плазмы крови (ВМЧПК) у пациентов с COVID-19 обсуждаются как с точки зрения

их инфекционной опасности, промотирования заражения и распространения коронавирусной инфекции [2], так и как потенциальные терапевтические агенты [4–6]. Ранее мы показали увеличение количества ВМЧПК тромбоцитарного и лейкоцитарного происхождения у пациентов с COVID-19, госпитализированных в состоянии средней тяжести [7, 8]. Одним из патогенетических механизмов развития осложнений при COVID-19 выступает активация системы свертывания крови. Коагулопатия при коронавирусной инфекции включает в себя активацию клеток крови вследствие цитокинового шторма, образование экстрацеллюлярных нейтрофильных ловушек (neutrophil extracellular traps, NETs), высвобождение тканевого фактора и активацию гемостаза [9]. В настоящее время доказано, что активированные лейкоциты, тромбоциты, эритроциты и эндотелиоциты могут

Таблица 1

Общая характеристика обследованных пациентов с COVID-19

Table 1

General characteristic of the examined patients with COVID-19

Параметр	Группа 1, выжившие (n = 14)	Группа 2, летальный исход (n = 15)	p
Мужчины/женщины	10/4	12/3	0,682
Возраст, лет	(59,6±8,8)	(59,5±11,4)	0,977
Шкала SOFA при поступлении, баллы	3 [2; 3]	3 [2; 4]	0,482
Степень поражения легких на момент начала госпитализации, по данным компьютерной томографии	3 [3; 4]	3 [2; 4]	0,983
Искусственная вентиляция легких, ч	0 [0; 30]	145 [107; 289]	<0,001
Длительность госпитализации, дни	20 [14; 25]	15 [11; 29]	0,533
Концентрация ВМЧПК, ·10 ¹³ /мл	6,1 [4,9; 9,1]	6,4 [1,6; 9,0]	0,683
Размер ВМЧПК, нм	94,0 [85,0; 99,7]	100,0 [96,0; 104,3]	0,074

Примечание: SOFA – sequential organ failure assessment.

формировать пул ВМЧПК, участвующих в передаче сигнальных молекул от клетки к клетке [10, 11]; при этом обсуждается, что маркерами тяжести течения COVID-19 могут выступать показатели гемостаза (протромбиновое время (ПВ), международное нормализованное отношение (МНО), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), D-димер, фибриноген, количество тромбоцитов) и провоспалительные белки (С-реактивный белок, интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-18 (ИЛ-18), прокальцитонин, лактатдегидрогеназа) [12].

Принимая во внимание все вышеизложенное, мы выполнили данную работу с целью анализа количества и размеров ВМЧПК у пациентов с COVID-19 тяжелого и крайне тяжелого течения и сопоставления этих параметров с лабораторными маркерами активации гемостаза, воспаления и повреждения тканей.

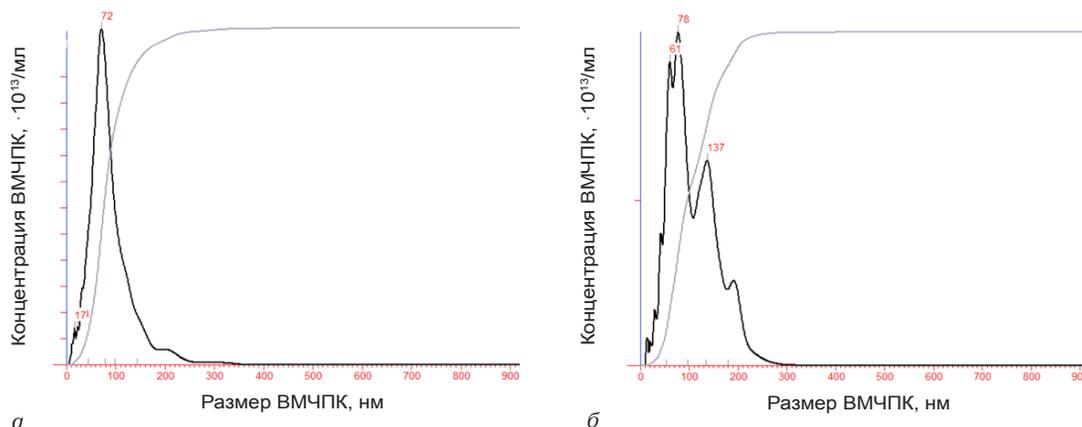
МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

В исследование были включены 29 пациентов с COVID-19 тяжелого и крайне тяжелого течения, находившихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) ПСПбГМУ им. И. П. Павлова в период с ноября по декабрь 2020 г., из них 22 (75,9%) мужчины и 7 (24,1%) женщин в возрасте от 38 до 75 лет (средний возраст – (59,6±10,0) года). Участникам исследования при поступлении в ОРИТ выполняли общий клинический анализ крови и тромбоэластометрию (ТЭМ), а также оценивали в крови коагулологические, биохимические и иммунологические показатели, включая фибриноген, С-реактивный белок, лактатдегидрогеназу, прокальцитонин, ПВ, АЧТВ, D-димер, антиген фактора Виллебранда, ИЛ-6, ИЛ-18.

Концентрацию и размеры ВМЧПК определяли при поступлении пациента в ОРИТ методом

анализа траекторий наночастиц (nanoparticle trajectory analysis, NTA). Для этого плазму периферической крови, полученную путем центрифугирования 4 мл цельной венозной крови в течение 20 мин при 2000 g при комнатной температуре, подвергали последовательному ультрацентрифугированию по протоколу, описанному ранее [13]: центрифугировали 1 ч при 4 °C при 16 000 g для удаления клеточного дебриса, далее супернатант смешивали с фосфатным буферным солевым раствором (PBS) в соотношении 1:1 и центрифугировали 2 ч при 4 °C при 100 000 g. Параметры ВМЧПК в полученных препаратах оценивали на приборе для NTA NanoSight® LM10 (Malvern Instruments, Великобритания), оснащенном синим лазером (45 мВт при 488 нм) и камерой C11440-5B (Hamamatsu Photonics, Япония). Результаты записывали и анализировали с помощью программного обеспечения «NTA 2.3». При анализе записей длительностью 60 с оценивали следующие параметры ВМЧПК: средний гидродинамический диаметр (нм) и концентрация ВМЧПК в суспензии (частиц/мл).

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программного пакета «Statistica 10 for Windows» (StatSoft, США). Количественные переменные проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка. Нормально распределенные переменные представляли в виде (M±m), где M – среднее арифметическое, m – стандартное отклонение; прочие количественные переменные представляли в виде «Me [Q25; Q75]», где Me – медиана, Q – квартили. Использовали непараметрические методы статистики: критерий Манна – Уитни для сравнения двух независимых выборок, коэффициент корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при p<0,05.



Примеры типичных гистограмм распределения внеклеточных микрочастиц плазмы крови по размеру у пациентов с COVID-19: а – выживший пациент; б – пациент с летальным исходом
Examples of typical size distribution histograms of plasma extracellular microparticles in COVID-19 patients: а – survived patient; б – patient with lethal outcome

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Длительность госпитализации пациентов в ОРИТ составила от 2 до 75 дней, в среднем – 18 [14; 25] дней. Были выписаны из отделения реанимации и интенсивной терапии с улучшением 14 (48,3 %) пациентов (группа 1 – выжившие), а 15 (51,7 %) пациентов умерли (группа 2 – летальный исход). Общая характеристика обследованных пациентов с COVID-19 приведена в табл. 1.

Концентрация ВМЧПК в группах 1 и 2 не различалась. Была отмечена тенденция к увеличению размера ВМЧПК в группе 2, однако различия не достигли уровня статистической значимости ($p=0,074$). При анализе первичных данных НТА была выявлена гетерогенность пула ВМЧПК в группе 2 по сравнению с группой 1: на гистограмме распределения ВМЧПК по размеру у выживших пациентов, как правило, наблюдался один пик, тогда как у пациентов с летальным исходом – несколько пиков, свидетельствовавших о наличии ВМЧПК разного размера (рисунок).

Параметры общего клинического анализа крови и состояния системы гемостаза, а также молекулярные маркеры воспаления и повреждения тканей у обследованных пациентов, оцененные на момент поступления в ОРИТ, приведены в табл. 2.

Уровни фибриногена, D-димера, антигена фактора Виллебранда, лактатдегидрогеназы, С-реактивного белка, прокальцитонина, ИЛ-6 и ИЛ-18 существенно превышали верхнюю границу референтного интервала у всех обследованных пациентов с COVID-19 независимо от исхода заболевания; при этом только уровни лактатдегидрогеназы и прокальцитонина были статистически значимо выше в группе 2 по сравнению с группой 1 ($p=0,018$ и $p=0,026$ соответственно).

В общем клиническом анализе крови среди всех обследованных лиц наблюдались изменения, характерные для коронавирусной инфекции: повышение уровней лейкоцитов и нейтрофилов при

одновременном снижении уровня лимфоцитов; при этом в группе 2 уровни лейкоцитов и лимфоцитов были статистически значимо ниже, чем в группе 1 ($p=0,033$ и $p=0,010$ соответственно).

Параметры ТЭМ в группах 1 и 2 не различались.

Среди всех обследованных пациентов концентрация ВМЧПК имела обратную корреляцию с ПВ и числом крупных тромбоцитов, %: $R=-0,378$ ($p=0,043$) и $R=-0,373$ ($p=0,047$) соответственно; размер ВМЧПК обратно коррелировал с уровнем антигена фактора Виллебранда – $R=-0,505$ ($p=0,020$) и имел прямую корреляцию с уровнем фибриногена – $R=0,534$ ($p=0,003$). При этом положительная корреляция размера ВМЧПК с уровнем фибриногена сохранялась в группе 2 – $R=0,551$ ($p=0,033$), но не наблюдалась в группе 1.

У выживших пациентов концентрация ВМЧПК имела прямую корреляцию с уровнем ИЛ-18 и максимальным лизисом тромба при ТЭМ: $R=0,714$ ($p=0,004$) и $R=0,748$ ($p=0,020$) соответственно; размер ВМЧПК также имел прямую корреляцию с максимальным лизисом тромба при ТЭМ – $R=0,706$ ($p=0,034$) и обратную корреляцию с уровнем прокальцитонина и максимальной плотностью сгустка при ТЭМ: $R=-0,653$ ($p=0,011$) и $R=-0,689$ ($p=0,040$) соответственно.

Выявленные нами изменения в общем клиническом анализе крови, а также высокие уровни маркеров воспаления и активации системы гемостаза у пациентов с COVID-19 согласуются с данными зарубежных авторов [12, 14 – 16], которые отмечали такие нарушения со стороны крови на фоне коронавирусной инфекции. Более того, есть основания рассматривать ряд показателей биохимического анализа крови, оцененных нами в рамках данной работы, как прогностические биомаркеры степени тяжести течения COVID-19. А именно: в нашем исследовании у пациентов группы 2, по сравнению с выжившими пациентами, был детектирован более высокий уровень лактатдегидрогеназы – фермента, повышенный уровень которого, по данным

Таблица 2

Лабораторные показатели у обследованных пациентов с COVID-19: параметры общего клинического анализа крови и системы гемостаза, маркеры воспаления и повреждения тканей

Table 2

Laboratory parameters in the examined patients with COVID-19: parameters of complete blood count and hemostatic system, markers of inflammation and tissue damage

Параметр	Группа 1, выжившие (n = 14)	Группа 2, летальный исход (n = 15)	Референтный интервал
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	12,77 [7,28; 16,83]*	7,03 [5,78; 11,75]*	4,00 – 8,80
Нейтрофилы, %	88,1 [83,3; 91,0]	89,0 [85,7; 92,7]	46,0 – 72,0
Лимфоциты, %	7,3 [5,1; 10,3]*	5,9 [4,9; 10,6]*	18,0 – 40,0
Моноциты, %	4,4 [2,3; 6,1]	4,1 [2,0; 5,3]	0,0 – 9,0
Эозинофилы, %	0	0	0,0 – 5,0
Базофилы, %	0,2 [0,1; 0,4]	0,3 [0,2; 0,3]	0,0 – 1,0
Нейтрофилы, $\cdot 10^9/\text{л}$	11,05 [6,62; 15,36]	6,16 [5,31; 10,33]	2,20 – 4,80
Лимфоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,95 [0,60; 1,20]*	0,60 [0,30; 0,80]*	1,2 – 2,5
Моноциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,55 [0,28; 0,64]	0,29 [0,12; 0,44]	0,09 – 0,60
Эозинофилы, $\cdot 10^9/\text{л}$	0	0	0,000 – 0,300
Базофилы, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,03 [0,02; 0,04]	0,02 [0,01; 0,03]	0,000 – 0,065
Эритроциты, $\cdot 10^{12}/\text{л}$	4,5 [4,30; 5,10]	4,7 [4,3; 5,1]	4,1 – 5,1
Гемоглобин, г/л	143 [135; 157]	139 [126; 159]	132 – 164
Средний объем эритроцита, фл.	94,4 [87,4; 99,0]	92,6 [90,3; 95,5]	85,0 – 105,0
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	30,3 [28,5; 32,0]	30,5 [29,2; 31,2]	24,0 – 33,0
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	322 [317; 329]	325 [317; 328]	300 – 380
Индекс распределения эритроцитов по объему, фл.	46,3 [42,4; 47,1]	44,3 [41,4; 47,9]	33,4 – 49,2
Тромбоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	273 [214; 316]	217 [147; 271]	150 – 400
Средний объем тромбоцита, фл.	10,0 [9,5; 10,7]	10,3 [9,3; 11,0]	7,4 – 10,4
Фибриноген, г/л	5,79 [5,05; 6,95]	5,75 [5,22; 7,31]	1,80 – 3,50
Активированное частичное тромбопластиновое время, с	34,1 [29,8; 42,7]	33,5 [29,5; 40,2]	27,0 – 37,0
Протромбиновое время, с	10,9 [10,4; 11,5]	11,4 [10,9; 12,2]	11,5 – 14,5
Д-димер, мкг/л	695 [357; 1178]	1141 [448; 2510]	<500
Антиген фактора Виллебранда, ед./мл	2,65 [2,30; 3,12]	2,44 [2,25; 2,58]	0,50 – 1,50
Лактатдегидрогеназа, ед./л	350 [304; 536]*	573 [500; 751]*	0,0 – 248,0
С-реактивный белок, мг/л	142,6 [103,4; 191,5]	138,5 [79,5; 202,4]	0,01 – 5,00
Прокальцитонин, мкг/л	0,108 [0,097; 0,169]*	0,287 [0,125; 0,307]*	<0,000
Интерлейкин-6, пг/мл	20,69 [9,53; 100,26]	27,80 [17,50; 55,64]	<10,00
Интерлейкин-18, пг/мл	587,94 [496,65; 803,58]	663,87 [587,00; 1195,25]	<270,00

* – $p < 0,05$.

метаанализа В. Henry et al. [17], в 6 раз увеличивает вероятность тяжелого течения коронавирусной инфекции и в 16 раз увеличивает вероятность смерти от нее. Оценка уровня лактатдегидрогеназы предложена как экспресс-тест для широкого применения в клинической практике, позволяющий выделить категорию пациентов с COVID-19, нуждающихся в повышенном внимании медицинского персонала, и в итоге повысить эффективность и безопасность терапии, минимизировать риск летального исхода [18]. Также мы выявили у лиц с неблагоприятным исходом COVID-19 более

высокий уровень прокальцитонина – пептида, повышенный уровень которого, по данным метаанализа G. Lippi и M. Plebani [19], ассоциирован с тяжелым течением коронавирусной инфекции.

Размер большинства проанализированных нами ВМЧПК не превышал 100 нм, что может указывать на их принадлежность к экзосомам, биогенез которых активно обсуждается при инфекционных заболеваниях, в том числе при COVID-19 [20]. В. Krishnamachary et al. (2020) [21] наблюдали у пациентов с тяжелым течением COVID-19, по сравнению с бессимптомным протеканием болезни

или течением средней тяжести, преимущественно микрочастицы малого размера, т. е. экзосомы; указанные авторы также показали, что крупные частицы у пациентов с тяжелым течением COVID-19 несут на своей поверхности молекулы тканевого фактора и содержат такие провоспалительные цитокины, как TNF- α , IL-6, MCP-1, MCP-3, CXCL10, CXCL16. В нашей работе у пациентов группы 2 размер ВМЧПК имел тенденцию к увеличению, а гетерогенный по размеру пул ВМЧПК в этой группе и прямая корреляция размера ВМЧПК с уровнем фибриногена, который не только является одним из ключевых факторов свертывания, но и выступает как «белок стресса», повышающийся при воспалении, подтверждают результаты зарубежных коллег и позволяют сделать предположение о различных путях активации клеток и формировании разных пулов ВМЧПК в зависимости от особенностей течения COVID-19. Следует отметить, что гетерогенность пула ВМЧПК по размеру может быть отличительным признаком пациентов с COVID-19 [22].

Выявленные нами корреляции концентрации и размера ВМЧПК с параметрами, характеризующими состояние системы гемостаза, полностью согласуются с данными E. Barberis et al. (2021) [23], которые провели протеомный анализ экзосом пациентов с COVID-19 разной степени тяжести и здоровых добровольцев и показали высокое содержание биоактивных молекул, вовлеченных в регуляцию гемостаза при COVID-19; при этом и внешний, и внутренний пути коагуляционного каскада, и система свертывания крови в целом в большей степени были активированы у пациентов в критическом состоянии.

В настоящее время поиск ранних предикторов тяжелого течения COVID-19 с использованием анализа ВМЧПК является одним из ключевых направлений исследований; в данном контексте анализируют и белки, ассоциированные с микрочастицами, и различные регуляторные РНК, которые могут участвовать в микровезикулярном транспорте [24]. Активно изучается целый ряд биомаркеров, которые могут выступать предикторами тяжелого течения COVID-19, в том числе γ -фибриноген, С-реактивный белок, ассоциированные с экзосомами белки (СОРВ2, KRAS, PRKCM, RHOС, CD147, CAPN2, ECM1, MFAP4), микроРНК (miR-122-5p, miR-21-5p, miR-140-3p) [24].

ВЫВОДЫ

1. Процесс микровезикуляции клеток играет важную роль в патогенезе новой коронавирусной инфекции.

2. Характеристики внеклеточных микрочастиц, а именно — увеличение их среднего гидродинамического диаметра и гетерогенность пула по диаметру, могут являться неблагоприятными прогности-

ческими биомаркерами степени тяжести течения COVID-19.

3. Целесообразно проведение дальнейших исследований внеклеточных микрочастиц плазмы крови для анализа их концентрации и размеров, а также сопоставления этих параметров с лабораторными маркерами активации гемостаза, воспаления и повреждения тканей в увеличенных выборках пациентов с COVID-19, стратифицированных по полу и возрасту.

4. Повышенные уровни лактатдегидрогеназы или (и) прокальцитонина в плазме крови могут являться прогностическими биомаркерами повышенного риска летального исхода COVID-19.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке РФФИ № 20-04-00257.

Financing

The study is supported by RFBR № 20-04-00257.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kalluri R., LeBleu V. S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*. – 2020. – Vol. 367, № 6478. – P. E6977. Doi: 10.1126/science.aau6977.
2. The role of extracellular vesicles in COVID-19 virus infection / M. Hassanpour, J. Rezaie, M. Nouri, Y. Panahi // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2020. – Vol. 85. – P. 104422. Doi: 10.1016/j.meegid.2020.104422.
3. Nomura S., Taniura T., Ito T. Extracellular Vesicle-Related Thrombosis in Viral Infection // *Int. J. Gen. Med.* – 2020. – Vol. 13. – P. 559–568. Doi: 10.2147/IJGM.S265865.
4. Bari E., Ferrarotti I., Saracino L. et al. Mesenchymal Stromal Cell Secretome for Severe COVID-19 Infections: Premises for the Therapeutic Use // *Cells*. – 2020. – Vol. 9, № 4. – P. 924. Doi: 10.3390/cells9040924.
5. Bulut Ö., Gürsel İ. Mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles: promising immunomodulators against autoimmune, autoinflammatory disorders and SARS-CoV-2 infection // *Turk. J. Biol.* – 2020. – Vol. 44, № 3. – P. 273–282. Doi: 10.3906/biy-2002-79.
6. Sengupta V., Sengupta S., Lazo A. et al. Exosomes Derived from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells as

Treatment for Severe COVID-19 // *Stem. Cells Dev.* – 2020. – Vol. 29, № 12. – P. 747–754. Doi: 10.1089/scd.2020.0080.

7. Сироткина О. В., Ермаков А. И., Гайковская Л. Б. и др. Микрочастицы клеток крови у больных COVID-19 как маркер активации системы гемостаза // *Тромбоз, гемостаз и реология.* – 2020. – Т. 4. – С. 35–40. Doi: 10.25555/THR.2020.4.0943.

8. Сироткина О. В., Ермаков А. И., Жиленкова Ю. И. и др. Динамика образования микровезикул клеток крови у больных COVID-19 на разных стадиях заболевания // *Профилактическая и клиническая медицина.* – 2021. – Т. 4, № 81. – С. 68–74. Doi: 10.47843/2074-9120_2021_4_68.

9. Colling M. E., Kanthi Y. COVID-19-associated coagulopathy: An exploration of mechanisms. *Vascular Medicine.* – 2020. – Vol. 25, № 5. – С. 471–478. Doi: 10.1177/1358863X20932640.

10. Budaj M., Poljak Z., Đuriš I. et al. Microparticles: a component of various diseases. *Pol. Arch. Med. Wewn.* – 2012. – Vol. 122, № 1. – P. 24–29. Doi: 10.20452/pamw.1489

11. Stahl P. D., Raposo G. Extracellular Vesicles: Exosomes and Microvesicles, Integrators of Homeostasis // *Physiology (Bethesda).* – 2019. – Vol. 34, № 3. – P. 169–177. Doi: 10.1152/physiol.00045.2018.

12. Jin X., Duan Y., Bao T. et al. The values of coagulation function in COVID-19 patients. *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, № 10. – P. E0241329. Doi: 10.1371/journal.pone.0241329

13. Isolation and Characterization of Exosomes from Cell Culture Supernatants and Biological Fluids / C. Théry, S. Amigorena, G. Raposo, A. Clayton // *Current protocols in cell biology.* – 2006. – Vol. 3, № 3. – P. 22. Doi: 10.1002/0471143030.cb0322s30

14. Karimi S. M., Niazkar H. R., Rad F. COVID-19 and hematology findings based on the current evidences: A puzzle with many missing pieces // *Int. J. Lab. Hematol.* – 2021. – Vol. 43, № 2. – P. 160–168. Doi: 10.1111/ijlh.13412.

15. Gong J., Ou J., Qiu X. et al. A Tool to Early Predict Severe Corona Virus Disease 2019 (COVID-19): A Multicenter Study using the Risk Nomogram in Wuhan and Guangdong, China. *Clin Infect Dis.* – 2020. – Vol. 443. Doi: 10.1093/cid/ciaa443.

16. Mo P., Xing Y., Xiao Y. et al. Clinical Characteristics of Refractory Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China // *Clinical Infectious Diseases.* – 2021. – Vol. 73, № 11. – P. E4208–E4213. Doi: 10.1093/cid/ciaa270.

17. Henry B. M., Aggarwal G., Wong J. et al. Lactate dehydrogenase levels predict coronavirus disease 2019 (COVID-19) severity and mortality: A pooled analysis // *Am J Emerg Med.* – 2020. – Vol. 38, № 9. – P. 1722–1726. Doi: 10.1016/j.ajem.2020.05.073

18. Bartziokas K., Kostikas K. Lactate dehydrogenase, COVID-19 and mortality. *Med Clin (Engl Ed).* – 2021. – Vol. 156, № 1. – P. 37. Doi: 10.1016/j.medcle.2020.07.017.

19. Lippi G., Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis // *Clin Chim Acta.* – 2020. – Vol. 505. – P. 190–191. Doi: 10.1016/j.cca.2020.03.004.

20. Exosomes and COVID-19: challenges and opportunities / G. Babaei, N. Zare, A. Mihanfar, M. H. K. Ansari // *Comp. Clin. Path.* – 2022. – P. 1–8. Doi: 10.1007/s00580-021-03311-3.

21. Krishnamachary B., Cook C., Spikes L. et al. The Potential Role of Extracellular Vesicles in COVID-19 Associated Endothelial injury and Pro-inflammation // *medRxiv.* – 2020. – Vol. 08, № 27. – P. 20182808. Doi: 10.1101/2020.08.27.20182808.

22. Sun B., Tang N., Peluso M. J. et al. Characterization and Biomarker Analyses of Post-COVID-19 Complications and Neurological Manifestations // *Cells.* – 2021. – Vol. 10, № 2. – P. 386. Doi: 10.3390/cells10020386.

23. Barberis E., Vanella V. V., Falasca M. et al. Circulating Exosomes Are Strongly Involved in SARS-CoV-2 Infection // *Front. Mol. Biosci.* – 2021. – Vol. 8. – P. 632290. Doi: 10.3389/fmolb.2021.632290. eCollection 2021.

24. Fujita Y., Hoshina T., Matsuzaki J. et al. Early prediction of COVID-19 severity using extracellular vesicle COPB2 // *J. Extracell. Vesicles.* – 2021. – Vol. 10, № 8. – P. E12092. Doi: 10.1002/jev2.12092.

REFERENCES

1. Kalluri R., LeBleu V. S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes // *Science* 2020; 367(6478):E6977. Doi: 10.1126/science.aau6977.

2. Hassanpour M., Rezaie J., Nouri M., Panahi Y. The role of extracellular vesicles in COVID-19 virus infection // *Infection, Genetics and Evolution.* 2020;(85):104422. Doi: 10.1016/j.meegid.2020.104422.

3. Nomura S., Taniura T., Ito T. Extracellular Vesicle-Related Thrombosis in Viral Infection // *Int. J. Gen. Med.* 2020;(13):559–568. Doi: 10.2147/IJGM.S265865.

4. Bari E., Ferrarotti I., Saracino L., Perteghella S., Torre M. L., Corsico A. G. Mesenchymal Stromal Cell Secretome for Severe COVID-19 Infections: Premises for The Therapeutic Use // *Cells.* 2020;9(4):924. Doi: 10.3390/cells9040924.

5. Bulut Ö., Gürsel İ. Mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles: promising immunomodulators against autoimmune, autoinflammatory disorders and SARS-CoV-2 infection // *Turk. J. Biol.* 2020;44(3):273–282. Doi: 10.3906/biy-2002-79.

6. Sengupta V., Sengupta S., Lazo A., Woods P., Nolan A., Bremer N. Exosomes Derived from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells as Treatment for Severe COVID-19 // *Stem Cells Dev.* 2020;29(12):747–754. Doi: 10.1089/scd.2020.0080.

7. Sirotkina O. V., Ermakov A. I., Gaykovaya L. B., Kudlay D. A., Vavilova T. V. Microparticles of blood cells in patients with COVID-19 as a marker of activation of the hemostasis system // *Thrombosis, hemostasis and rheology Trombos, hemostas i reologiya.* 2020;(4):35–40. (In Russ.).

8. Sirotkina O. V., Ermakov A. I., Zhilenkova Yu. I., Zolotova E. A., Kudlay D. A., Vavilova T. V., Gaykovaya L. B. Dynamics of microvesicle formation in blood in patients with COVID-19 at different stages of the disease // *Preventive and clinical medicine.* 2021;4(81):68–74. (In Russ.). Doi: 10.47843/2074-9120_2021_4_68.eng.

9. Colling M. E., Kanthi Y. COVID-19-associated coagulopathy: An exploration of mechanisms // *Vascular Medicine.* 2020;25(5):471–478. Doi: 10.1177/1358863X20932640

10. Budaj M., Poljak Z., Đuriš I., Kaško M., Imrich R., Kopáni M., Maruščáková L., Hulín I. Microparticles: a component of various diseases // *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2012; 122(1):24–29. Doi: 10.20452/pamw.1489.

11. Stahl P. D., Raposo G. Extracellular Vesicles: Exosomes and Microvesicles, Integrators of Homeostasis // *Physiology (Bethesda).* 2019;34(3):169–177. Doi: 10.1152/physiol.00045.2018.

12. Jin X., Duan Y., Bao T., Gu J., Chen Y., Li Y., Mao S., Chen Y., Xie W. The values of coagulation function in COVID-19 patients // *PLoS One.* 2020;15(10):E0241329. Doi: 10.1371/journal.pone.0241329.

13. Théry C., Amigorena S., Raposo G., Clayton A. Isolation and Characterization of Exosomes from Cell Culture Supernatants and Biological Fluids // *Current protocols in cell biology.* 2006;3(3):22. Doi: 10.1002/0471143030.cb0322s30

14. Karimi S. M., Niazkar H. R., Rad F. COVID-19 and hematology findings based on the current evidences: A puzzle with many missing pieces // *Int. J. Lab. Hematol.* 2021; 43(2):160–168. Doi: 10.1111/ijlh.13412.

15. Gong J., Ou J., Qiu X., Jie Y., Chen Y., Yuan L., Cao J., Tan M., Xu W., Zheng F., Shi Y., Hu B. A Tool to Early Predict Severe Corona Virus Disease 2019 (COVID-19): A Multicenter Study using the Risk Nomogram in Wuhan and Guangdong, China // *Clin Infect Dis*. 2020;443. Doi: 10.1093/cid/ciaa443.
16. Mo P., Xing Y., Xiao Y., Deng L., Zhao Q., Wang H., Xiong Y., Cheng Z., Gao S., Liang K., Luo M., Chen T., Song S., Ma Z., Chen X., Zheng R., Cao Q., Wang F., Zhang Y. Clinical Characteristics of Refractory Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China // *Clinical Infectious Diseases*. 2021; 73(11):E4208–E4213. Doi: 10.1093/cid/ciaa270.
17. Henry B. M., Aggarwal G., Wong J., Benoit S., Vikse J., Plebani M., Lippi G. Lactate dehydrogenase levels predict coronavirus disease 2019 (COVID-19) severity and mortality: A pooled analysis // *Am J Emerg Med*. 2020; 38(9):1722–1726. Doi: 10.1016/j.ajem.2020.05.073
18. Bartziokas K., Kostikas K. Lactate dehydrogenase, COVID-19 and mortality // *Med Clin (Engl Ed)*. 2021; 156(1):37. Doi: 10.1016/j.medcle.2020.07.017
19. Lippi G., Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis // *Clin Chim Acta*. 2020;(505):190–191. Doi: 10.1016/j.cca.2020.03.004.
20. Babaei G., Zare N., Mihanfar A., Ansari M. H. K. Exosomes and COVID-19: challenges and opportunities // *Comp Clin Path*. 2022:1–8. Doi: 10.1007/s00580-021-03311-3.
21. Krishnamachary B., Cook C., Spikes L., Chalise P., Dhillon N. K. The Potential Role of Extracellular Vesicles in COVID-19 Associated Endothelial injury and Pro-inflammation. *medRxiv*. 2020;08(27):20182808. Doi: 10.1101/2020.08.27.20182808.
22. Sun B., Tang N., Peluso M. J., Iyer N. S., Torres L., Donatelli J. L., Munter S. E., Nixon C. C., Rutishauser R. L., Rodriguez-Barrquer I., Greenhouse B., Kelly J. D., Martin J. N., Deeks S. G., Henrich T. J., Pulliam L. Characterization and Biomarker Analyses of Post-COVID-19 // Complications and Neurological Manifestations. *Cells*. 2021;10(2):386. Doi: 10.3390/cells10020386.
23. Barberis E., Vanella V. V., Falasca M., Caneperio V., Cappellano G., Raineri D., Ghirimoldi M., De Giorgis V., Puricelli C., Vaschetto R., Sainaghi P.P., Bruno S., Sica A., Dianzani U., Rolla R., Chiochetti A., Cantaluppi V., Baldanzi G., Marengo E., Manfredi M. Circulating Exosomes Are Strongly Involved in SARS-CoV-2 Infection // *Front. Mol. Biosci*. 2021;(8):632290. Doi: 10.3389/fmolb.2021.632290. eCollection 2021
24. Fujita Y., Hoshina T., Matsuzaki J., Yoshioka Y., Kadota T., Hosaka Y., Fujimoto S., Kawamoto H., Watanabe N., Sawaki K., Sakamoto Y., Miyajima M., Lee K., Nakaharai K., Horino T., Nakagawa R., Araya J., Miyato M., Yoshida M., Kuwano K., Ochiya T. Early prediction of COVID-19 severity using extracellular vesicle COPB2 // *J. Extracell. Vesicles*. 2021;10(8):E12092. Doi: 10.1002/jev2.12092.

Информация об авторах

Сироткина Ольга Васильевна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), профессор кафедры лабораторной медицины и генетики, Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-3594-1647; **Улитина Анна Сергеевна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-3011-1812; **Кулабухова Дарья Геннадьевна**, стажер-исследователь лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), младший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-9700-0095; **Николаев Михаил Андреевич**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0003-3011-1812; **Кулабухова Дарья Геннадьевна**, стажер-исследователь лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), младший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-1952-4678; **Измюченко Артем Дмитриевич**, старший лаборант лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0003-2919-1878; **Гараева Луиза Абдул-Азизовна**, младший научный сотрудник лаборатории биосинтеза белка, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0003-1219-073X; **Шлык Ирина Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии, зам. руководителя Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии, зам. главного врача по анестезиологии и реаниматологии, Первый Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-0977-8081; **Гаврилова Елена Геннадьевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии, зав. отделением реанимации и интенсивной терапии № 2 Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии, Первый Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-9126-3206; **Полушин Юрий Сергеевич**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, проректор по научной работе, зав. кафедрой анестезиологии и реаниматологии, руководитель Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии, Первый Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-6313-5856; **Пчелина Софья Николаевна**, доктор биологических наук, руководитель Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), зав. лабораторией молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0001-7431-6014.

Information about authors

Sirotkina Olga V., Dr. of Sci. (Biol.), Senior Research Fellow of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); Leading Research Fellow of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia); Professor of Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-3594-1647; **Ulitina Anna S.**, Cand. of Sci. (Med.), Senior Research Fellow of the Department of Molecular,

Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-3011-1812; **Kulabukhova Daria G.**, Research Assistant of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia); Junior Research Fellow of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-9700-0095; **Nikolaev Mikhail A.**, Junior Research Fellow of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia); Junior Research Fellow of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-1952-4678; **Izumchenko Artem D.**, Senior Laboratory Assistant of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0003-2919-1878; **Garaeva Luiza A.**, Junior Research Fellow of the Laboratory of Protein Biosynthesis, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0003-1219-073X; **Shlyk Irina V.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor of Anesthesiology and Intensive Care Department, Deputy Head of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care, Deputy Head Physician of University Clinic in Anesthesiology and Intensive Care, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-0977-8081; **Gavrilova Elena G.**, Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor of Anesthesiology and Intensive Care Department, Head of Anesthesiology and Intensive Care Department № 2 of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-9126-3206; **Polushin Yury S.**, Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Dr. of Sci. (Med.), Vice-Rector for Research, Head of Anesthesiology and Intensive Care Department, Head of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-6313-5856; **Pchelina Sofya N.**, Dr. of Sci (Biol.), Head of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); Head of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0001-7431-6014.



© CC BY Коллектив авторов, 2022
УДК [616.858-02 :577.088] : 575.117.2
DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-37-45

А. И. Безрукова^{1*}, К. С. Башарова¹, И. В. Милюхина^{2,3}, А. А. Тимофеева²,
К. А. Сенкевич², С. Н. Пчелина^{1,2}, Т. С. Усенко^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра „Курчатовский институт“», г. Гатчина, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт мозга человека имени Н. П. Бехтерева» Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

СНИЖЕННАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ НЕЙРОГЕНЕЗА КАК БИОМАРКЕР БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *GBA*: ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИЗА ДАННЫХ ТРАНСКРИПТОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Поступила в редакцию 04.03.2022 г.; принята к печати 27.04.2022 г.

Резюме

Цель исследования — проведение валидации результатов, полученных нами ранее в ходе анализа транскриптома первичной культуры макрофагов периферической крови пациентов с болезнью Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене лизосомного фермента глюкоцереброзидазы *GBA* (*GBA*-БП), в котором была выявлена сниженная экспрессия генов нейрогенеза *EGR1* (early growth response protein 1), *NR4A2* (nuclear receptor 4A2), *JUNB* (transcription factor jun-B) у пациентов с *GBA*-БП.

Методы и материалы. В исследование включены 14 пациентов с *GBA*-БП, 15 *GBA*-носителей, 30 пациентов с болезнью Паркинсона (БП) и 44 индивидуума контрольной группы. Оценка относительного уровня мРНК генов нейрогенеза *EGR1*, *NR4A2*, *JUNB* в мононуклеарах периферической крови проводилась методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием флуоресцентных зондов TaqMan или флуоресцентного ДНК-красителя EvaGreen.

Результаты. Относительный уровень мРНК гена *JUNB* в мононуклеарах периферической крови был понижен в группе пациентов с *GBA*-БП по сравнению с контрольной группой ($p=0,034$). Также было выявлено, что относительный уровень мРНК гена *NR4A2* в мононуклеарах периферической крови был повышен среди *GBA*-носителей, по сравнению с пациентами с *GBA*-БП, пациентами с БП и контролем ($p=0,0029$, $p=0,00045$, $p=0,0024$ соответственно). Статистически значимых различий в уровне мРНК гена *EGR1* между всеми исследуемыми группами выявлено не было ($p>0,05$).

Заключение. *GBA*-БП характеризуется пониженной экспрессией гена *JUNB* по сравнению с контролем и гена *NR4A2* относительно *GBA*-носителей.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, экспрессия генов, нейрогенез, мононуклеары периферической крови

Для цитирования: Безрукова А. И., Башарова К. С., Милюхина И. В., Тимофеева А. А., Сенкевич К. А., Пчелина С. Н., Усенко Т. С. Сниженная экспрессия генов нейрогенеза как биомаркер болезни Паркинсона у носителей мутаций в гене *GBA*: валидация анализа данных транскриптомного исследования. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2022;29(1):37–45. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-37-45.

* **Автор для связи:** Анастасия Игоревна Безрукова, НИЦ Курчатовский институт, 123182, Россия, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1. E-mail: bz.nastya96@gmail.com.

Anastasia I. Bezrukova^{1*}, Katerina S. Basharova¹, Irina V. Miliukhina^{2,3},
Alla A. Timofeeva², Konstantin A. Senkevich², Sofya N. Pchelina^{1,2}, Tatiana S. Usenko^{1,2}

¹ Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia

² Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

³ N. P. Bekhtereva Institute of the Human Brain, Saint Petersburg, Russia

REDUCED EXPRESSION OF NEUROGENESIS GENES AS BIOMARKERS OF PARKINSON'S DISEASE ASSOCIATED WITH MUTATIONS IN THE *GBA* GENE: VALIDATION OF THE DATA ANALYSIS OF TRANSCRIPTOME STUDY

Received 04.03.2022; accepted 27.04.2022

Summary

The **objective** of the study was to validate our previous results obtained during the transcriptome analysis of the primary culture of peripheral blood macrophages in patients with Parkinson's disease associated with mutations in the *GBA* gene (GBA-PD) in that reduced expression of the neurogenesis genes *EGR1* (early growth response protein 1), *NR4A2* (nuclear receptor 4A2), *JUNB* (transcription factor jun-B) in patients with GBA-PD.

Methods and materials. The study included 14 patients with GBA-PD, 15 GBA-carriers, 30 patients with Parkinson's disease (PD) and 44 persons of the control group. The assessment of relative mRNA level of neurogenesis genes *EGR1*, *NR4A2*, *JUNB* in peripheral blood mononuclear cells were carried out by real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) using TaqMan fluorescent probes or EvaGreen fluorescent DNA dye.

Results. Relative mRNA level of the *JUNB* gene in peripheral blood mononuclears was decreased in the group of patients with GBA-PD compared to controls ($p = 0.034$). We found out that the relative mRNA level of the *NR4A2* gene in peripheral blood mononuclears was increased in the group of patients with GBA-carriers compared to GBA-PD, patients with PD and controls ($p = 0.0029$, $p = 0.00045$, $p = 0.0024$ respectively). There were no statistically significant differences in the mRNA level of the *EGR1* gene between all the study groups ($p > 0.05$).

Conclusion. GBA-PD is characterized by reduced expression of the *JUNB* gene compared to control and of the *NR4A2* gene compared to GBA-carriers.

Keywords: Parkinson's disease, gene expression, neurogenesis, peripheral blood mononuclear cells

For citation: Bezrukova A. I., Basharova K. S., Miliukhina I. V., Timofeeva A. A., Senkevich K. A., Pchelina S. N., Usenko T. S. Reduced expression of neurogenesis genes as biomarkers of Parkinson's disease associated with mutations in the *GBA* gene: validation of the data analysis of transcriptome study. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2022;29(1):37–45. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-37-45.

* **Corresponding author:** Anastasia I. Bezrukova, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, 123182, Russia. E-mail: bz.nastya96@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное мультифакторное нейродегенеративное заболевание, в основе патогенеза которого лежит гибель дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга [1]. На сегодняшний день выявлено более 90 локусов, которые ассоциированы с риском БП [2]. Мутации в гене *GBA*, кодирующем лизосомный фермент β -глюкоцереброзидаза (GCase), являются фактором высокого риска БП с частотой встречаемости среди всех случаев БП от 5 до 20 % в зависимости от популяции [3]. В гомозиготном и гетерозиготном состоянии в компаунде мутации в гене *GBA* приводят к развитию самой распространенной лизосомной болезни накопления (ЛБН), болезни Гоше (БГ), за счет снижения активности лизосомного фермента GCase, и, как следствие, к накоплению его субстратов в лизосоме и последующей лизосомной дисфункции. БП, ассоциированная с мутациями в гене *GBA* (GBA-БП), является самой распространенной формой БП с известной этиологией. Но, несмотря на высокую частоту мутаций в гене *GBA* среди пациентов с БП, мутации в данном гене обладают низкой пенетрантностью. БП развивается только у 10 %

носителей мутаций в гене *GBA* в возрасте 60 лет, у 16 % в возрасте 70 лет и у 19 % в возрасте 80 лет [4]. Молекулярные механизмы GBA-БП остаются неизвестными. Актуальность поиска триггера развития данной формы заболевания обусловлена сложностью проведения медико-генетического консультирования носителей мутаций. Особенно важна ранняя диагностика развития БП у носителей мутаций в гене *GBA* в связи с разработкой таргетной терапии GBA-БП, которая в настоящее время проходит стадию клинических исследований [5].

Ранее мы впервые провели анализ транскриптома первичной культуры макрофагов у пациентов с GBA-БП и бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA* (GBA-носители), а также в контроле с целью выявления потенциальных биомаркеров БП в группе носителей мутаций в гене *GBA* [6]. В результате данного анализа нами было выявлено снижение дифференциальной экспрессии генов, вовлеченных в поддержание функций нейронов, в группе пациентов с GBA-БП, по сравнению с контрольной группой.

Цель исследования заключалась в проведении валидации результатов, полученных нами ранее в ходе анализа транскриптома первичной культуры

Таблица 1

Клинические и демографические характеристики исследуемых групп

Table 1

Clinical and demographic characteristics of study groups

Группа	Мутации в гене <i>GBA</i>	(Средний возраст ± стандартное отклонение), лет	(Средний возраст начала ± стандартное отклонение), лет	Пол (мужчины:женщины)
GBA-БП (N = 14)	10 L444P/N 5 N370S/N	(60,1 ± 10,5)	(54,8 ± 10,2)	5:9
GBA-носители (N = 15)	5 L444P/N 6 N370S/N 1 R159W 1 N227S 1 M124T 1 L327P	(49,1 ± 7,5)	—	5:10
БП (N = 30)	—	(59,0 ± 10,0)	(54,2 ± 11,4)	18:12
Контроль (N = 44)	—	(62,1 ± 8,2)	—	16:28

макрофагов периферической крови пациентов с GBA-БП, GBA-носителей и в контроле, а именно — в оценке уровня экспрессии генов транскрипционных факторов, принимающих участие в нейрогенезе, *EGR1* (early growth response protein 1), *NR4A2* (nuclear receptor 4A2), *JUNB* (transcription factor jun-B) — в группах пациентов с GBA-БП, пациентов с БП, в группе GBA-носителей и контроле.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Характеристики групп, включенных в исследование. В исследование вошли 14 пациентов с GBA-БП, 15 GBA-носителей, 30 пациентов с БП и 44 индивидуума контрольной группы. Клинические и демографические характеристики групп, включенных в исследование, приведены в табл. 1. Все пациенты с БП набраны на базе клиники ФГБНУ «Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой» Российской академии наук (ИМЧ РАН). Пациенты с GBA-БП ранее были выявлены путем скрининга группы пациентов с БП на две мажорные мутации в гене *GBA* (L444P и N370S) [7]. Группа GBA-носителей составлена при обследовании родственников первого родства пациентов с БП на базе Медико-генетического научного центра (Москва). Мутации в гене *GBA* в данной выборке определяли методом прямого секвенирования. Контрольная группа составлена из индивидуумов, наблюдавшихся в консультативно-диагностическом центре Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова. С целью исключения диагноза БП и других нейродегенеративных заболеваний все индивидуумы контрольной группы и GBA-носители обследовались у невролога.

Оценка уровня экспрессии генов нейрогенеза в мононуклеарах периферической крови. У каждого индивидуума был взят образец свежей венозной периферической крови, из которой была получена мононуклеарная фракция методом градиентного

центрифугирования в градиенте плотности раствора Фиколл (Ficoll-Paque PLUS, *GE Healthcare*) при 400 g в течение 40 мин по методике, описанной ранее [8], и дважды отмыта PBS («Биолот», Санкт-Петербург) с последующим центрифугированием при 3000 об./мин в течение 10 мин. Тотальная РНК была выделена из мононуклеаров периферической крови с использованием набора для выделения РНК RNeasy Mini Kit (*Qiagen*, 74104, США). кДНК была получена методом обратной транскрипции с использованием набора Revert Aid First cDNA Synthesis kit (K1622, *Thermo scientific*, Литва). Уровень экспрессии генов нейрогенеза (*EGR1*, *NR4A2*, *JUNB*) был оценен методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе CFX96 (*BioRad*, США) с использованием зондов TaqMan для генов *JUNB*, *NR4A2* и флуоресцентного ДНК-красителя EvaGreen для гена *EGR1*. В качестве референсных генов были использованы конститутивно экспрессирующиеся в клетках ген *RPLP0*, а также ген *ACTB*. Последовательность праймеров и зондов, разработанных с помощью программы «Primer3 v. 0.4.0» (<https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>), приведена в табл. 2. Относительный уровень мРНК для каждого гена рассчитывали методом сравнения пороговых уровней амплификации $\Delta\Delta Ct$ [9].

Статистическую обработку данных проводили с использованием встроенных пакетов «R» (версия 4.1.2). Для оценки различий между группами использовали тест Манна — Уитни. Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми. Клинические характеристики представлены в виде (среднее значение ± стандартное отклонение). Экспериментальные данные представлены в виде медиана (min — max).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования нами была оценена относительная экспрессия генов нейрогенеза (*EGR1*,

Таблица 2

Последовательность праймеров и зондов для генов, включенных в исследование

Table 2

Sequence of primers and probes for genes included in the study

Ген	Нуклеотидная последовательность праймеров		
	прямой	обратный	зонд
<i>JUNB</i>	5'-CCCTTCTACCAC GACGACTC-3'	5'-AGGCTCGGTTTCAGG AGTTT-3'	5' (FAM)-CCTGGTGGCCTC TCTCTACACG-3' (BHQ1)
<i>NR4A2</i>	5'-ACCAAGACCTG CTTTTTGAATC-3'	5'-CCCATTGCAAAAAGAT GAGTTTA-3'	5' (FAM)-AGCATACAGGTC CAACCCAGTG-3' (BHQ1)
<i>EGR1</i>	5'-CAGCACCTTCA ACCCTCAG-3'	5'-CAGCACCTTCTCGTT GTTCA-3'	—
<i>RPLP0</i>	5'-GATCAGGGACA TGTTGCTGG-3'	5'-GACTTCACATGGGG CAATGG-3'	5' (ROX)-CAATAAGGTGCC AGCTGCTGC-3' (BHQ2)
<i>ACTB</i>	5'-CGTGCTGCTGA CCGAGG-3'	5'-ACAGCCTGGATAGCA ACGTACA-3'	5' (HEX)-CCAACCGCGAGA AGATGACCCAGAT-3' (BHQ2)

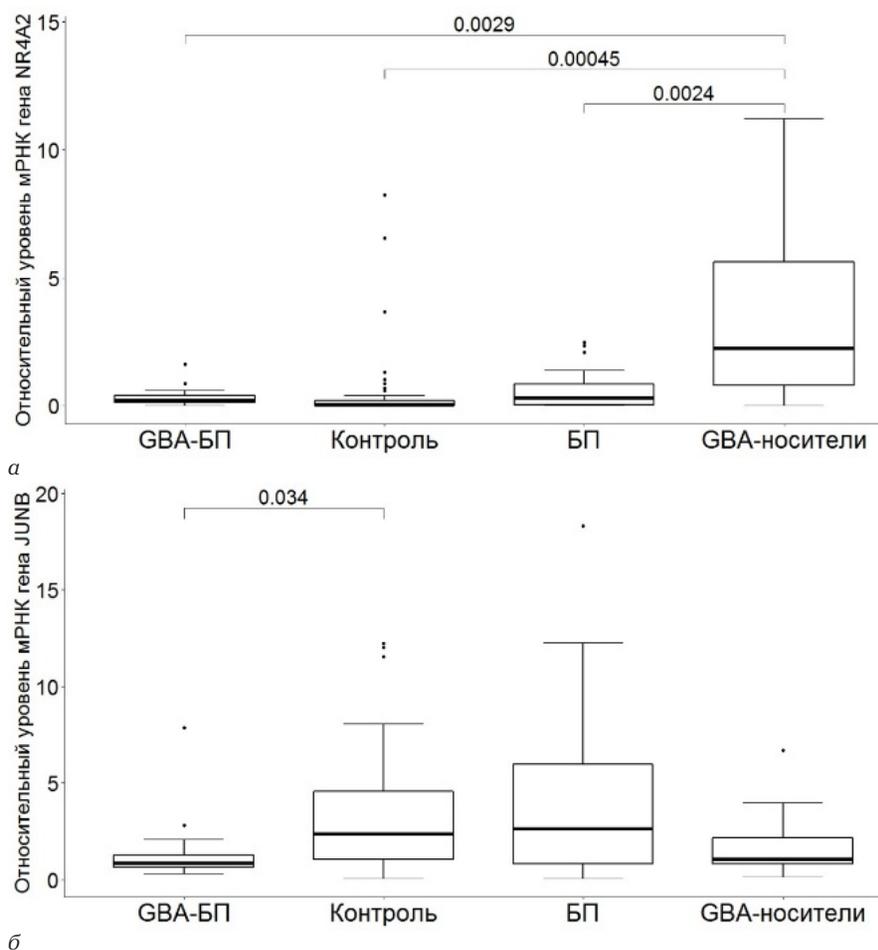
NR4A2, *JUNB*) в мононуклеарах периферической крови в группе пациентов с ГВА-БП, ГВА-носителей, пациентов с БП и в контроле. Экспрессия данных генов была снижена по результатам ранее проведенного нами анализа транскриптома первичной культуры макрофагов в группе пациентов с ГВА-БП по сравнению с контролем.

В нашем исследовании уровень экспрессии гена *EGR1* в мононуклеарах периферической крови у пациентов с ГВА-БП составил 1,87 (0,18–4,92), ГВА-носителей – 0,65 (0,05–15,74), пациентов с БП – 1,06 (0,16–12,02) и в контрольной группе – 0,61 (0,04–10,79). Статистически значимых различий в экспрессии гена *EGR1* между всеми исследуемыми группами выявлено не было ($p > 0,05$). Уровень экспрессии гена *NR4A2* в мононуклеарах периферической крови у пациентов с ГВА-БП составил 0,22 (0,01–1,61), ГВА-носителей – 2,25 (0,01–11,22), пациентов с БП – 0,30 (0,01–2,49) и в контрольной группе – 0,05 (0,01–8,23). Интересно отметить, что относительный уровень экспрессии гена *NR4A2* был повышен в группе ГВА-носителей, по сравнению с группой пациентов с ГВА-БП, группой пациентов с БП и контрольной группой ($p = 0,0029$, $p = 0,00045$, $p = 0,0024$ соответственно) (рисунок, а). В то же время статистически значимых различий в уровне мРНК гена *NR4A2* между пациентами с ГВА-БП и пациентами с БП и контролем, а также между пациентами с БП и контролем выявлено не было ($p > 0,05$). Также нами было выявлено, что уровень экспрессии гена *JUNB* в мононуклеарах периферической крови у пациентов с ГВА-БП составил 0,85 (0,28–7,86), ГВА-носителей – 1,04 (0,11–6,68), пациентов с БП – 2,64 (0,06–18,31) и в контрольной группе – 2,36 (0,04–12,24) (рисунок, б). Уровень экспрессии гена *JUNB* был снижен в группе пациентов с ГВА-БП по сравнению с контрольной группой ($p = 0,034$). В то же время статистически значимых различий

в относительном уровне мРНК гена *JUNB* между ГВА-носителями и пациентами с БП, ГВА-БП и контролем, а также между пациентами с ГВА-БП и пациентами с БП выявлено не было ($p > 0,05$). Также не было выявлено статистически значимых различий в уровне экспрессии гена *JUNB* в группе пациентов с БП по сравнению с контролем.

Гены *EGR1*, *NR4A2*, *JUNB* кодируют регуляторы транскрипции, участвующие в поддержании функции дофаминергических нейронов, дифференцировке нейронов и нейрогенезе. Так, ген *EGR1* кодирует белок EGR1, представляющий собой транскрипционный фактор, участвующий в регуляции ряда клеточных функций, включая пролиферацию клеток, апоптоз, рост клеток и передачу сигнала и воспалении [10]. Ранее мутации в этом гене были ассоциированы с заболеваниями, связанными с дисфункцией дофаминергической системы (БП, шизофрения) [11]. На мышинной модели БП, индуцированной 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином (МРТП), было показано повышение уровня EGR1, который, в свою очередь, был ассоциирован с нейровоспалением и гибелью дофаминергических нейронов в черной субстанции [12]. В то же время мы показали тенденцию к увеличению уровня экспрессии гена *EGR1* в группе пациентов с ГВА-БП и БП по сравнению с контролем. Однако данные результаты не были статистически значимыми.

Ген *NR4A2* кодирует белок NR4A2, также известный как Nurr1, который, в свою очередь, является членом надсемейства генов орфанных ядерных рецепторов и фактором транскрипции. В ядрах клеток центральной нервной системы он широко экспрессируется и необходим для развития, функционирования и нейротрансмиссии, выживания, дифференцировки и поддержания дофаминергических нейронов [13, 14]. NR4A2 также влияет на экспрессию нескольких ключевых



Относительный уровень мРНК в моноцитах периферической крови:
 а – гена *NR4A2*; б – гена *JUNB*

Relative mRNA level in peripheral blood monocytes: а – *NR4A2* gene; б – *JUNB* gene

белков дофаминергических нейронов, включая тирозингидроксилазу, переносчик дофамина, а также на переносчик везикулярных моноаминов (*SCL18A2/VMAT*) [15]. Предыдущие исследования показали связь между вариантами гена *NR4A2* и риском и ранним возрастом начала БП [16–18]. Также было показано, что пациенты с БП характеризуются сниженной экспрессией гена *NR4A2* [19]. В нашем исследовании мы также показали, что пациенты с GBA-БП характеризовались пониженной экспрессией гена *NR4A2*, по сравнению с неврологически здоровыми бессимптомными носителями мутаций в гене *GBA*.

Ген *JUNB* кодирует белок JUNB, принадлежащий к семейству транскрипционных факторов активатора белка-1 (AP-1). AP-1 регулирует экспрессию генов в ответ на различные факторы, включая секрецию цитокинов, факторы роста, стресс, бактериальные и вирусные инфекции, пролиферацию, а также апоптоз [20]. JUNB экспрессируется в головном мозге в различных популяциях нейронов и необходим для дифференцировки нейронов [21]. Ранее было показано, что гиперэкспрессия JUNB может способствовать защите от гибели клеток нейронов [22]. Также в предыдущих исследованиях была показана сни-

женная экспрессия гена *JUNB* в моноцитах пациентов с БП в сравнении с контрольной группой [23]. Однако в нашем исследовании различий в уровне мРНК гена *JUNB* в группе пациентов с БП и контролем выявлено не было. Но мы показали снижение уровня экспрессии гена *JUNB* в группе пациентов с GBA-БП по сравнению с контролем, предполагая роль *JUNB* в патогенезе БП в группе носителей мутаций в гене *GBA*.

Таким образом, результаты анализа транскриптома первичной культуры макрофагов не были подтверждены в отношении генов *EGR1* и *NR4A2* в группе пациентов с GBA-БП, по сравнению с контролем, в ходе валидации результатов на популяции мононуклеаров периферической крови, что, возможно, связано с проведением анализа на другой популяции клеток, которая не подвергалась культивированию в присутствии колонии стимулирующего фактора роста макрофагов, и также со статистически значимым, но относительно невысоким значением кратности изменения экспрессии между группами и малочисленностью выборок исследуемых групп, включенных в анализ транскриптома. В ходе текущего исследования была показана активация экспрессии гена *NR4A2* в группе GBA-носителей, по сравнению как с пациентами

с GBA-БП, так и БП и контролем, что может свидетельствовать о вовлеченности данного гена в протективный механизм, препятствующий запуску патологических механизмов БП у носителей мутаций в гене *GBA*.

В то же время нами были подтверждены результаты анализа транскриптома первичной культуры макрофагов периферической крови в отношении гена *JUNB* в группе пациентов с GBA-БП по сравнению с контролем. Как было сказано выше, молекулярные механизмы GBA-БП остаются неизвестными. Однако результаты, опубликованные ранее [24], позволили выдвинуть несколько гипотез о возможных путях развития GBA-БП. Так, нами было показано, что пациенты с GBA-БП характеризуются сниженной активностью фермента GCase в крови с одновременным увеличением уровня соответствующего субстрата лизосфинголипида гексозилсфингозина (HexSph) (смесь глюкозилсфингозина (GlcSph) и галактозилсфингозина (GalSph)). В аналогичном исследовании также было продемонстрировано снижение активности GCase в крови у пациентов с GBA-БП по сравнению с GBA-носителями и пациентами с БП [25]. Также ранее нами было показано увеличение концентрации олигомерного белка альфа-синуклеина в плазме крови у пациентов с GBA-БП, по сравнению как с пациентами с БП, так и с контролем [26]. Интересно отметить, что *JUNB* и *NR4A2* относятся к классу генов, называемых генами немедленного раннего развития, которые скоординированно активируются в ответ на нейрональные повреждения [27]. Последние данные показали, что гиперэкспрессия гена альфа-синуклеина (*SNCA*) может влиять на изменение уровня экспрессии генов немедленного раннего развития [28]. Ранее нами была показана повышенная экспрессия гена *SNCA* у пациентов с GBA-БП, по сравнению с пациентами с БП и контролем, в CD45+ -клетках крови [29]. Изменения уровней экспрессии генов немедленного раннего развития, в частности, *JUNB* и *NR4A2*, у пациентов с GBA-БП могут быть связаны, в том числе, и с активацией экспрессии гена *SNCA*. Таким образом, можно предположить о существовании дополнительных триггеров, которые приводят к запуску патологического механизма БП у GBA-носителей. Возможно, сниженная экспрессия генов, продукты которых контролируют нейрогенез, может способствовать нейродегенерации дофаминергических нейронов у носителей мутаций в гене *GBA*.

Резюмируя полученные данные, можем предположить, что снижение экспрессии гена *JUNB* и *NR4A2* может играть роль в патогенезе GBA-БП. Для подтверждения роли сниженной экспрессии данных генов нейрогенеза в развитии БП у носителей мутаций в гене *GBA* необходимы исследования на расширенных группах носителей мутаций с наличием диагноза БП и его отсутствием.

ВЫВОДЫ

1. GBA-БП характеризуется пониженной экспрессией гена *JUNB* по сравнению с контролем.
2. GBA-БП характеризуется пониженной экспрессией гена *NR4A2* относительно GBA-носителей.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения» (регистрационный номер № 121060200125-2).

Работа в части анализа данных и неврологического осмотра группы пациентов, проходивших лечение в Институте мозга человека им. Н. П. Бехтерева РАН, осуществлялась в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации (регистрационный номер № 122041500044-1).

Financing

The work was carried out within the state assignment «Study of the molecular and cellular components of the pathogenesis of socially significant diseases for the development of methods for early diagnosis and treatment» (registration number № 121060200125-2).

The work in terms of data analysis and neurological examination of a group of patients treated at the Institute of the Human Brain RAS was carried out within the state assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (registration number № 122041500044-1).

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

1. Balestrino R., Schapira A. H. V. Parkinson disease // *European Journal of Neurology*. – 2020. – Vol. 27, № 1. – P. 27–42. Doi: 10.1111/ene.14108.
2. Blauwendraat C., Nalls M. A., Singleton A. B. The genetic architecture of Parkinson's disease // *The Lancet Neurology*. – 2020. – Vol. 19, № 2. – P. 170–178. Doi: 10.1016/S1474-4422(19)30287-X.
3. Sidransky E., Lopez G. The link between the GBA gene and parkinsonism // *The Lancet Neurology*. – 2012. – Vol. 11, № 11. – P. 986–998. 4. Doi: 10.1016/S1474-4422(12)70190-4.
4. Balestrino R., Tunesi S., Tesesi S. et al. Penetrance of Glucocerebrosidase (GBA) Mutations in Parkinson's Disease:

A Kin Cohort Study // *Journal of Movement Disorder*. – 2020. – Vol. 35, № 11. – P. 2111–2114. Doi: 10.1002/mds.28200.

5. Senkevich K., Rudakou U., Gan-Or Z. New therapeutic approaches to Parkinson's disease targeting GBA, LRRK2 and Parkin // *Neuropharmacology*. – 2022. – Vol. 202. – P. 108822. Doi: 10.1016/j.neuropharm.2021.108822.

6. Usenko T., Bezrukova A., Basharova K. et al. Comparative Transcriptome Analysis in Monocyte-Derived Macrophages of Asymptomatic GBA Mutation Carriers and Patients with GBA-Associated Parkinson's Disease // *Genes*. – 2021. – Vol. 12, № 10. – P. 1545. Doi: 10.3390/genes12101545.

7. Emelyanov A. K., Usenko T. S., Tesson C. et al. Mutation analysis of Parkinson's disease genes in a Russian data set // *Neurobiology of Aging*. – 2018. – Vol. 71. – P. 267.e7–267.e10. Doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.027.

8. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g // *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation Supplementary*. – 1968. – Vol. 97. – P. 77–89.

9. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method // *Methods*. – 2001. – Vol. 25, № 4. – P. 402–408. Doi: 10.1006/meth.2001.1262.

10. Wang B., Guo H., Yu H. et al. The Role of the Transcription Factor EGR1 in Cancer // *Frontiers in Oncology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 642547. Doi: 10.3389/fonc.2021.642547.

11. Ляшенко Е. А., Полуэктов М. Г., Левин О. С. Расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз // *Неврология и психиатрия. Спецвып.: Сон и его расстройства* – 2. – 2014. – Т. 22. – С. 58–63.

12. Yu Q., Huang Q., Du X. et al. Early activation of Egr-1 promotes neuroinflammation and dopaminergic neurodegeneration in an experimental model of Parkinson's disease // *Experimental Neurology*. – 2018. – Vol. 302. – P. 145–154. Doi: 10.1016/j.expneurol.2018.01.009.

13. Saucedo-Cardenas O., Quintana-Hau J. D., Le W. D. et al. Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1998. – Vol. 95, № 7. – P. 4013–4018. Doi: 10.1073/pnas.95.7.4013.

14. Zetterström R. H., Solomin L., Jansson L. et al. Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice // *Science*. – 1997. – Vol. 276, № 5310. – P. 248–250. Doi: 10.1126/science.276.5310.248.

15. Jankovic J., Chen S., Le W. D. The role of Nurr1 in the development of dopaminergic neurons and Parkinson's disease // *Progress in Neurobiology*. – 2005. – Vol. 77, № 1–2. – P. 128–138. Doi: 10.1016/j.pneurobio.2005.09.001.

16. Liu H., Liu H., Li T. et al. NR4A2 genetic variation and Parkinson's disease: Evidence from a systematic review and meta-analysis // *Neuroscience Letters*. – 2017. – Vol. 650. – P. 25–32. Doi: 10.1016/j.neulet.2017.01.062.

17. Le W.-D., Xu P., Jankovic J. et al. Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease // *Nature Genetics*. – 2003. – Vol. 33, № 1. – P. 85–89. Doi: 10.1038/ng1066.

18. Sleiman P. M. A., Healy D. G., Muqit M. M. K. et al. Characterisation of a novel NR4A2 mutation in Parkinson's disease brain // *Neuroscience Letters*. – 2009. – Vol. 457, № 2. – P. 75–79. Doi: 10.1016/j.neulet.2009.03.021.

19. Ruiz-Sánchez E., Yescas P., Rodríguez-Violante M. et al. Association of polymorphisms and reduced expression levels of the NR4A2 gene with Parkinson's disease in a Mexican population // *Journal of the Neurological Sciences*. – 2017. – Vol. 379. – P. 58–63. Doi: 10.1016/j.jns.2017.05.029.

20. Gazon H., Barbeau B., Mesnard J.-M. et al. Hijacking of the AP-1 Signaling Pathway during Development of ATL // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 2686. Doi: 10.3389/fmicb.2017.02686.

21. Schlingensiepen K. H., Wollnik F., Kunst M. et al. The role of Jun transcription factor expression and phosphorylation in neuronal differentiation, neuronal cell death, and plastic adaptations in vivo // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 1994. – Vol. 14, № 5. – P. 487–505. Doi: 10.1007/BF02088833.

22. Winter C., Weiss C., Martin-Villalba A. et al. JunB and Bcl-2 overexpression results in protection against cell death of nigral neurons following axotomy // *Brain research. Molecular brain research*. – 2002. – Vol. 104, № 2. – P. 194–202. Doi: 10.1016/s0169-328x(02)00378-9.

23. Grozdanov V., Bliederaeuser C., Ruf W. P. et al. Inflammatory dysregulation of blood monocytes in Parkinson's disease patients // *Acta Neuropathologica*. – 2014. – Vol. 128, № 5. – P. 651–663. Doi: 10.1007/s00401-014-1345-4.

24. Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M. et al. Blood lysophingolipids accumulation in patients with parkinson's disease with glucocerebrosidase 1 mutations // *Journal of Movement Disorder*. – 2018. – Vol. 33, № 8. – P. 1325–1330. Doi: 10.1002/mds.27393.

25. Ortega R. A., Torres P. A., Swan M. et al. Glucocerebrosidase enzyme activity in GBA mutation Parkinson's disease // *Journal of clinical neuroscience*. – 2016. – Vol. 28. – P. 185–186. Doi: 10.1016/j.jocn.2015.12.004.

26. Pchelina S., Emelyanov A., Baydakova G. et al. Oligomeric α -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease // *Neuroscience Letters*. – 2017. – Vol. 636. – P. 70–76. Doi: 10.1016/j.neulet.2016.10.039.

27. Zukin R., Jover-Mengual T., Yokota H. et al. Molecular and Cellular Mechanisms of Ischemia-Induced Neuronal Death // *Stroke: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. – 2004. – P. 829–854. Doi: 10.1016/B0-44-306600-0/50049-3.

28. Wassouf Z., Hentrich T., Samer S. et al. Environmental Enrichment Prevents Transcriptional Disturbances Induced by Alpha-Synuclein Overexpression // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2018. – Vol. 12. – P. 112. Doi: 10.3389/fncel.2018.00112.

29. Basharova K., Bezrukova A., Bogdanova D. et al. P.114 Contribution of the SNCA gene and genes involved in autophagy in the pathogenesis of GBA-associated parkinson's disease // *European Neuropsychopharmacology*. – 2021. – Vol. 44. – P. S10–S11. Doi: 10.1016/j.euroneuro.2021.01.021

REFERENCES

1. Balestrino R., Schapira A. H. V. Parkinson disease // *European Journal of Neurology*. 2020;27(1):27–42. Doi: 10.1111/ene.14108.

2. Blauwendraat C., Nalls M. A., Singleton A. B. The genetic architecture of Parkinson's disease // *The Lancet Neurology*. 2020;19(2):170–178. Doi: 10.1016/S1474-4422(19)30287-X.

3. Sidransky E., Lopez G.. The link between the GBA gene and parkinsonism // *The Lancet Neurology*. 2012;11(11):986–998. Doi: 10.1016/S1474-4422(12)70190-4.

4. Balestrino R., Tunesi S., Tesi S., Lopiano L., Zecchinelli A. L., Goldwurm S. Penetrance of Glucocerebrosidase (GBA) Mutations in Parkinson's Disease: A Kin Cohort Study // *Journal of Movement Disorder*. 2020;35(11):2111–2114. Doi: 10.1002/mds.28200.

5. Senkevich K., Rudakou U., Gan-Or Z. New therapeutic approaches to Parkinson's disease targeting GBA, LRRK2 and Parkin. *Neuropharmacology*. 2022;(202):108822. Doi: 10.1016/j.neuropharm.2021.108822.

6. Usenko T., Bezrukova A., Basharova K., Panteleeva A., Nikolaev M., Kopytova A., Miliukhina I., Emelyanov A., Zakharova E., Pchelina S. Comparative Transcriptome Analysis in Monocyte-Derived Macrophages of Asymptomatic GBA Mutation Carriers and Patients with GBA-Associated Parkinson's Disease // *Genes*. 2021;12(10):1545. Doi: 10.3390/genes12101545.
7. Emelyanov A. K., Usenko T. S., Tesson C., Senkevich K. A., Nikolaev M. A., Miliukhina I. V., Kopytova A. E., Timofeeva A. A., Yakimovsky A. F., Lesage S., Brice A., Pchelina S. N. Mutation analysis of Parkinson's disease genes in a Russian data set // *Neurobiology of Aging*. 2018;(71):267.E7-267.E10. Doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.027.
8. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g // *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation Supplementary*. 1968;(97):77–89.
9. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method // *Methods*. 2001;25(4):402–408. Doi: 10.1006/meth.2001.1262.
10. Wang B., Guo H., Yu H., Chen Y., Xu H., Zhao G. The Role of the Transcription Factor EGR1 in Cancer // *Frontiers in Oncology*. 2021;(11):642547. Doi: 10.3389/fonc.2021.642547.
11. Lyashenko Ye.A., Poluektov M.G., Levin O. S. REM sleep behavior disorder // *Nevrologiya i psikiatriya. Spetsvyv.: Son i ego rasstroystva – 2 = Neurology and psychiatry. Special issue «Sleep and its disorders – 2»*. 2014;22:58–63. (In Russ.).
12. Yu Q., Huang Q., Du X., Xu S., Li M., Ma S. Early activation of Egr-1 promotes neuroinflammation and dopaminergic neurodegeneration in an experimental model of Parkinson's disease // *Experimental Neurology*. 2018;(302):145–154. Doi: 10.1016/j.expneurol.2018.01.009.
13. Saucedo-Cardenas O., Quintana-Hau J. D., Le W. D., Smidt M. P., Cox J. J., De Mayo F., Burbach J. P., Conneely O. M. Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(7):4013–4084. Doi: 10.1073/pnas.95.7.4013.
14. Zetterström R. H., Solomin L., Jansson L., Hoffer B. J., Olson L., Perlmann T. Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice // *Science*. 1997;276(5310):248–250. Doi: 10.1126/science.276.5310.248.
15. Jankovic J., Chen S., Le W. D. The role of Nurr1 in the development of dopaminergic neurons and Parkinson's disease // *Progress in Neurobiology*. 2005;77(1–2):128–138. Doi: 10.1016/j.pneurobio.2005.09.001.
16. Liu H., Liu H., Li T., Cui J., Fu Y., Ren J., Sun X., Jiang P., Yu S., Li C. NR4A2 genetic variation and Parkinson's disease: Evidence from a systematic review and meta-analysis // *Neuroscience Letters*. 2017;(650):25–32. Doi: 10.1016/j.neulet.2017.01.062.
17. Le W-D., Xu P., Jankovic J., Jiang H., Appel S. H., Smith R. G., Vassilatis D. K. Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease // *Nature Genetics*. 2003;33(1):85–89. Doi: 10.1038/ng1066.
18. Sleiman P. M. A., Healy D. G., Muqit M. M. K., Yang Y. X., Van Der Brug M., Holton J. L., Revesz T., Quinn N. P., Bhatia K., Diss J. K. J., Lees A. J., Cookson M. R., Latchman D. S., Wood N. W. Characterisation of a novel NR4A2 mutation in Parkinson's disease brain // *Neuroscience Letters*. 2009;457(2):75–79. Doi: 10.1016/j.neulet.2009.03.021.
19. Ruiz-Sánchez E., Yescas P., Rodríguez-Violante M., Martínez-Rodríguez N., Díaz-López J. N., Ochoa A., Valdes-Rojas S. S., Magos-Rodríguez D., Rojas-Castañeda J. C., Cervantes-Arriaga A., Canizales-Quinteros S., Rojas P. Association of polymorphisms and reduced expression levels of the NR4A2 gene with Parkinson's disease in a Mexican population // *Journal of the Neurological Sciences*. 2017;(379):58–63. Doi: 10.1016/j.jns.2017.05.029.
20. Gazon H., Barbeau B., Mesnard J-M., Peloponese J-M. J. Hijacking of the AP-1 Signaling Pathway during Development of ATL // *Frontiers in Microbiology*. 2017;(8):2686. Doi: 10.3389/fmicb.2017.02686.
21. Schlingensiepen K. H., Wollnik F., Kunst M., Schlingensiepen R., Herdegen T., Brysch W. The role of Jun transcription factor expression and phosphorylation in neuronal differentiation, neuronal cell death, and plastic adaptations in vivo // *Cellular and Molecular Neurobiology*. 1994;14(5):487–505. Doi: 10.1007/BF02088833.
22. Winter C., Weiss C., Martin-Villalba A., Zimmermann M., Schenkel J. JunB and Bcl-2 overexpression results in protection against cell death of nigral neurons following axotomy // *Brain research. Molecular brain research*. 2002;104(2):194–202. Doi: 10.1016/s0169-328x(02)00378-9.
23. Grozdanov V., Bliederauser C., Ruf W.P., Roth V., Fundel-Clemens K., Zondler L., Brenner D., Martin-Villalba A., Hengerer B., Kassubek J., Ludolph A. C., Weishaupt J. H., Danzer K. M. Inflammatory dysregulation of blood monocytes in Parkinson's disease patients // *Acta Neuropathologica*. 2014;128(5):651–663. Doi: 10.1007/s00401-014-1345-4.
24. Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M., Senkevich K., Emelyanov A., Kopytova A., Miliukhina I., Yakimovskii A., Timofeeva A., Berkovich O., Fedotova E., Illarioshkin S., Zakharova E. Blood lysosphingolipids accumulation in patients with parkinson's disease with glucocerebrosidase 1 mutations // *Journal of Movement Disorder*. 2018;33(8):1325–1330. Doi: 10.1002/mds.27393.
25. Ortega R. A., Torres P. A., Swan M., Nichols W., Boschung S., Raymond D., Barrett M. J., Johannes B. A., Severt L., Shanker V., Hunt A. L., Bressman S., Pastores G. M., Saunders-Pullman, R. Glucocerebrosidase enzyme activity in GBA mutation Parkinson's disease // *Journal of clinical neuroscience*. 2016;(28):185–186. Doi: 10.1016/j.jocn.2015.12.004.
26. Pchelina S., Emelyanov A., Baydakova G., Andoskin P., Senkevich K., Nikolaev M., Miliukhina I., Yakimovskii A., Timofeeva A., Fedotova E., Abramycheva N., Usenko T., Kulabukhova D., Lavrinova A., Kopytova A., Garaeva L., Nuzhnyi E., Illarioshkin S., Zakharova E. Oligomeric α -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease // *Neuroscience Letters*. 2017;(636):70–76. Doi: 10.1016/j.neulet.2016.10.039.
27. Zukin R., Jover-Mengual T., Yokota H., Calderone A., Simionescu M., Lau C.G. Molecular and Cellular Mechanisms of Ischemia-Induced Neuronal Death // *Stroke: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. 2004:829–854. Doi: 10.1016/B0-44-306600-0/50049-3.
28. Wassouf Z., Hentrich T., Samer S., Rotermund C., Kahle P.J., Ehrlich I., Riess O., Casadei N., Schulze-Hentrich J.M. Environmental Enrichment Prevents Transcriptional Disturbances Induced by Alpha-Synuclein Overexpression // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2018;(12):112. Doi: 10.3389/fncel.2018.00112.
29. Basharova K., Bezrukova A., Bogdanova D., Senkevich K., Gracheva E., Miliukhina I., Emelyanov A., Pchelina S., Usenko T. P.114 Contribution of the SNCA gene and genes involved in autophagy in the pathogenesis of GBA-associated parkinson's disease // *European Neuropsychopharmacology*. 2021;(44):S10–S11. Doi: 10.1016/j.euroneuro.2021.01.021.

Информация об авторах

Безрукова Анастасия Игоревна, аспирант лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0003-3939-0758; **Башарова Катерина Сергеевна**, аспирант лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0003-3078-3918; **Милухина Ирина Валентиновна**, кандидат медицинских наук, врач-невролог, младший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), руководитель Научно-клинического центра нейродегенеративных заболеваний и ботулинотерапии, Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-6433-542X; **Тимофеева Алла Аркадьевна**, кандидат медицинских наук, врач-невролог, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-1661-7753; **Сенкевич Константин Алексеевич**, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-3407-5716; **Пчелина Софья Николаевна**, доктор биологических наук, зав. Отделом молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), зав. лабораторией молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0001-7431-6014; **Усенко Татьяна Сергеевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0002-5132-2283.

Information about authors

Bezrukova Anastasia I., Postgraduate Student of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0003-3939-0758; **Basharova Katerina S.**, Postgraduate Student of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0003-3078-3918; **Miliukhina Irina V.**, Cand. of Sci. (Med.), Neurologist, Junior Research Fellow of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), Head of the Scientific and Clinical Center for Neurodegenerative Diseases and Botulinum Therapy, N. P. Bekhtereva Institute of the Human Brain (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-6433-542X; **Timofeeva Alla A.**, Cand. of Sci. (Med.), Neurologist, Associate Professor of the Department of Neurology and Neurosurgery, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-1661-7753; **Senkevich Konstantin A.**, Cand. of Sci. (Med.), Junior Research Fellow of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-3407-5716; **Pchelina Sofya N.**, Dr. of Sci. (Biol.), Head of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), Head of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID:0000-0001-7431-6014; **Usenko Tatiana S.**, Cand. of Sci. (Biol.), Senior Research Fellow of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), Senior Research Fellow of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0002-5132-2283.



© СС © Коллектив авторов, 2022

УДК [616-056.52 + 616.379-008.64] : 611.018.26 : 575.117.2

DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-46-53

К. В. Драчева^{1,2}, И. А. Побожева^{1,2}, К. А. Анисимова¹, З. М. Хамид¹, А. П. Сапожникова²,
С. Г. Баландов¹, Д. И. Василевский¹, С. Н. Пчелина^{1,2}, В. В. Мирошникова^{1,2*}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики имени Б. П. Константинова Национального исследовательского центра „Курчатовский институт“», г. Гатчина, Россия

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *FABP4* В ПОДКОЖНОЙ И ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА

Поступила в редакцию 03.03.2022 г.; принята к печати 27.04.2022 г.

Резюме

Введение. Ожирение ассоциировано с высоким риском развития таких заболеваний, как метаболический синдром, сахарный диабет II типа (СД2), сердечно-сосудистая патология. Специфический липидный шаперон FABP4 — белок, связывающий жирные кислоты, — является важным для функционирования жировой ткани белком, который при этом входит в число секретируемых жировой тканью адипоцитокинов.

Целью исследования явилось изучение экспрессии гена *FABP4* в подкожной и висцеральной жировой ткани (ПЖТ и ВЖТ) у пациентов с ожирением и СД2.

Методы и материалы. Образцы ПЖТ и ВЖТ были получены при проведении бариатрических операций (N = 43, ИМТ > 35): 21 пациент с СД2, 22 — без СД2; а также у лиц без ожирения при плановых операциях на брюшной полости (контрольная группа, N = 15, ИМТ < 30). Уровень мРНК гена *FABP4* оценивали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты. Было продемонстрировано, что уровень мРНК гена *FABP4* в ПЖТ и ВЖТ снижен при ожирении независимо от манифестации СД2 ($p < 0,01$). Наблюдалась отрицательная корреляция между уровнем мРНК гена *FABP4* в жировой ткани и показателем ИМТ (для ПЖТ: $r = -0,327$, $p = 0,016$; для ВЖТ: $r = -0,304$, $p = 0,024$).

Заключение. Уровень экспрессии гена *FABP4* в ЖТ может выступать как маркер дисфункции ЖТ при ожирении.

Ключевые слова: *FABP4*, ожирение, сахарный диабет II типа, жировая ткань

Для цитирования: Драчева К. В., Побожева И. А., Анисимова К. А., Хамид З. М., Сапожникова А. П., Баландов С. Г., Василевский Д. И., Пчелина С. Н., Мирошникова В. В. Экспрессия гена *FABP4* в подкожной и висцеральной жировой ткани у пациентов с ожирением и сахарным диабетом II типа. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2022;29(1):46–53. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-46-53.

* Автор для связи: Валентина Вадимовна Мирошникова, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. E-mail: v.v.mirosh@gmail.com.

Kseniia V. Dracheva^{1,2}, Irina A. Pobozheva^{1,2}, Kristina A. Anisimova¹, Zarina M. Hamid¹,
Antonina P. Sapojnikova², Stanislav G. Balandov¹, Dmitry I. Vasilevsky¹,
Sofya N. Pchelina^{1,2}, Valentina V. Miroshnikova^{1,2*}

¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

² Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia

FABP4 GENE EXPRESSION IN SUBCUTANEOUS AND VISCERAL ADIPOSE TISSUE IN PATIENTS WITH OBESITY AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Received 03.03.2022; accepted 27.04.2022

Summary

Introduction. Obesity is associated with a high risk of developing concomitant diseases such as: metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus (DM2), cardiovascular pathology. FABP4 (fatty acid binding protein) is the specific lipid chaperone and an important protein for the function of adipose tissue and is one of the adipocytokines secreted by adipose tissue.

The **objective** of the study was to investigate the *FABP4* gene expression in subcutaneous and visceral adipose tissue (SAT and VAT) in patients with obesity and DM2.

Methods and materials. SAT and VAT samples were obtained during bariatric surgery (N = 43, BMI > 35): obese with DM2 (N = 21), obese without DM2 (N = 22). Samples for the control group without obesity (N = 15, BMI < 30) were obtained during planned operations on the abdominal cavity. *FABP4* mRNA level was estimated by real-time PCR.

Results. It has been demonstrated that the mRNA level of the *FABP4* gene in SAT and VAT is reduced in obesity, regardless of the manifestation of DM2 ($p < 0.01$). A negative correlation was observed between the mRNA level of the *FABP4* gene in adipose tissue and the BMI index (for SAT: $r = -0.327$, $p = 0.016$; for VAT: $r = -0.304$, $p = 0.024$).

Conclusion. The expression level of *FABP4* gene in AT can act as a marker of AT dysfunction in obesity.

Keywords: *FABP4*, obesity, type 2 diabetes mellitus, adipose tissue

For citation: Dracheva K. V., Pobozheva I. A., Anisimova K. A., Hamid Z. M., Sapojnikova A. P., Balandov S. G., Vasilevsky D. I., Pchelina S. N., Miroshnikova V. V. *FABP4* gene expression in subcutaneous and visceral adipose tissue in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2022;29(1):46–53. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-46-53.

* **Corresponding author:** Valentina V. Miroshnikova, Pavlov University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: v.v.mirosh@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Ожирение ассоциировано с высоким риском развития таких заболеваний, как метаболический синдром (МС), сахарный диабет II типа (СД2), сердечно-сосудистые заболевания. Являясь метаболически активным и эндокринным органом, жировая ткань (ЖТ) продуцирует гормоноподобные вещества — адипокины, которые участвуют в процессах энергетического обмена, метаболизма липидов и глюкозы, воспаления. Нарушение метаболизма липидов и дисбаланс секреции адипокинов при ожирении могут способствовать прогрессированию сопутствующих заболеваний [1].

FABP4 — наиболее изученный представитель семейства специфических липидных шаперонов — белков, связывающих жирные кислоты (FABPs — Fatty Acid-Binding Proteins), преимущественно экспрессирующийся клетками ЖТ (адипоцитами) [2]. Это основной цитоплазматический белок зрелых адипоцитов — на его долю приходится до 1 % от всех растворимых белков ЖТ [2]. *FABP4*, участвуя во внутриклеточном транспорте жирных кислот, регулирует их захват, внутриклеточное хранение и стимулирует процессы липолиза [3, 4]. Экспрессия гена *FABP4* определяется также в провоспалительно активированных макрофагах жировой ткани и в зонах атеросклеротических поражений сосудов, в эндотелиальных клетках артериол и венул, в тканях почек, легких и сердца человека [2, 5, 6].

FABP4 играет важную роль в регуляции процессов воспаления и метаболизма липидов, а также чувствительности к инсулину [4]. У лиц с ожирением, МС и СД2 наблюдается повышенный уровень *FABP4* в сыворотке крови [2, 7–10]. Исследование [11] показало, что *FABP4* связывается в кровотоке с ферментами нуклеозиддифосфаткиназой (NDPK) и аденозинкиназой (ADK), образуя белковый комплекс «фабкин» (*FABP4-ADK-NDPK*, Fabkin). Этот комплекс регулирует функцию клеток-мишеней, в частности, бета-клеток поджелудочной железы, продуцирующих инсулин. Экспериментально было показано, что у модельных мышей с ожирением при нейтрализации данного комплекса СД2 не развивается [11].

В настоящее время не очевидно, как уровень экспрессии гена *FABP4* в жировой ткани связан с концентрацией *FABP4* в сыворотке крови и, соответственно, с СД2. **Целью** исследования явилось изучение экспрессии гена *FABP4* в подкожной и висцеральной жировой ткани (ПЖТ и ВЖТ) у пациентов с ожирением и СД2.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Характеристика исследуемых групп. Исследование проводилось в группе 43 пациентов с ожирением II, III, IV степени (индекс массы тела (ИМТ) более 35 кг/м²; 21 пациент с СД2, 22 — без СД2). Парные образцы ПЖТ и ВЖТ были получены у пациентов при плановых бариатрических хирургических вмешательствах (шунтирование желудка или продольная резекция желудка) в Центре хирургического лечения ожирения и метаболических нарушений ПСПбГМУ им. И. П. Павлова. Аналогичные образцы от индивидуумов, составивших контрольную группу (N = 15) без ожирения и метаболических нарушений, получали при плановых операциях на брюшной полости. В таблице приведена краткая характеристика обследованных групп.

Оценка относительного уровня мРНК гена *FABP4*. Выделение тотальной РНК из биоптатов ПЖТ и ВЖТ было выполнено с использованием реагента Qiazol (*Qiagen*) с последующим удалением примеси геномной ДНК при обработке ДНКазой (DNase I, RNase-free, *Thermo Fisher Scientific*, США) согласно инструкции производителя. Для последующего синтеза кДНК был использован набор реагентов Revert Aid First cDNA Synthesis kit (*Thermo Fisher Scientific*, США). Отсутствие деградации РНК было проверено с помощью электрофореза в 1 %-м агарозном геле по соотношению интенсивности полос, соответствующих 28S и 18S рРНК (2:1 в случае отсутствия деградации). Относительный уровень мРНК гена *FABP4* определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с флуоресцентными зондами TaqMan на приборе CFX96 (*BioRad*, США) методом, описанным нами ранее [12]. Были использованы следующие

Характеристика групп, вошедших в исследование
Characteristics of the groups included in the study

Показатель	Пациенты с ожирением		Контрольная группа (N = 15)
	без сахарного диабета II типа (N = 22)	сахарный диабет II типа (N = 21)	
Возраст, лет	(40,8±10,0)	(47,0±10,5)	(48,4±12,9)
Пол (мужчины/женщины)	4/18	4/15	4/11
Индекс массы тела, кг/м ²	(42,3±5,9)	(49,4±7,0)	(25,2±3,2)
Окружность талии (ОТ), см	(118±13)	(139±15)	–
Окружность бедер (ОБ), см	(131±12)	(135±17)	–
ОТ/ОБ	(0,9±0,1)	(1,0±0,1)	–
Глюкоза, ммоль/л	(5,4±0,7)	(7,6±2,0)	(5,2±0,7)
Инсулин, мкМЕ/мл	(19,2±10,6)	(27,6±15,0)	–
Индекс инсулинорезистентности	(5,0±2,9)	(10,0±5,2)	–
С-пептид, нг/мл	(2,7±0,9)	(4,4±2,5)	–
Гликированный гемоглобин, %	(5,5±0,3)	(7,1±1,9)	–
Общий холестерин, ммоль/л	(5,1±1,0)	(5,0±1,0)	–
Холестерин ЛПВП, ммоль/л	(1,4±0,3)	(1,2±0,2)	–
Холестерин ЛПНП, ммоль/л	(3,0±0,9)	(2,6±0,9)	–
Триглицериды, ммоль/л	(1,7±0,9)	(2,2±0,9)	–

Примечание: ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ЛПНП – липопротеины низкой плотности.

последовательности (5'→3') прямого и обратного праймеров и зонда: 5'-gta-cct-gga-aac-ttg-tct-cca-3', 5'-cat-gcc-agc-cac-ttt-cct-g-3', 5'-(FAM)-agaagt-agg-agt-ggg-ctt-tgc-(BHQ1)-3' [12]. Для каждого образца измерение было выполнено в трех повторах, как минимум. Каждая плашка содержала отрицательный контроль (без матрицы) и контрольный образец, использовали пулированную кДНК жировой ткани, которая была получена от представителей контрольной группы (для всего цикла эксперимента) в трех повторах соответственно. Количество мРНК гена интереса нормировали по отношению к мРНК референсных генов *ACTB* и *RPLP0*.

Статистическую обработку данных выполняли в среде «R-Studio» с использованием встроенных пакетов «R» версии 3.6.2. Соответствие данных нормальному распределению проверяли с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для оценки различий между двумя группами использовали непараметрический U-критерий Манна – Уитни, между тремя группами с последующим попарным сравнением и с учетом поправки на множественные сравнения – тест Данна. Для анализа корреляции между количественными показателями пользовались методом Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень мРНК гена *FABP4* в ПЖТ был снижен как в подгруппе пациентов с ожирением без СД2, так и в подгруппе пациентов с ожирением и СД2, по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о снижении экспрессии этого гена в ПЖТ при ожирении (рис. 1). Нами также был проведен анализ корреляции уровня экспрессии гена *FABP4* с антропометрическими характеристиками:

уровень мРНК гена *FABP4* в ПЖТ продемонстрировал отрицательную корреляцию с показателем ИМТ ($r = -0,327$, $p = 0,016$).

При проведении сравнительного анализа уровня мРНК гена *FABP4* в ВЖТ было показано снижение уровня мРНК в объединенной группе пациентов с ожирением (независимо от наличия СД2), по сравнению с контрольной группой (рис. 2). При проведении сравнения отдельно в подгруппах пациентов с/без СД2 и в контрольной группе выявленные различия не выдержали поправки на множественные сравнения. Уровень экспрессии гена *FABP4* в ВЖТ также отрицательно коррелировал с показателем ИМТ ($r = -0,304$, $p = 0,024$).

В настоящем исследовании мы показали снижение уровня мРНК гена *FABP4* в ПЖТ и ВЖТ у пациентов с ожирением. В то же время уровень мРНК гена *FABP4* не отличался у пациентов с СД2 при сравнении с пациентами с ожирением без СД2, что свидетельствует о том, что снижение экспрессии гена *FABP4* связано, в первую очередь, с ожирением. Дополнительно была показана отрицательная корреляция уровня мРНК гена *FABP4* в ПЖТ и ВЖТ с ИМТ. Следует заметить, что предыдущие исследования, нацеленные установить связь ожирения и метаболических нарушений с экспрессией гена *FABP4* в жировой ткани, продемонстрировали противоречивые результаты.

Так, ранее сообщалось [15, 16], что экспрессия гена *FABP4* в ПЖТ и ВЖТ не изменяется при метаболически здоровом ожирении, по сравнению с лицами с нормальным весом. Однако в нескольких работах [4, 14, 15] было показано, что экспрессия *FABP4* в жировой ткани увеличивается при морбидном ожирении и у пациентов с СД2, что предполагает роль *FABP4* в патогенезе развития мета-

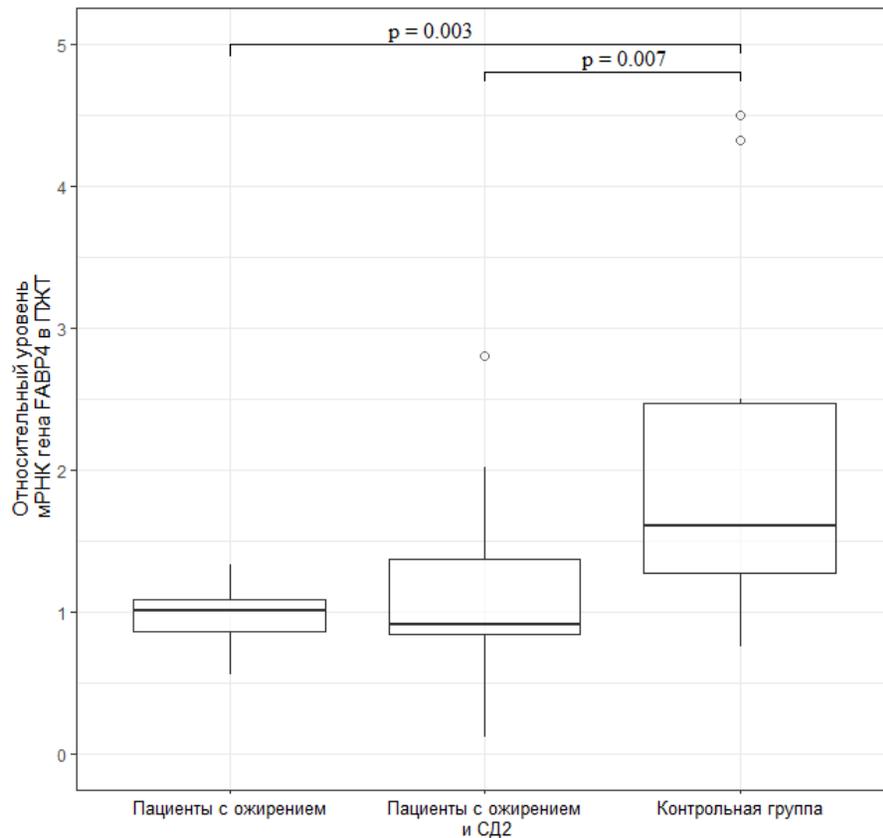


Рис. 1. Уровень мРНК гена *FABP4* в ПЖТ в подгруппах пациентов с ожирением, пациентов с ожирением и СД2 и контрольной группе

Fig. 1. The mRNA level of *FABP4* gene in SAT in the subgroups of patients with obesity, patients with obesity and DM2 and the control group

болического синдрома и инсулинорезистентности. В то же время в исследовании M. Clemente-Postigo et al. [17] было показано, что уровень мРНК гена *FABP4* снижен у людей с ожирением как в ПЖТ, так и ВЖТ, что согласуется с полученными нами данными. В исследовании M. I. Queipo-Ortuño et al. [18], данные которого также согласуются с нашими, лица без избыточной массы тела имели более высокий уровень мРНК гена *FABP4* в ПЖТ, чем лица с избыточным весом и ожирением. Для лиц с морбидным ожирением, в особенности с инсулинорезистентностью, было показано снижение экспрессии гена *FABP4* в ВЖТ [18]. При этом уровень *FABP4* в сыворотке крови положительно коррелировал с ИМТ, но без связи с экспрессией гена *FABP4* в жировой ткани [18]. Следует отметить, что ранее нами было продемонстрировано снижение уровня мРНК гена *FABP4* в ПЖТ при ишемической болезни сердца (ИБС) независимо от наличия ожирения, а в эпикардиальной ЖТ — у лиц с ИБС на фоне ожирения, корреляции уровня экспрессии гена *FABP4* с уровнем *FABP4* в сыворотке также не было выявлено [12]. Проведенный в исследовании [19] анализ протеома показал снижение содержания белка *FABP4* в эпикардиальной ЖТ при ИБС, что также согласуется с нашими данными о снижении экспрессии гена *FABP4* в жировой

ткани при ожирении и ИБС. Более того, ранее было показано [23], что вариант rs77878271 гена *FABP4*, расположенный в промоторной области и ассоциированный со снижением экспрессии гена, связан с увеличением сердечно-сосудистых событий у пациентов с сахарным диабетом I типа. Таким образом, снижение гена *FABP4* в жировой ткани может быть ассоциировано с увеличением риска сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ожирением и СД2, что требует проведения дополнительных исследований.

Известно, что экспрессия гена *FABP4* значительно увеличивается в процессе дифференцировки адипоцитов [4]. Недавнее исследование [20] показало, что экспрессия гена *FABP4* снижена в адипоцитах, дифференцированных из стволовых клеток ПЖТ пациентов с ожирением и МС. Это свидетельствует о том, что наблюдаемое в нашем исследовании снижение экспрессии гена *FABP4* в ЖТ пациентов с ожирением может быть связано с изначально сниженным адипогенным потенциалом преадипоцитов при ожирении. Таким образом, согласно накопленным данным, снижение экспрессии гена *FABP4* в ЖТ приводит к накоплению липидов в цитоплазме и гипертрофии адипоцитов у пациентов с ожирением, МС и СД2. С другой стороны, это не соответствует данным

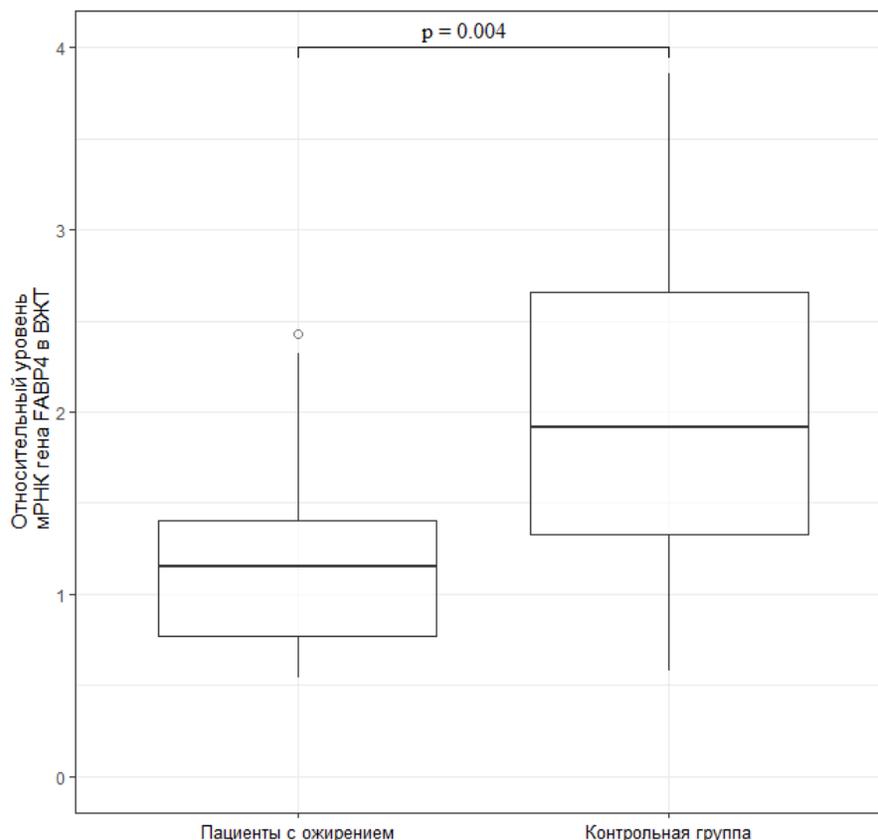


Рис. 2. Уровень мРНК гена *FABP4* в ВЖТ у пациентов с ожирением и в контрольной группе

Fig. 2. The mRNA level of *FABP4* gene in VAT in obese patients and in the control group

о повышении концентрации *FABP4* в сыворотке крови при данных патологиях.

В настоящее время нет единой точки зрения о том, каким образом регулируется и по какому механизму повышается секреция *FABP4* при ожирении и метаболических нарушениях. В частности, уровень *FABP4* в сыворотке крови может повышаться на фоне увеличения секреции экстраклеточных везикул (экзосом), в составе которых он находится, жировой тканью при ожирении [27]. Наряду с нарушением баланса адипокинов, экзосомы ЖТ рассматриваются как один из механизмов развития сопутствующих ожирению патологий. ЖТ является основным источником экзосом плазмы крови [25], которые, в свою очередь, могут быть вовлечены в процессы метаболизма липидов и регуляции чувствительности тканей к инсулину [26]. *FABP4* также был описан как основной маркер экзосом ЖТ [27].

Также есть предположение, что увеличенная концентрация в сыворотке крови может быть следствием экспрессии гена *FABP4* в печени [9]. Так, в работе [21] было показано, что *FABP4* может синтезироваться и секретироваться гепатоцитами и клетками гепатоцеллюлярной карциномы. Увеличение экспрессии гена *FABP4* в печени на фоне снижения экспрессии в ЖТ при ожирении было продемонстрировано на мышинных моделях [18, 21]. У пациентов с морбидным ожирением и инсулинорезистентностью показано увеличение

экспрессии в печени генов белков-переносчиков жирных кислот *FABP1*, *FABP4* и *FABP5* [18]. Увеличение концентрации в сыворотке и экспрессии гена *FABP4* в печени наблюдали и у лиц с различными патологиями печени [4, 21, 22].

ВЫВОДЫ

1. Накопленные данные свидетельствуют о том, что экспрессия гена *FABP4* в ЖТ не полностью предсказывает уровень *FABP4* в сыворотке крови при ожирении и метаболических нарушениях.

2. На уровень *FABP4* в сыворотке крови влияют и другие факторы, такие как пол, возраст, артериальная гипертензия [4].

3. Хотя в настоящей работе уровень *FABP4* в сыворотке не определялся, нам удалось продемонстрировать на выборке пациентов с ожирением II, III и IV степени (ИМТ > 35) снижение экспрессии гена *FABP4* в ЖТ, которое может выступать как маркер дисфункции ЖТ при ожирении.

Благодарности

Исследование поддержано грантом РФФИ № а 20-015-00502.

Acknowledgements

This work was supported by the grant from the Russian foundation for basic research RFBR № а 20-015-00502.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bays H. E., Toth P. P., Kris-Etherton P. M. et al.* Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association // *Journal of clinical lipidology*. – 2013. – Vol. 7, № 4. – P. 304–383. Doi: 10.1016/j.jacl.2013.04.001.
2. *Васюкова О. В., Окорочков П. П.* Роль специфических шаперонов в патогенезе ожирения и ассоциированных с ним заболеваний // *Проблемы эндокринологии*. – 2012. – Т. 58, № 4. – С. 48–53. Doi: 10.14341/probl201258448-53.
3. *Hotamisligil G. S., Bernlöhner D. A.* Metabolic functions of FABPs—mechanisms and therapeutic implications // *Nature Reviews Endocrinology*. – 2015. – Vol. 11, № 10. – P. 592–605. Doi: 10.1038/nrendo.2015.122.
4. *Kucharski M., Kaczor U.* Fatty Acid binding protein 4 (FABP4) and the body lipid balance // *Folia Biologica (Kraków)*. – 2017. – Vol. 65, № 4. – P. 181–186. Doi: 10.5551/jat.48710
5. *Agardh H. E., Folkersen L., Ekstrand J. et al.* Expression of fatty acid-binding protein 4/aP2 is correlated with plaque instability in carotid atherosclerosis // *J. Intern. Med.* – 2011. – Vol. 269. – P. 200–210. Doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02304.x
6. *Furuhashi M., Hiramitsu S., Mita T. et al.* Reduction of serum FABP4 level by sitagliptin, a DPP-4 inhibitor, in patients with type 2 diabetes mellitus // *J Lipid Res.* – 2015. – Vol. 56. – P. 2372–2380. Doi: 10.1194/jlr.M059469.
7. *Xu A., Tso A. W., Cheung B. M. et al.* Circulating adipocyte fatty acid binding protein levels predict the development of the metabolic syndrome: a 5-year prospective study // *Circulation*. – 2007. – № 115. – P. 1537–1543. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.647503.
8. *Ohyama Y., Iso T., Masuda K., Tamura S. et al.* Serum fatty acid binding protein 4 is an early marker for acute myocardial infarction // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2013. – Vol. 61. – P. E191. Doi: 10.1016/S0735-1097(13)60192-8.
9. *Rodríguez-Calvo R., Girona J., Alegret J. M. et al.* Role of the fatty acid-binding protein 4 in heart failure and cardiovascular disease // *J. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 233. – P. R173–R184. Doi: 10.1530/JOE-17-0031.
10. *Höbaus C., Herz C. T., Pesau G. et al.* FABP4 and cardiovascular events in peripheral arterial disease // *Angiology*. – 2018. Doi: 69:424-430. 10.1177/0003319717728226.
11. *Prentice K. J., Saksi J., Robertson L. T. et al.* A hormone complex of FABP4 and nucleoside kinases regulates islet function // *Nature*. – 2021. – Vol. 600, № 7890. – P. 720–726. Doi: 10.1038/s41586-021-04137-3.
12. *Miroshnikova V. V., Polyakova E. A., Pobozheva I. A. et al.* FABP4 and omentin-1 gene expression in epicardial adipose tissue from coronary artery disease patients // *Genetics and molecular biology*. – 2021. – Vol. 44. Doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2020-0441.
13. *Fatty acid binding protein expression in different human adipose tissue depots in relation to rates of lipolysis and insulin concentration in obese individuals / R. M. Fisher, A. Thörne, A. Hamsten, P. Arner // Mol. Cell. Biochem.* – 2002. – Vol. 239. – P. 95–100. Doi:
14. *Terra X., Quintero Y., Auguet T. et al.* FABP4 is associated with inflammatory markers and metabolic syndrome in morbidly obese women // *Eur. J. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 164. – P. 539–547. Doi: 10.1530/EJE-10-1195.
15. *FABP4 attenuates PPAR γ and adipogenesis and is inversely correlated with PPAR γ in adipose tissues / T. Garin-Shkolnik, A. Rudich, G. S. Hotamisligil, M. Rubinstein // Diabetes.* – 2014. – Vol. 63. – P. 900–911. Doi: 10.2337/db13-0436.
16. *Grzegorzczak E. A., Harasim-Symbor E., Lukaszuk B.* Lack of pronounced changes in the expression of fatty acid handling proteins in adipose tissue and plasma of morbidly obese humans // *Nutr. Diabetes*. – 2018. – Vol. 8. – P. 3. Doi: 10.1038/s41387-017-0013-x.
17. *Clemente-Postigo M., Queipo-Ortuno M. I., Fernandez-Garcia D. et al.* Adipose tissue gene expression of factors related to lipid processing in obesity // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, № 9. – E24783. Doi: 10.1371/journal.pone.0024783.
18. *Queipo-Ortuño M. I., Escoté X., Ceperuelo-Mallafre V. et al.* FABP4 Dynamics in Obesity: Discrepancies in Adipose Tissue and Liver Expression Regarding Circulating Plasma Levels // *Plos One*. – 2012. – Vol. 7. – P. E4860. Doi: 10.1371/journal.pone.0048605.
19. *Zhao Y. X., Zhu H. J., Pan H. et al.* Comparative proteome analysis of epicardial and subcutaneous adipose tissues from patients with or without coronary artery disease // *Int. J. Endocrinol.* – 2019. – P. 6976712. Doi: 10.1155/2019/6976712.
20. *Oliva-Olivera W., Coin-Aragüez L., Lhamyani S. et al.* Adipogenic impairment of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in subjects with metabolic syndrome: possible protective role of FGF2 // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. jc. – 2016. – P. 2256. Doi: 10.1210/jc.2016-2256. Doi: 10.1210/jc.2016-2256.
21. *Thompson K. J., Austin R. G., Nazari S. S. et al.* Altered fatty acid-binding protein 4 (FABP 4) expression and function in human and animal models of hepatocellular carcinoma // *Liver International*. – 2018. – Vol. 38, № 6. – P. 1074–1083. Doi: 10.1111/liv.13639.
22. *Graupera I., Coll M., Pose E. et al.* Adipocyte fatty acid binding protein is overexpressed in cirrhosis and correlates with clinical outcomes // *Sci Rep*. – 2017. – Vol. 7. – P. 1829. Doi: 10.1038/s41598-017-01709-0.
23. *Dahlström E. H., Saksi J., Forsblom C. et al.* The low-expression variant of FABP4 is associated with cardiovascular disease in type 1 diabetes // *Diabetes*. – 2021. – Vol. 70, № 10. – P. 2391–2401. Doi: 10.2337/db21-0056.
24. *Elmasri H., Karaaslan C., Teper Y. et al.* Fatty acid binding protein 4 is a target of VEGF and a regulator of cell proliferation in endothelial cells // *The FASEB Journal*. – 2009. – Vol. 23, № 11. – P. 3865–3873. Doi: 10.1096/fj.09-134882.
25. *Thomou T., Mori M. A., Dreyfuss J. M. et al.* Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues // *Nature*. – 2017. – Vol. 542, № 7642. – P. 450–455. Doi: 10.1038/nature22319.
26. *Characteristics and roles of exosomes in cardiovascular disease / Y. Zhang, Y. Hu W., L. Zheng, Q. Wang // DNA and cell biology.* – 2017. – Vol. 36, № 3. – P. 202–211. Doi: 10.1089/dna.2016.3496.

27. Ferrante S. C., Nadler E. P., Pillai D. K. et al. Adipocyte-derived exosomal miRNAs: a novel mechanism for obesity-related disease // *Pediatric research*. – 2015. – Vol. 77, № 3. – P. 447–454. Doi: 10.1038/pr.2014.202

REFERENCES

- Bays H. E., Toth P. P., Kris-Etherton P. M., Abate N., Aronne L. J., Brown W. V., Samuel V. T. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association // *Journal of clinical lipidology*. 2013; 7(4):304–383. Doi: 10.1016/j.jacl.2013.04.001.
- Vasyukova O. V., Okorokov P. L. The role of specific chaperons in pathogenesis of obesity and related diseases // *Problems of Endocrinology*. 2012;58(4):48–53. Doi: 10.14341/probl201258448-53. (In Russ.).
- Hotamisligil G. S., Bernlöhner D. A. Metabolic functions of FABPs—mechanisms and therapeutic implications // *Nature Reviews Endocrinology*. 2015;11(10):592–605. Doi: 10.1038/nrendo.2015.122.
- Kucharski M., Kaczor U. Fatty Acid binding protein 4 (FABP4) and the body lipid balance // *Folia Biologica (Kraków)*. 2017;65(4):181–186. Doi: 10.5551/jat.48710.
- Agardh H. E., Folkersen L., Ekstrand J., Marcus D., Swedenborg J., Hedin U., Gabrielsen A., Paulsson-Berne G. Expression of fatty acid-binding protein 4/aP2 is correlated with plaque instability in carotid atherosclerosis // *J Intern Med*. 2011;(269):200–210. Doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02304.x.
- Furuhashi M., Hiramitsu S., Mita T., Fuseya T., Ishimura S., Omori A., Matsumoto M., Watanabe Y., Hoshina K., Tanaka M. et al. Reduction of serum FABP4 level by sitagliptin, a DPP-4 inhibitor, in patients with type 2 diabetes mellitus // *J Lipid Res*. 2015;(56):2372–2380. Doi: 10.1194/jlr.M059469
- Xu A., Tso A. W., Cheung B. M., Wang Y., Wat N. M., Fong C. H., Yeung D. C. Y., Janus E. D., Sham P. C., Lam K. S. L. Circulating adipocyte fatty acid binding protein levels predict the development of the metabolic syndrome: a 5-year prospective study // *Circulation*. 2007;(115):1537–1543. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.647503
- Ohyama Y., Iso T., Masuda K., Tamura S., Murata M., Iijima T., Goto K., Funada R., Koitabashi N., Takama N. et al. Serum fatty acid binding protein 4 is an early marker for acute myocardial infarction // *J Am Coll Cardiol*. 2013;(61):E191. Doi: 10.1016/S0735-1097(13)60192-8.
- Rodríguez-Calvo R., Girona J., Alegret J. M., Bosquet A., Ibarretxe D., Masana L. Role of the fatty acid-binding protein 4 in heart failure and cardiovascular disease // *J Endocrinol*. 2017;(233):R173–R184. Doi: 10.1530/JOE-17-0031.
- Höbaus C., Herz C. T., Pesau G., Wrba T., Koppensteiner R., Scherthaner G. H. FABP4 and cardiovascular events in peripheral arterial disease // *Angiology*. 2018;(69):424–430. Doi: 10.1177/0003319717728226.
- Prentice K. J., Saksi J., Robertson L. T., Lee G. Y., Inouye K. E., Eguchi K., Hotamisligil G. S. A hormone complex of FABP4 and nucleoside kinases regulates islet function // *Nature*. 2021;600(7890):720–726. Doi: 10.1038/s41586-021-04137-3.
- Miroshnikova V. V., Polyakova E. A., Pobozeva I. A., Panteleeva A. A., Razzgildina, N. D., Kolodina, D. A., Baranova E. I. FABP4 and omentin-1 gene expression in epicardial adipose tissue from coronary artery disease patients // *Genetics and molecular biology*. 2021;44. Doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2020-0441.
- Fisher R. M., Thörne A., Hamsten A., Arner P. Fatty acid binding protein expression in different human adipose tissue depots in relation to rates of lipolysis and insulin concentration in obese individuals // *Mol Cell Biochem*. 2002;(239):95–100. Doi: 10.1007/s00125-002-0951-0.
- Terra X., Quintero Y., Auguet T., Porrás J. A., Hernández M., Sabench F. FABP4 is associated with inflammatory markers and metabolic syndrome in morbidly obese women // *Eur J Endocrinol*. 2011;(164):539–547. Doi: 10.1530/EJE-10-1195.
- Garin-Shkolnik T., Rudich A., Hotamisligil G. S., Rubinstein M. FABP4 attenuates PPAR γ and adipogenesis and is inversely correlated with PPAR γ in adipose tissues // *Diabetes*. 2014;(63):900–911. Doi: 10.2337/db13-0436.
- Grzegorzczak E. A., Harasim-Symbor E., Lukaszuk B., Harasiuk D., Choromanska B., Mysliwiec P., Zendzian-Piotrowska M., Chabowski A. Lack of pronounced changes in the expression of fatty acid handling proteins in adipose tissue and plasma of morbidly obese humans // *Nutr Diabetes*. 2018;(8):3. Doi: 10.1038/s41387-017-0013-x.
- Clemente-Postigo M., Queipo-Ortuno M. I., Fernandez-Garcia D., Gomez-Huelgas R., Tinahones F. J., Cardona F. Adipose tissue gene expression of factors related to lipid processing in obesity // *PLoS One*. 2011;6(9):E24783. Doi: 10.1371/journal.pone.0024783.
- Queipo-Ortuno M. I., Escoté X., Ceperuelo-Mallafre V., GarridoSanchez L., Miranda M., Clemente-Postigo M., Pérez-Pérez R., Peral B., Cardona F., Fernández-Real J. M. et al. FABP4 Dynamics in Obesity: Discrepancies in Adipose Tissue and Liver Expression Regarding Circulating Plasma Levels // *Plos One*. 2012;(7):E4860. Doi: 10.1371/journal.pone.0048605.
- Zhao Y. X., Zhu H. J., Pan H., Liu X. M., Wang L. J., Yang H., Li N., Gong F. Y., Sun W., Zeng Y. Comparative proteome analysis of epicardial and subcutaneous adipose tissues from patients with or without coronary artery disease // *Int J Endocrinol*. 2019;6976712. Doi: 10.1155/2019/6976712.
- Oliva-Olivera W., Coin-Aragüez L., Lhamyani S., Clemente-Postigo M., Alcaide Torres J., Bernal-Lopez M. R., Tinahones F. J. Adipogenic impairment of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in subjects with metabolic syndrome: possible protective role of FGF2. // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2016;2256. Doi: 10.1210/jc.2016-2256.
- Thompson K. J., Austin R. G., Nazari S. S., Gersin K. S., Iannitti D. A., McKillop I. H. Altered fatty acid-binding protein 4 (FABP 4) expression and function in human and animal models of hepatocellular carcinoma // *Liver International*. 2018;38(6):1074–1083. Doi: 10.1111/liv.13639.
- Graupera I., Coll M., Pose E., Elia C., Piano S., Sola E., Blaya D., Huelin P., Sole C., Moreira R. et al. Adipocyte fatty-acid binding protein is overexpressed in cirrhosis and correlates with clinical outcomes // *Sci Rep*. 2017;(7):1829. Doi: 10.1038/s41598-017-01709-0.
- Dahlström E. H., Saksi J., Forsblom C., Uglebjerg N., Mars N., Thorn L. M., Groop P. H. (). The low-expression variant of FABP4 is associated with cardiovascular disease in type 1 diabetes // *Diabetes*. 2021;70(10):2391–2401. Doi: 10.2337/db21-0056
- Elmasri H., Karaaslan C., Teper Y., Ghelfi E., Weng M., Ince T. A., Cataltepe S. Fatty acid binding protein 4 is a target of VEGF and a regulator of cell proliferation in endothelial cells // *The FASEB Journal*. 2009;23(11):3865–3873. Doi: 10.1096/fj.09-134882.
- Thomou T., Mori M. A., Dreyfuss J. M., Konishi M., Sakaguchi M., Wolfrum C., Kahn C. R. Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues // *Nature*. 2017;542(7642):450–455. Doi: 10.1038/nature22319.
- Zhang Y., Hu Y. W., Zheng L., Wang Q. Characteristics and roles of exosomes in cardiovascular disease // *DNA and cell biology*. 2017;36(3):202–211. Doi: 10.1089/dna.2016.3496.
- Ferrante S. C., Nadler E. P., Pillai D. K., Hubal M. J., Wang Z., Wang J. M., Freishtat R. J. Adipocyte-derived exosomal miRNAs: a novel mechanism for obesity-related disease // *Pediatric research*. 2015;77(3):447–454. Doi: 10.1038/pr.2014.202.

Информация об авторах

Драчева Ксения Владимировна, аспирант, лаборант лаборатории медицинской генетики Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий Научно-исследовательского центра, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), лаборант-исследователь лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0002-6972-7924; **Побожева Ирина Александровна**, младший научный сотрудник лаборатории медицинской генетики Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий научно-исследовательского центра, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0001-5115-3259; **Анисимова Кристина Александровна**, врач-хирург, хирургическое отделение № 2 НИИ хирургии и неотложной медицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-6042-322X; **Хамид Зарина Михайловна**, врач-хирург, хирургическое отделение № 2 НИИ хирургии и неотложной медицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-0050-3746; **Сапожникова Антонина Павловна**, лаборант, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0002-1561-2662; **Баландов Станислав Георгиевич**, кандидат медицинских наук, зав. хирургическим отделением № 2, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-5306-5332; **Василевский Дмитрий Игоревич**, доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии факультетской с курсом лапароскопической хирургии и сердечно-сосудистой хирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-7283-079X; **Пчелина Софья Николаевна**, доктор биологических наук, руководитель Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий Научно-исследовательского центра, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), зав. лабораторией молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0001-7431-6014; **Мирошникова Валентина Вадимовна**, кандидат биологических наук, зав. лабораторией медицинской генетики Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий Научно-исследовательского центра, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0003-3160-2314.

Information about authors

Dracheva Kseniia V., Postgraduate Student, Laboratory Assistant at the Laboratory of Medical Genetics of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies of the Research Center, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); Laboratory Assistant at the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0002-6972-7924; **Pobozheva Irina A.**, Junior Research Fellow at the Laboratory of Medical Genetics of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies of the Research Center, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); Junior Research Fellow at the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0001-5115-3259; **Anisimova Kristina A.**, Surgeon, Surgical Department № 2 of the Research Institute of Surgery and Emergency Medicine, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-6042-322X; **Hamid Zarina M.**, Surgeon, Surgical Department № 2 of the Research Institute of Surgery and Emergency Medicine, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-0050-3746; **Sapojnikova Antonina P.**, Laboratory Assistant, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0002-1561-2662; **Balandov Stanislav G.**, Cand. of Sci. (Med.), Head of the Surgical Department № 2, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-5306-5332; **Vasilevsky Dmitry I.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor of the Department of Faculty Surgery with a Course of Laparoscopic Surgery and Cardiovascular Surgery, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-7283-079X; **Pchelina Sofya N.**, Dr. of Sci. (Biol.), Head of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies of the Research Center, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); Head of the Laboratories of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0001-7431-6014; **Miroshnikova Valentina V.**, Cand. of Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Medical Genetics of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies of the Research Center, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), Senior Research Fellow at the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0003-3160-2314.



© CC 0 Коллектив авторов, 2022
УДК [616.33 + 616.342]-002.44-06
DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-54-62

**З. Х. Османов^{1*}, М. Г. Рыбакова¹, Ю. А. Тихонова¹, Д. Ю. Семенов², А. Ю. Корольков¹,
А. А. Мыльникова¹**

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСЛОЖНЕННЫХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ЯЗВ

Поступила в редакцию 28.02.2022 г.; принята к печати 27.04.2022 г.

Резюме

Цель исследования — оценка структурных изменений в крае гастродуоденальных язв, осложненных перфорацией, кровотечением или пенетрацией, с точки зрения особенностей заживления язвенного дефекта.

Методы и материалы. Проведены гистологическое и иммуногистологическое исследования 25 пациентов основной группы с перфоративными гастродуоденальными язвами и 23 контрольной группы с хроническими рецидивирующими язвами, осложненными кровотечением и пенетрацией. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону. Выполняли иммуногистохимические реакции с антителами к Ki-67, CD68, CD138, CD34.

Результаты. При макроскопической оценке был отмечен четкий ровный край перфоративного отверстия. При гистологическом исследовании на фоне острых дисциркуляторных изменений отчетливо выделяется зона некроза и слабо выраженный слой грануляционной ткани, в большинстве случаев практически отсутствовавший. Край перфоративной язвы состоит из минимально представленной, четко отграниченной зоны тканевого детрита и практически не измененного мышечного слоя. В клеточном инфильтрате доминировали плазмоциты, а индекс пролиферативной активности в эпителии краев язвы составил около 45 % и распределялся достаточно равномерно.

Заключение. Перфоративную язву можно рассматривать как особую группу осложнений с наиболее выраженными изменениями в виде инфильтрации плазмоцитами и эозинофилами, отеком и острыми дисциркуляторными изменениями, равномерной и достаточно высокой пролиферативной активностью эпителия. Изменения в краях прободной язвы делают возможной полную регенерацию без чрезмерного рубцевания при прецизионном ушивании перфорации.

Ключевые слова: перфоративная язва, желудок, двенадцатиперстная кишка, ушивание язвы, гистологическое исследование, иммуногистохимическое исследование

Для цитирования: Османов З. Х., Рыбакова М. Г., Тихонова Ю. А., Семенов Д. Ю., Корольков А. Ю., Мыльникова А. А. Морфологические особенности осложненных гастродуоденальных язв. Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. 2022;29(1):54–62. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-54-62.

* **Автор для связи:** Зейнур Худдусович Османов, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. E-mail: zhosmanov@yandex.ru.

**Zeinur H. Osmanov^{1*}, Margarita G. Rybakova¹, Yuliana A. Tikhonova¹, Dmitry Ju. Semenov²,
Andrey Yu. Korolkov¹, Anastasia A. Mylnikova¹**

¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

² Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, Saint Petersburg, Russia

MORPHOLOGICAL FEATURES OF COMPLICATED GASTRODUODENAL ULCERS

Received 28.02.2022; accepted 27.04.2022

Summary

The **objective** of the study was to evaluate structural changes in the margin of gastroduodenal ulcers complicated by perforation, bleeding or penetration in terms of the features of ulcer healing.

Methods and materials. Histological and IHC studies were performed on 25 patients of the main group with perforated gastroduodenal ulcers and 23 patients of the control group with chronic recurrent ulcers complicated by bleeding and penetration. Histological sections were stained with hematoxylin and eosin, and Van Gieson's picrofuchsin. Immunohistochemical reactions were performed with antibodies to Ki-67, CD68, CD138, and CD34.

Results. On macroscopic evaluation, a clear even margin of the perforation was noted. Histological examination with the background of acute dyscirculatory changes clearly shows a zone of necrosis and a weakly expressed layer of granulation tissue, which in majority of the cases was practically absent. The margin of a perforated ulcer consists of a minimally presented, clearly delimited zone of tissue detritus and a practically unchanged muscle layer. Plasma cells dominated in the cell infiltrate, and the index of proliferative activity in the epithelium of the ulcer margins was about 45 %, distributed fairly evenly.

Conclusions. Perforated ulcers can be considered as a special group of ulcers with the most pronounced changes of infiltration by plasmatic cells and eosinophils, edema and acute dyscirculatory changes, uniform and fairly high proliferative activity of the epithelium. Changes in the margins of the perforated ulcer allow for complete regeneration without excessive scarring with precise suturing of the perforation.

Keywords: perforated ulcer, stomach, duodenum, ulcer closure, histological examination, immunohistochemical examination

For citation: Osmanov Z. H., Rybakova M. G., Tikhonova Yu. A., Semenov D. Ju., Korolkov A. Yu., Mylnikova A. A. Morphological features of complicated gastroduodenal ulcers. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2022;29(1):54–62. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-54-62.

* **Corresponding author:** Zeinur H. Osmanov, Pavlov University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: zhosmanov@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

До настоящего времени наиболее распространенными операциями при прободной гастродуоденальной язве остаются ее ушивание или разные виды оментопексии [1–5], что, наряду с санацией брюшной полости, достаточно для получения адекватных результатов лечения. Использование современных схем противоязвенной терапии позволило улучшить и отдаленные результаты комплексного лечения, но, по данным различных исследователей, после ушивания язв рецидивы могут развиваться от 35,2 до 67,8 % случаев, а число перфораций и кровотечений доходить до 23 % [6–9]. Однако существуют данные, отражающие низкий процент (от 4 до 8 %) неблагоприятных отдаленных результатов с рецидивами язв и повторными осложнениями [10, 11].

Ретроспективный клинко-морфологический анализ исходов лечения пациентов с плохими отдаленными результатами показал, что в периульцеральной зоне наблюдается метаплазия эпителия, прогрессирует рубцовая деформация, сопровождающаяся нарушением моторики и развитием дуоденостаза, формированием пристенотического расширения и дисбалансом секреции желудочных и кишечных пептидов, ответственных за продукцию соляной кислоты [12–14].

Существует значительное число публикаций, обосновывающих необходимость применения двухрядного шва для предотвращения его несостоятельности в зоне операции [14–16]. Однако в сочетании с укреплением прядью сальника этот шов, с большой долей вероятности, способен усугубить рубцово-язвенную деформацию зоны ушивания. Одной из основных причин редкого использования лапароскопических вмешательств у пациентов с перфорацией язв является риск несостоятельности эндоскопического шва. Сохраняется крайне низкий процент, не превышающий 10,7 % по Российской Федерации, использования лапароскопического ушивания прободного отвер-

стия с интракорпоральным швом [17]. Несколько выше аналогичные показатели, представленные в общенациональных отчетах Великобритании и США, где преимущественно последние 15 лет лапароскопические вмешательства выполняются с частотой от 4,5 до 18,4 % [18, 19]. При этом в некоторых специализированных госпиталях эти методы выполняются до 95 % случаев [20–22]. В то же время наложение прецизионного однорядного эндовидеохирургического шва, который сравним по числу несостоятельств с традиционным, может привести к улучшению отдаленных результатов лечения гастродуоденальных язв.

На основании вышеизложенного становится актуальным вопрос изучения периульцерозной зоны, структурные особенности которой могли бы обосновать выбор шва при ушивании прободного язвенного дефекта. Детальное описание морфологических особенностей данных язв представлено лишь в немногочисленных литературных источниках, относящихся к прошлому десятилетию [23, 24].

Бесспорно, изучение морфологических изменений с учетом качественного состава воспалительного инфильтрата в зоне, окружающей язвенный дефект, позволит аргументировать оптимальный способ ушивания перфоративных гастродуоденальных язв [25, 26] для достижения надежности и герметичности наложенного в ходе оперативного вмешательства шва без грубых рубцово-спаечных процессов и прогрессирования склеротических изменений.

Цель исследования — оценить структурные изменения в крае гастродуоденальных язв, осложненных перфорацией, кровотечением или пенетрацией, с точки зрения особенностей заживления язвенного дефекта.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Ретроспективно исследовали операционный материал ткани желудка и двенадцатиперстной кишки 48 больных, прооперированных в СПбГБУЗ

«Городская больница Святого великомученика Георгия». Использовали архивные парафиновые блоки, приготовленные по стандартной методике после фиксации вырезанного операционного материала в 10 %-м водном растворе нейтрального формалина с последующей стандартной проводкой и заливкой в парафин. С парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону. Исследование дополнили иммуногистохимическим (ИГХ) исследованием — реакциями с антителами к Ki-67 для изучения пролиферативной активности эпителия, CD68 и CD138 с целью оценки качественного состава клеточно-инфильтрата, CD34, маркирующему эндотелий сосудов.

В основную группу включили 25 наблюдений пациентов с перфоративными гастродуоденальными язвами, в контрольную группу — 23 наблюдения с хроническими рецидивирующими язвами, осложненными кровотечением и пенетрацией.

Группы сравнения сопоставимы. Была выполнена полуколичественная морфометрия. С помощью сетки Вайбеля методом случайной выборки в 10 полях зрения в каждом микропрепарате оценивали полуколичественно площадь склероза и плотность воспалительного инфильтрата, интерпретированные в баллах: 0 — отсутствие, 1 — минимально выражены (до 10 %), 2 — слабо выражены (от 11 до 25 %), 3 — умеренно выражены (от 26 до 50 %), 4 — интенсивно выражены (более 50 %).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В 36 % случаях перфоративная язва локализовалась в желудке, в 56 % случаев обнаружены язвы двенадцатиперстной кишки, в 8 % наблюдений выявлено сочетание язв желудка и двенадцатиперстной кишки. Язвы желудка встречались только у мужчин (средний возраст — 51,4 года). Соотношение мужчин и женщин при сочетании язв желудка и двенадцатиперстной кишки составило 1:1 (средний возраст — 36,5 года). В наблюдениях с язвой двенадцатиперстной кишки соотношение мужчин и женщин — 5:2 (средний возраст мужчин — 37,9 года, средний возраст женщин 72 года).

Средний размер перфоративного язвенного дефекта составлял (5 ± 2) мм. Макроскопически оно имело округлую или овальную форму с достаточно четкими ровными контурами и границами с окружающей тканью. Язвенный дефект в контрольной группе в среднем был размером (8 ± 2) мм, проникал в стенку желудка или двенадцатиперстной кишки на различную глубину (преимущественно до мышечного слоя). Дно язвы было шероховатое и тусклое, в $1/2$ наблюдений — гладкое.

В основной группе исследования с перфоративными язвами средний размер зоны периульцерального некроза, которая достаточно четко вы-

делялась на фоне жизнеспособной ткани, составил $(1,5 \pm 0,5)$ мм (рис. 1).

Участок некроза в 60 % наблюдений микроскопически был представлен гомогенными эозинофильными бесструктурными массами, фибрином, десквамированными безъядерными клетками, нейтрофилами, эритроцитами. В 20 % случаев в зоне некроза преобладали сегментоядерные лейкоциты и «обломки» их ядер, при этом объем тканевого детрита был незначителен. В 20 % наблюдений зона вокруг перфоративной язвы состояла из немногочисленных некротических масс и большого количества эритроцитов, в том числе гемолизированных. В подавляющем большинстве случаев вокруг язвенного дефекта определялись множественные острые эрозии слизистой оболочки.

В 80 % наблюдений в основной группе фиброз в мышечном слое желудка и двенадцатиперстной кишке отсутствовал, в 10 % случаев был выражен слабо и в 10 % — умеренно (рис. 2).

Морфологические изменения в зоне язвенного дефекта желудка и двенадцатиперстной кишки контрольной группы (кровотечения и пенетрации) были достаточно стереотипны. Отчетливо выделялись четыре зоны. Первый (верхний) слой представлен гомогенными бесструктурными некротическими массами с фибрином, слизью, обилием нейтрофилов и примесью макрофагов (CD68+). Второй слой — зона фибриноидного некроза шириной от 1 до 2 мм. Третий слой состоял из грануляционной ткани с большим количеством новообразованных тонкостенных сосудов. В этой области отмечалась лимфоплазмозитарная инфильтрация различной степени выраженности. Четвертый слой был представлен соединительной тканью различной степени зрелости, местами с участками гиалинизации. В краях язвы слизистая оболочка была с признаками гиперплазии желез, единичные из которых — с признаками интраэпителиальной неоплазии/дисплазии низкой степени. Серозная оболочка в зоне хронической язвы утолщена за счет разрастания рубцовой ткани.

В обеих группах исследования был выявлен воспалительный инфильтрат в краях язвенного дефекта. В наблюдениях основной группы клеточный инфильтрат состоял преимущественно из плазмозитов (CD138+) с примесью макрофагов (CD68+), лимфоцитов и обилием эозинофилов (рис. 3; 4).

В контрольной группе клеточный инфильтрат был представлен значительно в меньшей степени и состоял в основном из лимфоцитов и макрофагов, плазматические клетки были представлены в меньшей степени, эозинофилы были единичны (рис. 5).

В основной группе, наряду с вышеописанными воспалительно-некротическими процессами, обращали на себя внимание выраженные острые дисциркуляторные изменения, которые заключались в значительном отеке и неравномерном

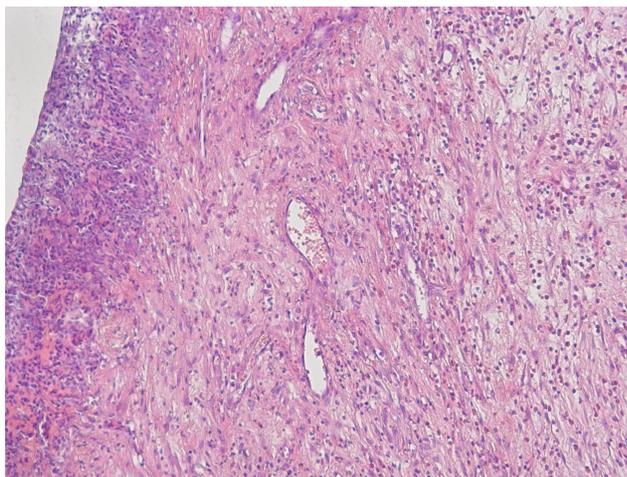


Рис. 1. Основная группа: отчетливая зона некроза вокруг язвенного дефекта (окраска гематоксилином и эозином, $\times 240$)

Fig. 1. Main group: distinct necrosis zone around the ulcerative defect (hematoxylin and eosin staining, $\times 240$)

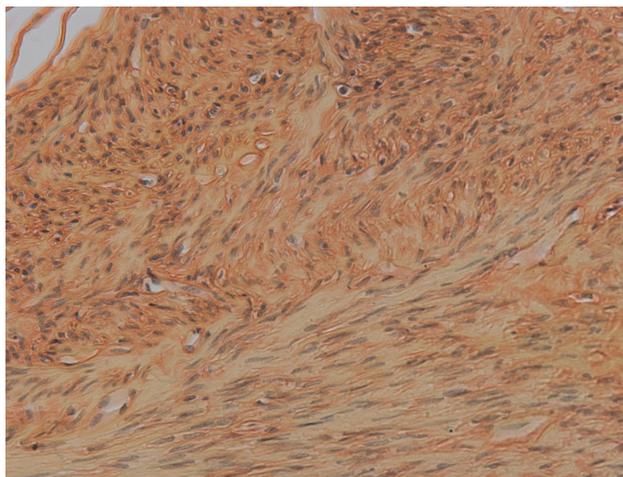


Рис. 2. Основная группа: мелкоочаговый склероз в мышечном слое желудка (окраска пикрофуксином по ван Гизону, $\times 320$)

Fig. 2. Main group: small-focal sclerosis in the muscular layer of the stomach (van Gieson picrofuchsin staining, $\times 320$)

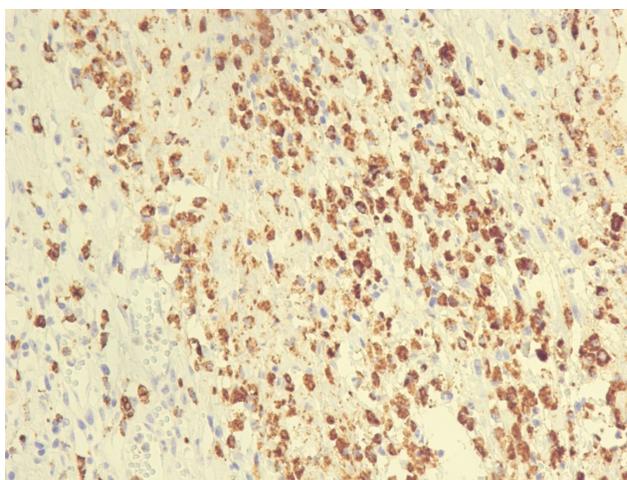


Рис. 3. Основная группа: интенсивная инфильтрация плазмочитами (CD138+) в крае перфоративного дефекта (ИГХ-реакция с антителами CD138, $\times 300$)

Fig. 3. Main group: intensive infiltration by plasmocytes (CD138+) in the margin of the perforated defect (IHC reaction with CD138 antibodies, $\times 300$)

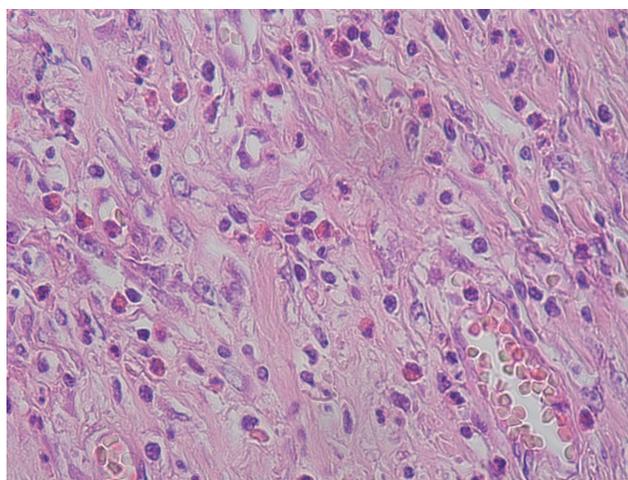


Рис. 4. Основная группа: плазмочиты и эозинофилы в краях перфоративного язвенного дефекта (окраска гематоксилином и эозином, $\times 360$)

Fig. 4. Main group: plasmocytes and eosinophils at the margins of the perforated ulcerative defect (staining with hematoxylin and eosin, $\times 360$)

полнокровии всех слоев стенки органа (желудок, двенадцатиперстная кишка) (рис. 6). В сосудах разного калибра, особенно микроциркуляторного русла, наблюдались стазы, сладжи и свежие, преимущественно эритроцитарные, тромбы. Встречались участки со свежими мелкоочаговыми кровоизлияниями.

В единичных случаях в основной группе были обнаружены «старые» тромбы в просвете сосудов, некоторые из них — с признаками организации и васкуляризации (рис. 7). Данные изменения встречались в наблюдениях с интенсивной плазмочитарной инфильтрацией в краях перфоративного язвенного дефекта.

Во всех наблюдениях контрольной группы были выявлены сосуды артериального типа с утолщен-

ными фиброзированными стенками, мелкие артерии и артериолы — с явлениями гиалиноза. Определялись новообразованные сосуды с гиперплазией и набуханием эндотелиоцитов (рис. 8).

Индекс пролиферативной активности в эпителии слизистой оболочки, оцениваемый с помощью иммуногистохимической реакции с использованием антител к Ki-67, в основной группе составил около 45%. Экспрессия Ki-67 была выявлена в ядрах эпителиоцитов на всем протяжении от поверхностных отделов слизистой оболочки до донных отделов желез. При этом в эпителии краев перфоративной язвы пролиферирующие клетки были распределены неравномерно (рис. 9).

В краях язвенного дефекта без перфорации (контрольная группа) отмечалась неравномерная

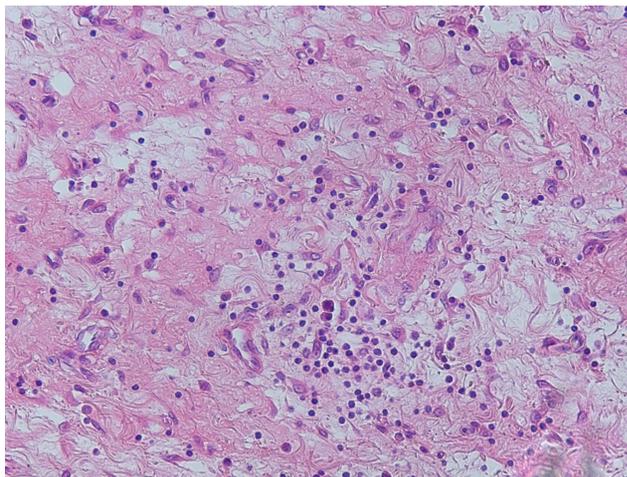


Рис. 5. Контрольная группа: смешанный воспалительный инфильтрат с преобладанием лимфоцитов в краях язвенного дефекта (окраска гематоксилином и эозином, $\times 280$)

Fig. 5. Control group: mixed inflammatory infiltrate with predominance of lymphocytes at the margins of ulcerative defect (hematoxylin and eosin staining, $\times 280$)

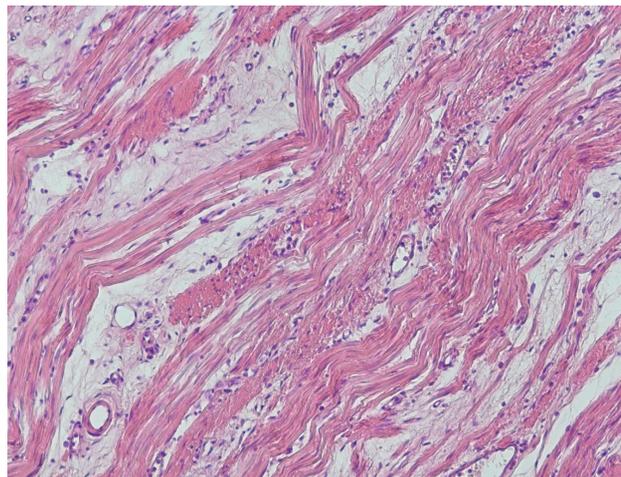


Рис. 6. Основная группа: выраженный неравномерный межмышечный отек и неравномерное полнокровие сосудов в мышечной оболочке желудка (окраска гематоксилином и эозином, $\times 240$)

Fig. 6. Main group: pronounced uneven intermuscular edema and uneven vascular congestion in the muscular lining of the stomach (hematoxylin and eosin staining, $\times 240$)

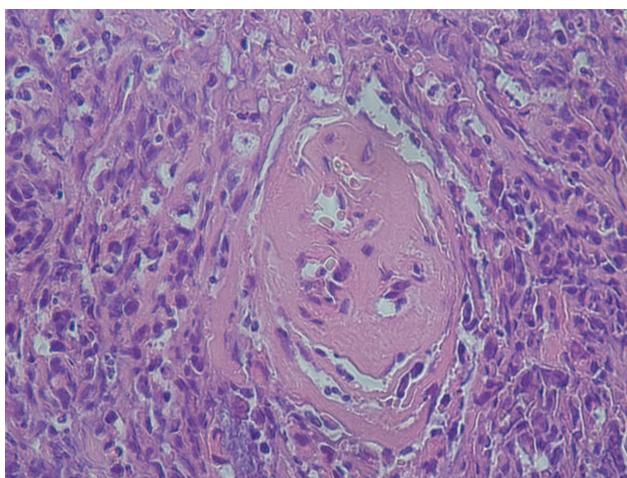


Рис. 7. Основная группа: старый тромб с признаками организации и канализации (окраска гематоксилином и эозином, $\times 340$)

Fig. 7. Main group: an old blood clot with signs of organization and canalization (hematoxylin and eosin staining, $\times 340$)

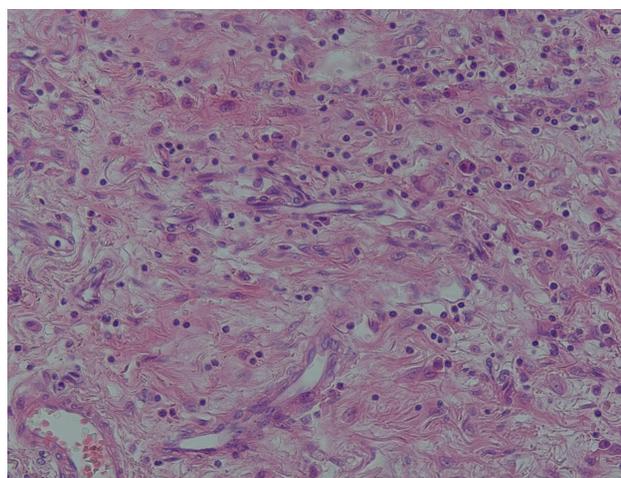


Рис. 8. Контрольная группа: обилие новообразованных сосудов с набухшими эндотелиоцитами (окраска гематоксилином и эозином, $\times 280$)

Fig. 8. Control group: amplitude of newly formed vessels with swollen endothelial cells (hematoxylin and eosin staining, $\times 280$)

очаговая пролиферация желез, встречались участки с отсутствием экспрессии Ki-67 (рис. 10). Кроме мозаичной экспрессии Ki-67, в эпителии желез наблюдались явления кишечной метаплазии, в большей степени ее гиперпролиферативный вариант. Неравномерная пролиферация железистого эпителия выявлена также в гиперпластических разрастаниях слизистой оболочки краев язвы без перфорации (рис. 11).

Таким образом, проведенное исследование выявило ряд отличий в сравниваемых группах. При макроскопической оценке язв, осложненных перфорацией, было отмечено, что прободное отверстие имеет достаточно четкий ровный край. При гистологическом исследовании в перфоративной язве

отчетливо выделяется зона некроза, а также слабо выраженный слой грануляционной ткани, в большинстве случаев практически отсутствовавший. Следует отметить минимальные изменения в периульцерозной области при язвах с перфорацией, которые заключались лишь в отеке и неравномерном полнокровии сосудов разного калибра. Четкая зональность (некроз — грануляционная ткань — неизменная ткань органа, включая мышечный слой) может определять возможность использования механического сближения краев язвы как достаточного условия для ее заживления. Применение пряди сальника для герметизации прободения, с точки зрения заживления, является нежелательной манипуляцией, так как чужеродная ткань

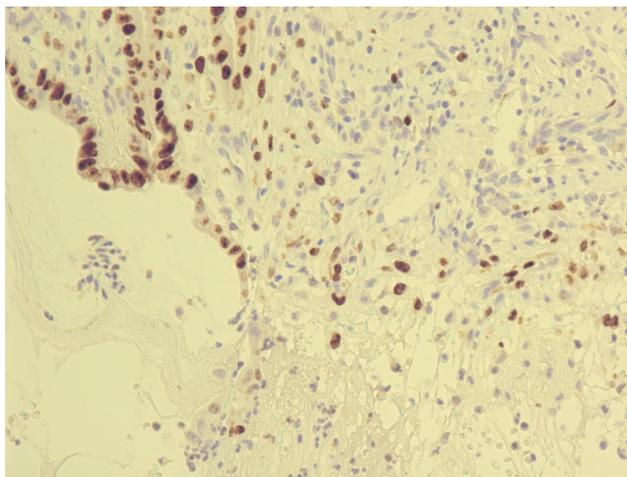


Рис. 9. Основная группа: экспрессия Ki-67 в покровном эпителии желудка (ИГХ-реакция с антителами к Ki-67, x320)

Fig. 9. Main group: Ki-67 expression in the gastric integumentary epithelium (IHC reaction with antibodies to Ki-67, x320)

между краями перфорации в стенке желудка или двенадцатиперстной кишки может стимулировать продуктивную воспалительную реакцию и коллагенез, что приведет к развитию грубоволокнистой соединительной ткани. Сальник, нерассасывающаяся лигатура, второй ряд серозно-мышечных швов в совокупности нарушают имеющуюся зональность и не могут способствовать максимально стереотипному заживлению.

Наиболее частыми морфологическими находками в краях перфоративной язвы были острые дисциркуляторные изменения с доминирующими нарушениями микроциркуляции, а также спазмами и тромбами различной степени давности в сосудах артериального типа. Преобладали свежие крупные пристеночные и обтурирующие эритроцитарные тромбы. Это подтверждает заключение о том, что перфорация происходит внезапно, вне зависимости от имеющихся дисрегенераторных изменений в стенке органа, но может зависеть от тромбообразования в сосудах, патогенез которых требует дополнительного изучения. Наличие множественных острых эрозий вокруг перфоративного язвенного дефекта также может быть проявлением локальных сосудистых нарушений.

В краях хронической каллезной язвы, осложненной кровоточением или пенетрацией, обнаруживаются дистрофические процессы различной степени выраженности с участками гиперплазии покровного эпителия, что затрудняет дифференцировку тканей и может приводить к дисрегенераторным изменениям. При хронических язвах на фоне фиброза возникают изменения микроциркуляторного русла, появляются зоны обедненного кровотока, что в совокупности с продолжающимся действием этиологического фактора приводит к нарастанию ишемии и, соответственно, прогрессированию фибриллогенеза.

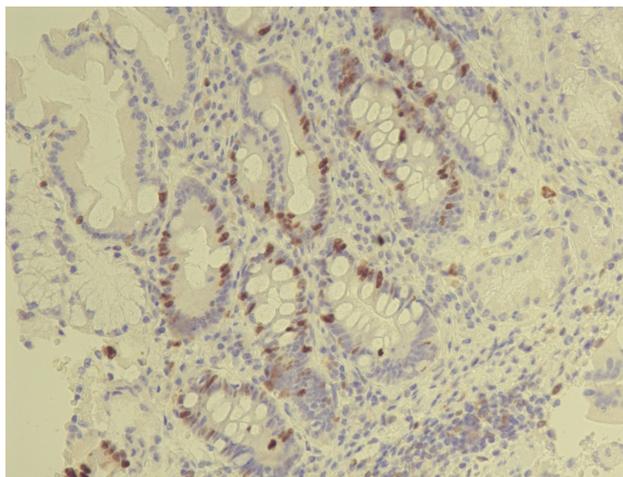


Рис. 10. Контрольная группа: неравномерная экспрессия Ki-67 в железистом эпителии (ИГХ-реакция с антителами к Ki-67, x320)

Fig. 10. Control group: uneven expression of Ki-67 in the glandular epithelium (IHC reaction with antibodies to Ki-67, x320)

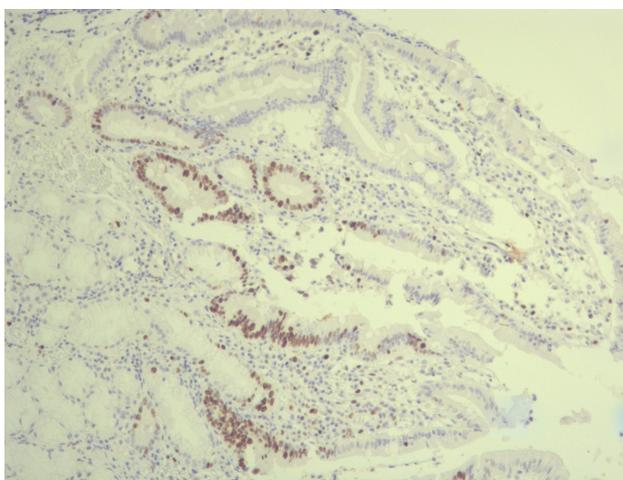


Рис. 11. Контрольная группа: неравномерная экспрессия Ki-67 в гиперпластических разрастаниях покровного эпителия в краях язвы (ИГХ-реакция с антителами к Ki-67, x240)

Fig. 11. Control group: uneven expression of Ki-67 in hyperplastic growths of the integumentary epithelium at the margin of the ulcer (IHC reaction with antibodies to Ki-67, x240)

Основными клетками, инфильтрирующими края перфоративной язвы, являются плазмоциты, эозинофилы, в меньшей степени — лимфоциты и нейтрофилы. При увеличении числа эозинофильных лейкоцитов нарастает и плазмоцитарная инфильтрация с примесью лимфоцитов, что, по всей видимости, может отражать возможный характер местных иммунологических процессов, в том числе и на фоне инфицирования *Helicobacter pylori*. Обращает на себя внимание высокий уровень содержания эозинофилов в стенке перфоративного дефекта основной группы, что, возможно, является признаком осложненного течения язвы.

В контрольной группе инфильтрация плазматическими клетками выражена значительно меньше, в составе клеточного инфильтрата доминировали

макрофаги. Наличие полей пролиферирующих сосудов, выявляемых в язвенном дефекте без перфорации, отражает развитие грануляционной ткани, что способствует рубцеванию.

В эпителиальных структурах краев язв основной группы пациентов экспрессия Ki-67 была распределена равномерно, и индекс пролиферативной активности составил в среднем около 45 %, что косвенно может свидетельствовать о высокой пролиферативной активности эпителия в краях дефекта, что может влиять на скорость регенерации и полного восстановления поврежденных структур. В краях изъязвления в контрольной группе выявлена неравномерная экспрессия Ki-67, индекс пролиферативной активности составил в среднем 20 %, что может отражать более низкие репаративные возможности в области каллезного язвенного дефекта. При этом наличие мозаичной экспрессии Ki-67 с участками повышенной и минимальной пролиферативной активности, вплоть до полного отсутствия экспрессии этого маркера, возможно, является морфологическим субстратом для нарушения регенерации эпителия органа и развития интраэпителиальной неоплазии различной степени.

Гистоархитектоника, характер воспалительно-инфильтрата, наличие и степень выраженности фиброза, изменения сосудистого русла, а также площадь распространения выявленных изменений вокруг перфоративного отверстия определяют вероятный прогноз заболевания и, соответственно, объем и характер оперативного вмешательства. При наличии небольшого количества некротизированных тканей и грануляций, слабо выраженного клеточного воспалительного инфильтрата возможно ушивание перфоративного отверстия без последующего формирования грубого рубца.

ВЫВОДЫ

1. Край перфоративной язвы состоит из минимально представленной, четко отграниченной зоны тканевого детрита и практически не измененного мышечного слоя, что способствует быстрому заживлению таких язв без формирования чрезмерного рубцевания.

2. Имеется равномерная и достаточно высокая пролиферативная активность эпителия (оцениваемая по экспрессии Ki-67) в краях перфоративной язвы с возможностью его полной регенерации.

3. Гистологические и иммуногистохимические особенности края прободной язвы делают выбор метода ушивания перфорации прецизионным швом предпочтительным, что, несомненно, должно улучшить отдаленные результаты лечения.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сажин А. В., Ивахов Г. Б., Страдымов Е. А. и др. Сравнительная оценка результатов лапароскопического и открытого ушивания перфоративных гастроудуоденальных язв, осложненных распространенным перитонитом // Хирургия: Журн. им. Н. И. Пирогова. – 2020. – № 3. – С. 13–21. Doi: 10.17116/hirurgia202003113.
2. Varcus F., Paun I., Duta C. et al. Laparoscopic repair of perforated peptic ulcer // Minerva Chir. – 2018. – Vol. 73, № 2. – P. 188–193. Doi: 10.23736/S0026-4733.18.07603-4.
3. Ansari D., Torén W., Lindberg S. et al. Diagnosis and management of duodenal perforations: a narrative review // Scand. J. Gastroenterol. – 2019. – Vol. 54, № 8. – P. 939–944. Doi: 10.1080/00365521.2019.1647456.
4. Cirocchi R., Soreide K., Di Saverio S. et al. Meta-analysis of perioperative outcomes of acute laparoscopic versus open repair of perforated gastroduodenal ulcers // J. Trauma Acute Care Surg. – 2018. – Vol. 85, № 2. – P. 417–425. Doi: 10.1097/TA.0000000000001925.
5. Tarasconi A., Coccolini F., Biffl W. L. et al. Perforated and bleeding peptic ulcer: WSES guidelines // World J. Emerg Surg. 2020;(15):3. Doi:10.1186/s13017-019-0283-9.
6. Вачев А. Н., Вачев А. Н., Корытцев В. К. и др. Почему следует отказаться от операции простого ушивания язвы двенадцатиперстной кишки, осложненной перфорацией // Вестн. хир. им. И. И. Грекова. – 2018. – Т. 177, № 3. – С. 41–44. Doi: 10.24884/0042-4625-2018-177-3-41-44.
7. Risk factors for reintervention after surgery for perforated gastroduodenal ulcer / R. B. Hasselager, N. Lohse, P. Duch, M. H. Møller // Br. J. Surg. – 2016. – Vol. 103, № 12. – P. 1676–1682. Doi: 10.1002/bjs.10273.
8. Кулумбегов Г. Р., Ирасханов А. Ш., Беслекоев У. С. Перфорация как осложнение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки: структура заболеваемости, результаты диагностики и экстренного хирургического лечения // International scientific review of the problems and prospects of modern science and education Boston. USA: сб. тр. конф. – 2018. – С. 147–149.
9. Kuwabara K., Matsuda S., Fushimi K. et al. Reappraising the surgical approach on the perforated gastroduodenal ulcer: should gastric resection be abandoned? // J. Clin. Med. Res. – 2011. – Vol. 3, № 5. – P. 213–222. Doi: 10.4021/jocmr608w.
10. A Population-Based Cohort Study Examining the Long-term Risk of Repeated Surgery in Non-Helicobacter pylori-Infected PPU Patients Who Underwent Simple Closure / S. C. Wu, W. T. Chen, C. H. Muo, C. Y. Hsu // J. Gastrointest. Surg. – 2020. – Vol. 24, № 11. – P. 2587–2595. Doi: 10.1007/s11605-019-04442-3.
11. Hasadia R., Kopelman Y., Olsha O. et al. Short- and long-term outcomes of surgical management of peptic ulcer complications in the era of proton pump inhibitors // Eur. J. Trauma Emerg Surg. – 2018. – Vol. 44, № 5. – P. 795–801. Doi: 10.1007/s00068-017-0898-z.

12. Cellular and molecular mechanisms of gastric ulcer healing. Is the quality of mucosal scar affected by treatment? / A. Tarnawski, K. Tanoue, A. M. Santos, I. J. Sarfeh // *Scand. J. Gastroenterol Suppl.* – 1995. – Vol. 210. – P. 9–14. Doi:10.3109/00365529509090261.

13. Chang C. C., Pan S., Lien G. S. et al. Relationship of duodenal ulcer recurrence to gastric metaplasia of the duodenal mucosa and duodenal bulb deformity // *J. Formos Med. Assoc.* – 2001. – Vol. 100, № 5. – P. 304–308.

14. Chang C. C., Pan S., Lien G. S. et al. Deformity of duodenal bulb, gastric metaplasia of duodenal regenerating mucosa and recurrence of duodenal ulcer: a correlated study // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 11, № 12. – P. 1802–1805. Doi: 10.3748/wjg.v11.i12.1802.

15. Никитин В. Н., Клинач С. Г. Двухуровневый непрерывный шов в лечении больных прободной пилородуоденальной язвой // *PMЖ.* – 2016. – С. 1566–1569.

16. Laforgia R., Balducci G., Carbotta G. et al. Laparoscopic and Open Surgical Treatment in Gastroduodenal Perforations: Our Experience // *Surg, Laparosc, Endosc, Percutan, Tech.* – 2017. – Vol. 27, № 2. – P. 113–115. Doi: 10.1097/SLE.0000000000000376.

17. Состояние экстренной хирургической помощи в Российской Федерации / А. Ш. Ревшвили, А. В. Федоров, В. П. Сажин, В. Е. Оловянный // *Хирургия: Журн. им. Н. И. Пирогова.* – 2019. – № 3. – С. 88–97.

18. Davenport D. L., Ueland W. R., Kumar S. et al. A comparison of short-term outcomes between laparoscopic and open emergent repair of perforated peptic ulcers // *Surg. Endosc.* – 2019. – Vol. 33, № 3. – P. 764–772. Doi: 10.1007/s00464-018-6341-7.

19. Johnson C. H., McLean R. C., McCallum I. et al. An evaluation of the epidemiology, management and outcomes for perforated peptic ulcers across the North of England over 15 years: A retrospective cohort study // *Int. J. Surg.* – 2019. – Vol. 64. – P. 24–32. Doi: 10.1016/j.ijvsu.2019.03.005.

20. Сажин А. В., Ивахов Г. Б., Страдымов Е. А. и др. Сравнительная оценка результатов лапароскопического и открытого ушивания перфоративных гастродуоденальных язв, осложненных распространенным перитонитом // *Хирургия: Журн. им. Н. И. Пирогова.* – 2020. – Т. 3. – С. 13–21. Doi: 10.17116/hirurgia202003113.

21. Yang Y. J., Bang C. S., Shin S. P. et al. Clinical characteristics of peptic ulcer perforation in Korea // *World J. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 23, № 14. – P. 2566–2574. Doi: 10.3748/wjg.v23.i14.2566.

22. Vârcuş F., Beuran M., Lica I. et al. Laparoscopic Repair for Perforated Peptic Ulcer: A Retrospective Study // *World J. Surg.* – 2017. – Vol. 41, № 4. – P. 948–953. Doi: 10.1007/s00268-016-3821-6.

23. Вачев А. Н., Козлов А. А., Ларина Т. В. и др. Морфологическое обоснование объема иссекаемой ткани при операции по поводу перфоративной язвы двенадцатиперстной кишки // *Хирургия.* – 2011, № 2. – С. 21–24.

24. Risk factors associated with conversion of laparoscopic simple closure in perforated duodenal ulcer / J. H. Kim, H. M. Chin, Y. J. Bae, K. H. Jun // *Int. J. Surg.* – 2015. – Vol. 15. – P. 40–44. Doi: 10.1016/j.ijvsu.2015.01.028

25. Laforgia R., Balducci G., Carbotta G. et al. Laparoscopic and Open Surgical Treatment in Gastroduodenal Perforations: Our Experience // *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech.* – 2017. – Vol. 27, № 2. – P. 113–115. Doi: 10.1097/SLE.0000000000000376.

26. Kirshtein B., Bayme M., Mayer T. et al. Laparoscopic treatment of gastroduodenal perforations: comparison with conventional surgery // *Surg Endosc.* – 2005. – Vol. 19, № 11. – P. 1487–1490. Doi: 10.1007/s00464-004-2237-9.

REFERENCES

1. Sazhin A. V., Ivakhov G. B., Stradymov E. A., Petukhov V. A., Titkova S. M. Pirogov Russian Journal of Surgery = *Khirurgiya. Zurnal im. N. I. Pirogova.* 2020;(3):13–21. (In Russ.). Doi: 10.17116/hirurgia202003113.

2. Varcus F., Paun I., Duta C., Dobrescu A., Frandes M., Tarta C. Laparoscopic repair of perforated peptic ulcer // *Minerva Chir.* 2018;73(2):188–193. Doi: 10.23736/S0026-4733.18.07603-4.

3. Ansari D., Torén W., Lindberg S., Pyrhönen H. S., Andersson R. Diagnosis and management of duodenal perforations: a narrative review // *Scand J Gastroenterol.* 2019; 54(8):939–944. Doi: 10.1080/00365521.2019.1647456.

4. Cirocchi R., Soreide K., Di Saverio S., Rossi E., Arezzo A., Zago M., Abraha I., Vettoretto N., Chiarugi M. Meta-analysis of perioperative outcomes of acute laparoscopic versus open repair of perforated gastroduodenal ulcers // *J Trauma Acute Care Surg.* 2018;85(2):417–425. Doi: 10.1097/TA.0000000000001925.

5. Tarasconi A., Coccolini F., Biffi W. L. et al. Perforated and bleeding peptic ulcer: WSES guidelines // *World J Emerg Surg.* 2020;(15):3. Doi: 10.1186/s13017-019-0283-9.

6. Vachev A. N., Koryttsev V. K., Antropov I. V., Kozlov A. A. Why should we refuse simple suturing of duodenal ulcer complicated by perforation? / Pirogov Russian Journal of Surgery = *Khirurgiya. Zurnal im. N. I. Pirogova.* 2018;(9):42–45. (In Russ.). Doi: 10.17116/hirurgia2018090142.

7. Hasselager R. B., Lohse N., Duch P., Møller M. H. Risk factors for reintervention after surgery for perforated gastroduodenal ulcer // *Br J Surg.* 2016;103(12):1676–1682. Doi: 10.1002/bjs.10273.

8. Kulumbegov G. R., Iraskhanov A. Sh. Perforation as a complication of gastric and duodenal ulcer disease: the structure of the incidence, diagnosis, and emergency surgical treatment (Russian Federation) / international scientific review of the problems and prospects of modern science and education Boston. USA. Boston. 2018:147–149.

9. Kuwabara K., Matsuda S., Fushimi K., Ishikawa K. B., Horiguchi H., Fujimori K. Reappraising the surgical approach on the perforated gastroduodenal ulcer: should gastric resection be abandoned? // *J Clin Med Res.* 2011;3(5):213–222. Doi: 10.4021/jocmr608w.

10. Wu S. C., Chen W. T., Muo C. H., Hsu C. Y. A Population-Based Cohort Study Examining the Long-term Risk of Repeated Surgery in Non-Helicobacter pylori-Infected PPU Patients Who Underwent Simple Closure // *J Gastrointest Surg.* 2020;24(11):2587–2595. Doi: 10.1007/s11605-019-04442-3.

11. Hasadia R., Kopelman Y., Olsha O., Alfici R., Ashkenazi I. Short- and long-term outcomes of surgical management of peptic ulcer complications in the era of proton pump inhibitors // *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2018;44(5):795–801. Doi: 10.1007/s00068-017-0898-z.

12. Tarnawski A., Tanoue K., Santos A. M., Sarfeh I. J. Cellular and molecular mechanisms of gastric ulcer healing. Is the quality of mucosal scar affected by treatment? // *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1995;(210):9–14. Doi: 10.3109/00365529509090261.

13. Chang C. C., Pan S., Lien G. S., Chen S. H., Fang C. L., Liu J. D., Cheng Y. S., Suk F. M. Relationship of duodenal ulcer recurrence to gastric metaplasia of the duodenal mucosa and duodenal bulb deformity // *J Formos Med Assoc.* 2001;100(5):304–308. PMID: 11432308.

14. Chang C. C., Pan S., Lien G. S., Liao C. H., Chen S. H., Cheng Y. S. Deformity of duodenal bulb, gastric metaplasia of duodenal regenerating mucosa and recurrence of duodenal ulcer: a correlated study. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(12):1802–1805. Doi: 10.3748/wjg.v11.i12.1802.

15. Nikitin V. N., Klipach S. G. Running two-level suturing technique for perforated pyloroduodenal ulcers // *RMJ*. 2016;(23):1566–1569.
16. Laforgia R., Balducci G., Carbotta G. et al. Laparoscopic and Open Surgical Treatment in Gastroduodenal Perforations: Our Experience // *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2017;27(2):113–115. Doi: 10.1097/SLE.0000000000000376.
17. Revishvili A. Sh., Fedorov A. V., Sazhin V. P., Oloviannyi V. E. Emergency surgery in Russian Federation (in Russian only) // *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zurnal im. N. I. Pirogova*. 2019;(3):88–97. (In Russ.). Doi: 10.17116/hirurgia201903188.
18. Davenport D. L., Ueland W. R., Kumar S., Plymale M., Bernard A. C., Roth J. S. A comparison of short-term outcomes between laparoscopic and open emergent repair of perforated peptic ulcers // *Surg Endosc*. 2019;33(3):764–772. Doi: 10.1007/s00464-018-6341-7.
19. Johnson C. H., McLean R. C., McCallum I., Perren D., Phillips A. W. An evaluation of the epidemiology, management and outcomes for perforated peptic ulcers across the North of England over 15 years: A retrospective cohort study // *Int J Surg*. 2019;(64):24–32. Doi: 10.1016/j.ijssu.2019.03.005.
20. Sazhin A. V., Ivakhov G. B., Stradymov E. A., Petukhov V. A., Titkova S. M. Pirogov Russian Journal of Surgery = *Khirurgiya. Zurnal im. N. I. Pirogova*. 2020;(3):13–21. (In Russ.). Doi: 10.17116/hirurgia202003113.
21. Yang Y. J., Bang C. S., Shin S. P. et al. Clinical characteristics of peptic ulcer perforation in Korea // *World J Gastroenterol*. 2017;23(14):2566–2574. Doi: 10.3748/wjg.v23.i14.2566.
22. Vărcuş F., Beuran M., Lica I., Turculet C., Cotaret A. V., Georgescu S., Vintila D., Sabău D., Sabau A., Ciuce C., Bintintan V., Georgescu E., Popescu R., Tarta C., Surlin V. Laparoscopic Repair for Perforated Peptic Ulcer: A Retrospective Study // *World J Surg*. 2017;41(4):948–953. Doi: 10.1007/s00268-016-3821-6.
23. Vachev A. N., Kozlov A. A., Sukhachev P. A., Dergal' S. V., Larina T. V. Morphological reasoning of the resected tissue volume by the perforated ulcer of the duodenum // *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zurnal im. N. I. Pirogova*. 2011;(2):21–24. (In Russ.).
24. Kim J. H., Chin H. M., Bae Y. J., Jun K. H. Risk factors associated with conversion of laparoscopic simple closure in perforated duodenal ulcer // *Int J Surg*. 2015;(15):40–44. Doi: 10.1016/j.ijssu.2015.01.028.
25. Laforgia R., Balducci G., Carbotta G. et al. Laparoscopic and Open Surgical Treatment in Gastroduodenal Perforations: Our Experience // *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2017;27(2):113–115. Doi: 10.1097/SLE.0000000000000376.
26. Kirshtein B., Bayme M., Mayer T., Lantsberg L., Avinovich E., Mizrahi S. Laparoscopic treatment of gastroduodenal perforations: comparison with conventional surgery // *Surg Endosc*. 2005;19(11):1487–1490. Doi: 10.1007/s00464-004-2237-9.

Информация об авторах

Османов Зейнур Худдусович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургии общей с клиникой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-9671-0394; **Рыбакова Маргарита Григорьевна**, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии с патолого-анатомическим отделением, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-8404-1859; **Тихонова Юлиана Алексеевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с патолого-анатомическим отделением, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-1985-0465; **Семенов Дмитрий Юрьевич**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-2845-1703; **Корольков Андрей Юрьевич**, доктор медицинских наук, руководитель отдела общей и неотложной хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-7449-6908; **Мыльникова Анастасия Андреевна**, студентка VI курса, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-6955-1511.

Information about authors

Osmanov Zeinur H., Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor, Department of General Surgery with Clinic, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-9671-0394; **Rybakova Margarita G.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy with Pathological Anatomical Department, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-8404-1859; **Tikhonova Yuliana A.**, Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy with Pathological Anatomical Department, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-1985-0465; **Semenov Dmitry Ju.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Chief Research Fellow, Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-2845-1703; **Korolkov Andrey Yu.**, Dr. of Sci. (Med.), Head of the Department of General and Emergency Surgery, Research Institute of Surgery and Emergency Medicine, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-7449-6908; **Mylnikova Anastasia A.**, 6th year student, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-6955-1511.



© CC 0 Коллектив авторов, 2022
УДК [612.613.1 : 612.789]-053.2
DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-63-69

К. Л. Суркова*, Н. В. Зверева, А. А. Сергиенко, С. Е. Строгова, М. В. Зверева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Москва, Россия

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА РЕЧЕВОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ, ЗАЧАТЫХ С ПОМОЩЬЮ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Поступила в редакцию 11.04.2022 г.; принята к печати 27.04.2022 г.

Резюме

Введение. Высокая частота использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и противоречивость информации о параметрах когнитивного развития детей, зачатых с помощью экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) определила постановку проблемы исследования.

Цель работы — оценка своеобразия речевого развития детей и подростков, зачатых с помощью процедуры ЭКО и находящихся в возрастном интервале от 5 до 15 лет.

Методы и материалы. Выборка из 51 ребенка (29 мальчиков), средний возраст — (7,9±2,8) года, 14 детей имели психиатрические диагнозы (расстройства аутистического спектра (РАС), шизотипическое расстройство (ШТР) и др.). Применяли логопедическую оценку развития речи, нейропсихологическую диагностику по Л. С. Цветковой, диагностику IQ по Векслеру, описательную статистику, корреляционный анализ.

Результаты. У 41 % детей имелись легкие варианты задержки речевого развития в возрасте до 3 лет, нормативно развивалась речь у 59 % детей. С возрастом частота выявляемых отклонений в речевом развитии падает, в старшей возрастной группе (от 11 до 15 лет) норма развития речи встречалась у 85 % испытуемых. Корреляционный анализ показал своеобразие корреляционных плеяд у детей, зачатых с помощью ЭКО, при сопоставлении параметров речевого развития, нейропсихологической оценки, баллов по субтестам Векслера.

Заключение. Однозначного вывода о нарушении речевого развития у детей, рожденных с помощью ЭКО, сделать нельзя, однако при наличии психической патологии и с учетом возраста матери и числа применения процедур ВРТ следует обратить внимание на оказание логопедической и нейропсихологической коррекции с раннего возраста.

Ключевые слова: дети и подростки, экстракорпоральное оплодотворение, речевое развитие, нейропсихологическая диагностика, IQ

Для цитирования: Суркова К. Л., Зверева Н. В., Сергиенко А. А., Строгова С. Е., Зверева М. В. Комплексная оценка речевого развития детей, зачатых с помощью экстракорпорального оплодотворения. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.* 2022;29(1):63–69. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-63-69.

* **Автор для связи:** Каролина Леонидовна Суркова, ФГБНУ Научный центр психического здоровья, 115522, Россия, Москва, Каширское шоссе, д. 34. E-mail: www1-11@narod.ru.

Karolina L. Surkova*, Natalia V. Zvereva, Alexey A. Sergienko, Svetlana E. Strogova, Marya V. Zvereva

Mental health research center, Moscow, Russia

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE SPEECH DEVELOPMENT OF CHILDREN CONCEIVED BY IVF

Received 11.04.2022; accepted 27.04.2022

Summary

Introduction. The high frequency of the use of assisted reproductive technologies and the inconsistency of information about the parameters of the cognitive development of IVF children determined the formulation of the research problem.

The **purpose** of the work is to assess the originality of the speech development of children and adolescents conceived using the IVF procedure. The age of the children at the time of the survey was from 5 to 15 years.

Methods and materials. A sample of 51 children (29 boys), mean age (7.9 ± 2.8) years, 14 children had psychiatric diagnoses (ASD, mental retardation, etc.). Research methods: speech therapy assessment of speech development, neuropsychological diagnostics according to L. S. Tsvetkova, WICS, descriptive statistics, correlation analysis.

Results. 41% of children had mild variants of speech development delay under 3 years old, 59 % of children had normal speech development. With age, the frequency of detected deviations in speech development decreases, so that in older age group (from 11 to 15 years old), 85 % have normotypical development of speech. Correlation analysis showed the originality of the correlations of the parameters of speech development, neuropsychological assessment, and scores on Wechsler subtests.

Conclusions. An unambiguous conclusion about the violation of speech development in children conceived by IVF cannot be drawn, however, in the presence of mental pathology and taking into account the age of the mother and the number of ART procedures, attention should be paid to the provision of speech therapy and neuropsychological correction from an early age.

Keywords: children and adolescents, in vitro fertilization, speech development, neuropsychological diagnostics, IQ

For citation: Surkova K. L., Zvereva N. V., Sergienko A. A., Strogova S. E., Zvereva M. V. Comprehensive assessment of the speech development of children conceived by IVF. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2022;29(1):63–69. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-63-69.

* **Corresponding author:** Karolina L. Surkova, Mental health research center, Moscow, Russia, адрес. E-mail: www1-11@narod.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Использование методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) — экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) и других — становится привычной и часто используемой процедурой зачатия в последнее время. В медицинской, психологической, логопедической литературе имеются противоречивые данные о характере психофизического и психоречевого развития детей, зачатых с помощью ЭКО и ВРТ, в том числе и о том, что ВРТ — ятрогенный фактор ухудшения здоровья детского населения [1]. В исследовании логопеда-дефектолога В. А. Печениной и др. показано, что дошкольники, зачатые посредством ВРТ, могут представлять собой потенциальную группу риска по комплексу факторов (биологических, психологических и социально-средовых), которые могут приводить к нарушениям как в развитии речи, так и в эмоциональной сфере [2, 3], к похожему выводу приходят и другие исследователи, которые считают, что развитие ребенка, зачатого посредством ВРТ, определяется комплексом медицинских и психологических факторов, среди медицинских значение имеет возраст матери и состояние ее здоровья, все, что связано с беременностью и родами, самой процедурой ЭКО или иным вариантом ВРТ, а среди психологических — прежде всего, семейные отношения и многое другое [4–9]. По данным ряда авторов [10, 11], риск врожденных пороков развития примерно на треть выше у детей, зачатых с помощью технологии ЭКО, чем у других детей. Современные технологии и модификация методов ЭКО и ВРТ снижают эти риски. Существует мнение, что для благополучия будущих детей, зачатых с помощью ЭКО, эти ВРТ должны применяться только если бесплодие не поддается никаким другим способам лечения.

По наблюдениям В. А. Печениной и О. С. Орловой, речевые нарушения у детей ЭКО определяются не собственно процедурой ВРТ, а другими

обстоятельствами (многоплодность беременности, недоношенность и т. п.). Изучение речевого развития детей ЭКО, родившихся от многоплодной беременности, выявило, что характер речевых нарушений у ЭКО-близнецов принципиально не отличается от нарушений речи у близнецов, зачатых естественным путем, также было показано, что чаще оба ребенка из близнецовых пар имеют сходные нарушения [2, 3].

Таким образом, данные отечественной и зарубежной литературы не позволяют однозначно утверждать о безопасности или наличии рисков нарушения психического, речевого и когнитивного развития детей, зачатых с помощью ВРТ. Вышеизложенное определило интерес к данной теме. Особые указания на своеобразие развития речи детей, зачатых с помощью ЭКО и других ВРТ [5, 6, 10], дают основание для более подробного комплексного анализа развития речи таких детей с использованием опыта психологов, логопедов, нейропсихологов, лингвистов [12].

Цель работы — анализ особенностей речевого развития детей от 5 до 15 лет, зачатых с помощью ВРТ (логопедическая, психометрическая и нейропсихологическая оценка).

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Комплексное исследование когнитивного и речевого развития детей, зачатых с помощью ВРТ (метод ЭКО, ИКСИ), проводилось на базе ФГБНУ «НЦПЗ» и включало в себя психолого-педагогические и инструментальные методы диагностики (логопедическая, нейропсихологическая и психометрическая по Векслеру) [13, 14]. Подробно методика диагностики описана в статье К. А. Сурковой и др. [15]. Введение теста Векслера ограничило возраст интервал, и в работу были включены дети ЭКО старшего дошкольного и школьного возраста.

Критерии включения в основную группу: возраст ребенка от 5 до 15 лет, зачатие с помощью ВРТ (ЭКО, ИКСИ), отсутствие выставленного диагноза умственной отсталости. Всего в исследовании при-

Таблица 1

Распределение обследованных детей ЭКО по уровням интеллекта (абс. число детей)

Table 1

Distribution of examined IVF children by intelligence levels (absolute number of children)

Уровень интеллекта	Балл IQ	ВИП	НИП	ОИП
Весьма высокий интеллект	130 и выше	4	7	7
Высокий интеллект	120 – 129	14	10	8
Хорошая норма интеллекта	110 – 119	9	10	13
Средний уровень интеллекта	90 – 109	16	14	17
Сниженная норма	80 – 89	3	0	2
Пограничный уровень	70 – 79	3	0	1
Умственный дефект	69 и ниже	2	3	3

нял участие 51 ребенок в возрасте 5–15 лет, которые были разделены на группы по возрастам: 1-я группа – 23 ребенка 5–7,5 года (средний возраст – 5,8 года, мальчиков – 13, девочек – 10, двойни – 3); 2-я группа – 19 детей 7,5–10,9 года (средний возраст – 8,9 года, мальчиков – 12, девочек – 7, двойни – 4); 3-я группа – 8 человек 11–15,9 года (средний возраст – 11 лет, мальчиков – 4, девочек – 4, двойни – 2). Дети школьного возраста обучались, как правило, в общеобразовательных учреждениях, иногда по индивидуальной программе или по инклюзии. Часть детей (14 человек) имели психиатрические диагнозы. Анамнестические данные по протоколу ведения процедуры ВРТ собирались как из медицинских документов, так и со слов родителя ребенка, аналогично собиралась информация о раннем развитии ребенка. При диагностике и анализе результатов мы исходили из учета принципа онтогенетического развития, все методы (логопедический, дефектологический, психометрический, нейропсихологический) обследования учитывали период развития ребенка. При обработке материалов применяли методы математической статистики (программы «SPSS» и «Statistica»).

Настоящее сообщение посвящено анализу особенностей речевого развития в обследованной выборке.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Речевые нарушения классифицировались с помощью двух методов: медицинской классификации диагнозов МКБ-10 и психолого-педагогической классификации, разработанной Р. Е. Левиной.

По речевому развитию и речевым нарушениям у детей, зачатых путем ВРТ, наблюдались следующие особенности. Нормативное речевое развитие, соответствующее возрасту, отмечалось у 30 детей разных возрастных групп. Дизартрия диагностировалась у 16 человек от легкой до средневыраженной степени проявлений. Алалия и дислалия диагностированы у 6 детей и в ряде случаев носили функциональный характер. Заикание

наблюдалось у 1 ребенка младшего дошкольного возраста. Задержка речевого развития – у 2 детей. Общее недоразвитие речи (ОНР) – у 17 детей от дошкольного до младшего школьного возраста. У детей дошкольного возраста чаще всего диагностировался уровень общего недоразвития речи между вторым и третьим по Р. Е. Левиной, у детей школьного возраста в основном отмечался третий уровень. Только недостаточность в фонетико-фонематическом (ФФН) восприятии, без других расстройств речевого развития, наблюдалась у 2 человек школьного возраста.

Возрастное сопоставление нарушений развития речи показало следующее. В первой возрастной группе детей старшего дошкольного возраста в большинстве случаев диагностировалось дизартрическое расстройство, от легкой, так называемой «стертой» симптоматики, до средневыраженной. У 5 детей дизартрия сочеталась с общим недоразвитием речи от второго до третьего уровня, у остальных детей наблюдалось только дизартрическое расстройство речи.

У детей школьного возраста выраженные речевые расстройства встречались гораздо реже. Возможно, это связано с хорошими компенсаторными возможностями ребенка и своевременно начатой коррекционно-логопедической работой. Различие частоты встречаемости нарушений экспрессивной речи при нормативном развитии и при наличии психиатрического диагноза статистически значимо ($\chi^2_{эмп} = 4,072, p \leq 0,01$), для импрессивной речи также достоверно отличие ($\chi^2_{эмп} = 4,192, p \leq 0,01$). Уровень развития речи (логопедическая и нейропсихологическая оценка) и интеллекта для детей в двойнях (тройнях) существенно отличался только в тех случаях, когда один ребенок из двойни имел психиатрический диагноз, например, «ранний детский аутизм».

Важной характеристикой развития речи является оценка становления речи в детстве. В нашей выборке мы оценивали, была ли задержка речевого развития ребенка до 3 лет. Таких детей оказалось всего 21 (41 %).

Таблица 2

Сопоставление показателей интеллекта у детей в нормальном или задержанным до 3 лет речевым развитием (среднее значение показателей IQ)

Table 2

Comparison of intelligence indicators in children with normal speech development and with delayed speech development up to three years of age (average value of IQ indicators)

Вид интеллекта	Дети с ЗРР до 3 лет, n	Дети без ЗРР до 3 лет, n	Достоверность отличий
ОИП	96	116	0,01
ВИП	97	114	0,01
НИП	103	115	0,01

Таблица 3

Встречаемость нарушенных/сохранных речевых факторов при нейропсихологической диагностике по всей выборке детей, зачатых с помощью ЭКО, %

Table 3

Occurrence of impaired/preserved speech factors in neuropsychological diagnostics in the entire sample of children conceived by IVF, %

Факторы	%
<i>Нарушенные речевые факторы</i>	
Слухоречевой памяти (тормозимость следов в условиях интерференции, в основном ретроактивное торможение – отражает преимущественную дисфункцию подкорковых структур)	70
Кинетический (инертность двигательных стереотипов)	50
Фактор программирования речевого высказывания	39
Квазипространственное восприятие (предложные и логико-грамматические конструкции)	39
Фонематический слух	30
<i>Сохранные речевые факторы</i>	
Образы-представления (номинация и слухоречевая память – объем)	93
Кинестетический (кинестетика на уровне орального праксиса)	77

Рассмотрим оценку интеллекта по тесту Векслера. Основные показатели: вербальный интеллектуальный показатель (ВИП), невербальный интеллектуальный показатель (НИП), общий интеллектуальный показатель (ОИП).

Большая часть детей имеет средний и выше уровень интеллекта по всем измеряемым показателям IQ (табл. 1). Кроме этого, по ВИП чаще, чем по другим показателям, встречается снижение. В качестве интервала, свидетельствующего о наличии диссоциации (доминирование/преобладание одного из показателей интеллекта – ВИП или НИП), выбрана разница между показателями в 10 баллов. Оказалось, что примерно в половине случаев отмечалась диссоциация ВИП и НИП, вторая половина характеризовалась гармоничным соотношением ВИП и НИП.

Сопоставление уровня интеллекта у детей, которые развивались без задержки формирования речевой функции или с определенной ЗРР до 3 лет, показало следующее (табл. 2).

Все основные показатели интеллекта достоверно выше в группе детей ЭКО без ЗРР в анамнезе.

Проведенное нейропсихологическое обследование показало, что есть нейропсихологические факторы, отражающие речевую деятельность детей, нарушенные или, напротив, сохранные (табл. 3).

Ниже приведены данные корреляционного анализа показателей речевого развития, показателей теста Векслера (ОИП, НИП, ВИП) и нейропсихологической диагностики. Получен ряд корреляционных плеяд, характеризующих связь ОИП, ВИП и НИП и показателей развития речи (по логопедической диагностике детей, имевших ЗРР в возрасте до 3 лет).

В табл. 4 приведены достоверные корреляции показателей IQ-факторов речевого развития детей ЭКО, имевших ЗРР в возрасте до 3 лет. Большинство полученных корреляций относятся к среднему и высокому уровню.

Все корреляции имели отрицательный знак – следует рассматривать их как проявление связи уровня развития определенного речевого параметра и соответствующего показателя интеллекта. В качестве примера рассмотрим уровень развития экспрессивной речи (оценивается в баллах от 0 до 3: 0 – нет нарушений, 3 – выраженные нарушения), здесь отрицательное значение корреляции указывает на то, что для количественного показателя НИП имеет значение хороший уровень развития экспрессивной речи, любопытно, что для собственно ВИП такая связь не является на нашей выборке достоверной. Корреляционная плеяда для нейропсихологических факторов включала в себя все факторы, обозначенные как существенно

Таблица 4

Корреляции показателей IQ и речевого развития

Table 4

Correlations of IQ scores and speech development

Показатель	ВИП	НИП	ОИП
Образы_представления	–,550**	–,535*	–,602**
Фонематический_слух	–,519*	–0,323	–,514*
Фактор_программирования	–,680**	–,613**	–,750**
Тормозный_контроль	–,517*	–,706**	–,670**
Квази_пространственное_восприятие	–,695**	–,606**	–,764**
Оральный_праксис	–,652**	–,649**	–,715**
Фактор_межполушарного_взаимодействия	–,554**	–0,417	–,585**
Кинетический (инертности_подвижности_двиг._стереотипов)	–,551**	–,544*	–,622**
Кинестетический	–0,408	–,532*	–,516*
Экспрессивная_речь	–0,301	–,434*	–0,398
Импрессивная_речь	–0,431	–0,241	–0,397

Примечание: * – значимость корреляции на уровне $p < 0,05$; ** – значимость корреляции на уровне $p < 0,001$.

дефицитарные при нейропсихологической оценке, а также и те факторы, которые не были нарушены. Отрицательный знак корреляции отражает специфику связи (в нейропсихологической оценке чем ниже балл, тем ближе к норме развития) – лучшие показатели интеллекта встречались у тех детей, кто имел более низкие баллы в нейропсихологической диагностике. Примечательно, что для НИП не обнаружено достоверной корреляционной связи с показателем фонематического слуха, межполушарного взаимодействия, а также фактора импрессивной речи. Для ВИП недостоверной оказалась связь с кинестетическим фактором, а также экспрессивной и импрессивной речи.

Формат статьи не позволяет подробно обсудить полученные данные, однако заметим, что и для детей с нормативным развитием речи также были получены свои корреляционные плеяды. Из наиболее интересного следует отметить наличие позитивной связи показателей ВИП (в частности, субтеста осведомленности) и уровня развития экспрессивной речи – 0,496. Также была получена отрицательная корреляция числа процедур ВРТ и ВИП (–0,401), т. е. чем меньше процедур, тем выше показатель ВИП.

ВЫВОДЫ

1. Частично подтвердились данные о своеобразии речевого развития детей ЭКО – у 41 % детей нашей выборки имелись варианты задержки речевого развития в возрасте до 3 лет, в большинстве случаев, у 59 % детей, развитие речи нормативное.

2. Оценка возрастных групп показывает снижение частоты выявляемых отклонений в речевом развитии детей ЭКО от младшей к старшей группе, норма развития речи встречалась у 85 % испытуемых в возрасте от 11 до 16 лет.

3. Психическая патология, имеющаяся у детей ЭКО, сопровождается снижением всех основных показателей развития речи у детей по всем способам оценки (логопедическая, психометрическая, нейропсихологическая) при выраженном индивидуальном своеобразии.

4. Корреляционный анализ показал своеобразие связей у детей с психической патологией с параметрами речевого развития и нейропсихологической оценки (слухоречевая память и развитие речи и др.), с баллами по субтестам Векслера (более низкие при нарушениях экспрессивной речи данные по ВИП).

5. Получены корреляционные связи, косвенно указывающие на негативное влияние увеличения числа процедур ВТР на последующее развитие ребенка, сходные данные касаются и возраста матери, но все это требует дополнительной проверки.

6. Следует обратить внимание на оказание логопедической помощи и проведение нейропсихологической коррекции у таких детей с раннего возраста.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ришчук С. В., Мирский В. Е. Вспомогательные репродуктивные технологии как ятрогенный фактор ухудшения здоровья детского населения // Бюлл. Оренбург. науч. центра УрО РАН (электрон. журн). – 2013, № 4. – С. 8. URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2013-4> (дата обращения: 15.03.2022).
2. Орлова О. С. и др. Результаты психолого-педагогического обследования детей, рожденных с применением экстракорпорального оплодотворения и от спонтанно наступившей беременности // Дефектология. – 2016. – № 5. – С. 38–46.
3. Орлова О. С., Печенина В. А. Становление речевой функции у детей-близнецов, рожденных спонтанно и в результате применения экстракорпорального оплодотворения // Вестн. Ленинград. гос. ун-та им. А. С. Пушкина. – 2016. – № 4–2. – С. 237–242.
4. Маслянюк Н. А. Многоплодная беременность после экстракорпорального оплодотворения как фактор риска недоношенности и задержки внутриутробного развития // Журн. акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. 59, № 1.
5. Лецинская С. Б. Факторы, влияющие на развитие детей при вспомогательных репродуктивных технологиях: обзор литературы // Вестн. психотерапии. – 2020. – № 75. – С. 130–146.
6. Добряков И. В. и др. Психическое и соматическое развитие детей, зачатых с помощью экстракорпорального оплодотворения // Вопросы псих. здоровья детей и подростков. – 2019. – Т. 19, № 4. – С. 122–132.
7. Wen J., Jiang J., Ding C. et al. Birth defects in children conceived by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis // Fertil Steril. – 2012. – Vol. 97, № 6. – P. 1331–1337. Doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.02.053.
8. Wolff M., Haaf T. In Vitro Fertilization Technology and Child Health/ Dtsch Arztebl Int. – 2020. – Vol. 117, № 3. – P. 23–30. Doi: 10.3238/arztebl.2020.0023.
9. Zandstra H., Smits L. J. M., van Kuijk S. M. J. et al. No effect of IVF culture medium on cognitive development of 9-year-old children // Human reproduction open. – 2018. – Vol. 4. Doi: 10.1093/hropen/hoy018.
10. Dehghan M. et al. Speech and language development of children born following assisted reproductive technologies // International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. – 2020. – Vol. 134. – P. 110060. Doi: 10.1016/j.ijporl.2020.110060.
11. Sandin S., Nygren K. G., Iliadou A. et al. Autism and mental retardation among offspring born after in vitro fertilization // JAMA. – 2013. – Vol. 310, № 1. – P. 75–84. Doi: 10.1001/jama.2013.7222.
12. Оценкова Е. С. Оценка развития речи у детей: обзор зарубежных методик // Вопр. психолингвистики. – 2020. – Т. 2, № 44. – С. 110–123. Doi: 10.30982/2077-5911-2020-44-2-110-123.
13. Цветкова Л. С. Методика нейропсихологической диагностики детей. – М.: Рос. педагог. аг-во «Когито-центр», 2012.
14. Филимонок Ю. И., Тимофеев В. И. WICSa. Диагностика уровня развития интеллекта (Детский вариант): метод. рук. – СПб.: ИМАТОН, 2011. – С. 106.
15. Суркова К. Л., Сергиенко А. А., Зверева Н. В. Нейропсихологический и логопедический анализ развития психических функций у детей ЭКО раннего дошкольного возраста (от 3 до 5 лет): методы и результаты пилотажного исследования // Мед. психология в России: электрон. науч. журн. – 2021. – Т. 13, № 3 (68). URL: <http://mprj.ru> (дата обращения: 18.03.2022).

REFERENCES

1. Rishchuk S. V., Mirsky V. E. Assisted reproductive technologies as an iatrogenic factor in the deterioration of the health of the child population Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (electronic journal). 2013;(4). Available at: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2013-4> (accessed: 15.03.2022).
2. Orlova O. S. et al. Results of the psychological and pedagogical examination of children born with the use of in vitro fertilization and from spontaneously occurring pregnancy // Defectology. 2016;(5):38–46. (In Russ.).
3. Orlova O. S., Pechenina V. A. Formation of speech function in twin children born spontaneously and as a result of the use of in vitro fertilization // Bulletin of the Leningrad State University. AS Pushkin. 2016;(4–2):237–242. (In Russ.).
4. Maslyanyuk N. A. Multiple pregnancy after in vitro fertilization as a risk factor for prematurity and intrauterine growth retardation // Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2010;59(1). (In Russ.).
5. Leshchinskaya S. B. Factors affecting the development of children with assisted reproductive technologies: a review of the literature // Bulletin of psychotherapy. 2020;(75):130–146. (In Russ.).
6. Dobryakov I. V. et al. Mental and somatic development of children conceived with the help of in vitro fertilization // Issues of mental health of children and adolescents. 2019; 19(4):122–132. (In Russ.).
7. Wen J., Jiang J., Ding C. et al. Birth defects in children conceived by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis // Fertil Steril. 2012;97(6):1331–1337. Doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.02.053.
8. Wolff M., Haaf T. In Vitro Fertilization Technology and Child Health/ Dtsch Arztebl Int. 2020;117(3):23–30. Doi: 10.3238/arztebl.2020.0023.
9. Zandstra H., Smits L. J. M., van Kuijk S. M. J., van Golde R. J. T., Evers J. L. H., Dumoulin J. C. M., & van Montfoort A. P. A. No effect of IVF culture medium on cognitive development of 9-year-old children. Human reproduction open. 2018;(4). Doi: 10.1093/hropen/hoy018.
10. Dehghan M. et al. Speech and language development of children born following assisted reproductive technologies // International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. 2020;(134):110060. Doi: 10.1016/j.ijporl.2020.110060.
11. Sandin S., Nygren K. G., Iliadou A. et al. Autism and mental retardation among offspring born after in vitro fertilization // JAMA 2013;310(1):75–84. Doi: 10.1001/jama.2013.7222.
12. Oshchepkova E. S. Evaluation of the development of speech in children: a review of foreign methods // Issues of psycholinguistics. 2020;2(44):110–123. (In Russ.). Doi: 10.30982/2077-5911-2020-44-2-110-123.
13. Tsvetkova L. S. Methods of neuropsychological diagnosis of children. Moscow, Russian Pedagogical Agency «Kogito-center», 2012. (In Russ.).
14. Filimonenko Yu. I., Timofeev V. I. WICS. Diagnostics of the level of intelligence development (Children's version): a methodological guide. SPb., IMATON, 2011:106. (In Russ.).
15. Surkova K. L., Sergienko A. A., Zvereva N. V. Neuropsychological and logopedic analysis of the development of mental functions in IVF children of early preschool age (from 3 to 5 years): methods and results of a pilot study // Medical psychology in Russia: electron. scientific magazine. 2021;13(3(68)). Available at: <http://mprj.ru> (accessed: 18.03.2022).

Информация об авторах

Суркова Каролина Леонидовна, научный сотрудник, Научный центр психического здоровья (Москва, Россия), ORCID: 0000-0001-7501-0535; **Зверева Наталья Владимировна**, кандидат психологических наук, ведущий научный сотрудник отдела медицинской психологии, Научный центр психического здоровья (Москва, Россия), ORCID: 0000-0003-3817-2169; **Сергиенко Алексей Анатольевич**, кандидат психологических наук, ведущий научный сотрудник отдела медицинской психологии, Научный центр психического здоровья (Москва, Россия), ORCID: 0000-0002-4511-2503; **Строгова Светлана Евгеньевна**, кандидат психологических наук, старший научный сотрудник отдела медицинской психологии, Научный центр психического здоровья (Москва, Россия), ORCID: 0000-0002-1777-3670; **Зверева Мария Вячеславовна**, кандидат психологических наук, старший научный сотрудник отдела медицинской психологии, Научный центр психического здоровья (Москва, Россия), ORCID: 0000-0001-9036-9503.

Information about authors

Surkova Karolina L., Research Fellow, Mental health research center (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0001-7501-0535; **Zvereva Natalia V.**, Cand. of Sci. (Psy.), Leading Research Fellow of the Department of Medical Psychology, Mental health research center (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0003-3817-2169; **Sergienko Alexey A.**, Cand. of Sci. (Psy.), Leading Research Fellow of the Department of Medical Psychology, Mental health research center (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0002-4511-2503; **Strogova Svetlana E.**, Cand. of Sci. (Psy.), Senior Research Fellow of the Department of Medical Psychology, Mental health research center (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0002-1777-3670; **Zvereva Marya V.**, Cand. of Sci. (Psy.), Senior Research Fellow of the Department of Medical Psychology, Mental health research center (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0001-9036-9503.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

«Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова» — официальный научный журнал СПбГМУ, публикующий статьи по проблемам медицинской науки, практики и преподавания.

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК) Министерства образования и науки РФ журнал «Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова» включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендована публикация основных результатов диссертационных исследований на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

В журнале имеются следующие разделы:

- передовые статьи;
- оригинальные статьи;
- обзоры и лекции;
- дискуссии;
- в помощь практическому врачу;
- краткие сообщения;
- история и современность;
- исторические даты;
- информация о планах проведения конференций, симпозиумов, съездов.

РЕЦЕНЗИРОВАНИЕ

• Редакция обеспечивает экспертную оценку (двойное слепое рецензирование, которое предполагает, что ни рецензент, ни автор не знают друг друга) материалов, соответствующих ее тематике, с целью их экспертной оценки.

• Все рецензенты являются признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и имеют в течение последних 3 лет публикации по тематике рецензируемой статьи.

• Один из рецензентов является членом редколлегии журнала. После получения двух положительных рецензий статья рассматривается на заседании редколлегии, с обязательным участием члена редколлегии, рецензировавшего статью. По итогам обсуждения выносится решение о публикации статьи, отклонении, или ее доработке под руководством назначенного члена редакционной коллегии. В случае расхождения оценки статьи внешним рецензентом и членом редколлегии может быть назначено дополнительное рецензирование.

• На основании письменных рецензий и заключения Редколлегии рукопись принимается к печати, высылается автору (соавторам) на доработку или отклоняется.

• В случае отказа в публикации статьи редакция направляет автору мотивированный отказ.

• Редакция обязуется направлять копии рецензий в Министерство образования и науки Российской Федерации при поступлении в редакцию издания соответствующего запроса.

• Рецензии хранятся в издательстве и в редакции издания в течение 5 лет.

• Статьи публикуются в журнале бесплатно.

ИНДЕКСИРОВАНИЕ

Публикации в журнале «Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова» входят в системы расчетов индексов цитирования авторов и журналов. «Индекс цитирования» — числовой показатель, характеризующий значимость данной статьи и вычисляющийся на основе последующих публикаций, ссылающихся на данную работу.

Журнал индексируется в системах:

• Российский индекс научного цитирования — библиографический и реферативный указатель, реализованный в виде базы данных, аккумулирующий информацию о публикациях российских ученых в российских и зарубежных научных изданиях. Проект РИНЦ разрабатывается с 2005 г. компанией «Научная электронная библиотека» (elibrary.ru). На платформе elibrary к 2012 г. размещено более 2400 отечественных журналов;

• Академия Google (Google Scholar) — свободно доступная поисковая система, которая индексирует полный текст научных публикаций всех форматов и дисциплин. Индекс Академии Google включает в себя большинство рецензируемых online журналов Европы и Америки крупнейших научных издательств.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

При направлении статьи в редакцию рекомендуется руководствоваться следующими правилами, составленными с учетом «Рекомендаций по проведению, описанию, редактированию и публикации результатов научной работы в медицинских журналах» («Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals»), разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов (International Committee of Medical Journal Editors).

Редакция журнала при принятии решений и разрешении возможных конфликтов придерживается признанных международных правил, регулирующих этические взаимоотношения между всеми участниками публикационного процесса — авторами, редакторами, рецензентами, издателем и учредителем.

Положения, перечисленные в этом разделе, основаны на рекомендациях Committee on Publication Ethics (COPE), Publication Ethics and Publication Malpractice Statement издательства Elsevier, Декларации Ассоциации научных редакторов и издателей «Этические принципы научных публикации».

I. Положение об информированном согласии

В своей работе журнал «Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова» опирается на положения Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации в ред. 2013 г. (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects) и стремится обеспечить соблюдение этических норм и правил сбора данных для исследований, которые проводятся с участием людей. Перед началом проведения исследования ученый должен ознакомиться с положениями об информированном согласии Хельсинкской декларации и проводить исследование в строгом соответствии с принципами, изложенными ниже (пункты 25 — 32 в оригинальном документе).

1. Участие в качестве субъектов исследования лиц, способных дать информированное согласие, должно быть добровольным. Несмотря на то, что в ряде случаев может быть уместной консультация с родственниками или лидерами социальной группы, ни одно лицо, способное дать информированное согласие, не может быть включено в исследование, если оно не дало своего собственного добровольного согласия. В медицинском исследовании с участием в качестве субъектов исследования лиц, способных дать информированное согласие, каждый потенциальный субъект должен получить достаточную информацию о целях, методах, источниках финансирования, любых возможных конфликтах интересов, принадлежности к каким-либо организациям, ожидаемой пользе и потенциальных рисках, о неудобствах, которые могут возникнуть вследствие участия в исследовании, условиях, действующих после окончания исследования, а также о любых иных значимых аспектах исследования. Потенциальный субъект исследования

должен быть проинформирован о своем праве отказаться от участия в исследовании или отозвать свое согласие на участие в любой момент без каких-либо неблагоприятных для себя последствий. Особое внимание должно уделяться специфическим информационным потребностям каждого потенциального субъекта, а также методам, используемым для предоставления информации.

2. Убедившись, что потенциальный субъект понял предоставленную ему информацию, врач или иное лицо, имеющее соответствующую квалификацию, должны получить добровольное информированное согласие субъекта на участие в исследовании, предпочтительно в письменной форме. Если согласие не может быть выражено в письменной форме, должно быть надлежащим образом оформлено и засвидетельствовано устное согласие. Всем субъектам медицинского исследования должна быть предоставлена возможность получения информации об общих выводах и результатах исследования.

3. При получении информированного согласия на участие в исследовании врач должен проявлять особую осмотрительность в тех случаях, когда потенциальный субъект находится в зависимом по отношению к врачу положении, или может дать согласие под давлением. В таких случаях информированное согласие должно быть получено лицом, имеющим соответствующую квалификацию и полностью независимым от такого рода отношений.

4. Если потенциальным субъектом исследования является лицо, не способное дать информированное согласие, врач должен получить информированное согласие его законного представителя. Такие лица не должны включаться в исследование, которые не несут для них вероятной пользы, кроме случаев, когда такое исследование проводится в целях улучшения оказания медицинской помощи группе людей, представителем которой является потенциальный субъект, не может быть заменено исследованием на лицах, способных дать информированное согласие, а также связано только с минимальными рисками и неудобствами.

5. Если потенциальный субъект, признанный не способным дать информированное согласие, способен, тем не менее, выразить собственное отношение к участию в исследовании, врач должен запросить его мнение в дополнение к согласию его законного представителя. Несогласие потенциального субъекта должно учитываться.

6. Исследования с участием субъектов, физически или психически не способных дать согласие, например, пациентов, находящихся в бессознательном состоянии, могут проводиться только при условии, что физическое или психическое состояние, препятствующее получению информированного согласия, является неотъемлемой характеристикой исследуемой группы. В таких случаях врач должен запрашивать информированное согласие у законного представителя. Если такой представитель не доступен и если включение пациента не может быть отсрочено, исследование может проводиться без получения информированного согласия при условии, что особые причины для включения субъектов в исследование в состоянии, препятствующем предоставлению информированного согласия, оговорены в протоколе исследования, а проведение исследования одобрено комитетом по этике. При первой возможности должно быть получено согласие субъекта или его законного представителя на продолжение участия в исследовании.

7. Врач должен предоставить пациенту полную информацию о том, какие из аспектов лечения относятся к проводимому исследованию. Отказ пациента участвовать в исследовании или решение о выходе из исследования не должны отражаться на его взаимоотношениях с врачом.

8. В медицинских исследованиях с использованием биологических материалов или данных, допускающих идентификацию лица, от которого они были получены,

например, при исследованиях материалов либо данных, содержащихся в биобанках или аналогичных хранилищах, врач должен получить информированное согласие на получение, хранение и/или повторное использование таких материалов и данных. Могут иметь место исключения, когда получение согласия для такого исследования невозможно или нецелесообразно. В таких случаях исследование может проводиться только после рассмотрения и одобрения комитетом по этике.

II. Положение о правах человека

При представлении результатов экспериментальных исследований на людях необходимо указать, соответствовали ли проведенные процедуры этическим нормам, прописанным в Хельсинкской декларации. Если исследование проводилось без учета принципов Декларации, необходимо обосновать выбранный подход к проведению исследования и гарантировать, что этический комитет организации, в которой проводилось исследование, одобрил выбранный подход.

III. Оформление рукописи

1. Рукопись. Направляется в редакцию в электронном варианте через online-форму. Загружаемый в систему файл со статьей должен быть представлен в формате Microsoft Word (иметь расширение *.doc, *.docx, *.rtf).

2. Объем полного текста рукописи должен составлять примерно 0,5 авторских листа (20 000 знаков).

3. Формат текста рукописи. Текст должен быть напечатан шрифтом Times New Roman, иметь размер 12 pt и межстрочный интервал 1,0 pt. Отступы с каждой стороны страницы — 2 см. Выделения в тексте должны приводить ТОЛЬКО курсивом или полужирным начертанием букв, но НЕ подчеркиванием. Из текста необходимо удалить все повторяющиеся пробелы и лишние разрывы строк (в автоматическом режиме через сервис Microsoft Word «Найти и заменить»).

4. Файл с текстом статьи, загружаемый в форму для подачи рукописей, должен содержать всю информацию для публикации (в том числе рисунки и таблицы). Структура рукописи должна соответствовать шаблону:

- **Авторы статьи.** При написании авторов статьи фамилию следует указывать до инициалов имени и отчества (Иванов П. С., Петров С. И., Сидоров И. П.)

- **Название учреждения.** Необходимо привести официальное ПОЛНОЕ название учреждения (без сокращений). Если в написании рукописи принимали участие авторы из разных учреждений, необходимо соотнести названия учреждений и ФИО авторов путем добавления цифровых индексов в верхнем регистре перед названиями учреждений и фамилиями соответствующих авторов.

- **Русскоязычная аннотация** должна быть (если работа оригинальная) структурированной: введение, цель, материал и методы, результаты, выводы. Резюме должно полностью соответствовать содержанию работы. Объем текста резюме должен быть в пределах 150 — 200 слов (250 — 750 знаков). В аннотации не должно быть общих слов. Рекомендуем обратиться к руководствам по написанию аннотаций, например: <http://authorservices.taylorandfrancis.com/abstracts-and-titles/> (англ.) или: <http://www.scieditor.ru/jour/article/view/19> (русс.)

- **Название статьи.**

- **Ключевые слова.** Необходимо указать ключевые слова (от 4 до 10), способствующие индексированию статьи в поисковых системах. Ключевые слова должны попарно соответствовать на русском и английском языке.

- **Abstract.** Англоязычная версия резюме статьи должна по смыслу и структуре полностью соответствовать русскоязычной и быть грамотной с точки зрения английского языка.

- **Article title.** Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по

смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

Название статьи на английском языке рекомендуем давать с прописных букв (кроме предлогов и союзов):

Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Chronic Heart Failure in Elderly People: Literature Review

• **Author names.** ФИО необходимо писать в соответствии с заграничным паспортом или так же, как в ранее опубликованных в зарубежных журналах статьях, корректный формат: Ivan I. Ivanov. Авторам, публикующимся впервые и не имеющим заграничного паспорта, следует воспользоваться стандартом транслитерации BGN/PCGN.

• **Affiliation.** Необходимо указывать ОФИЦИАЛЬНОЕ АНГЛОЯЗЫЧНОЕ НАЗВАНИЕ УЧРЕЖДЕНИЯ. Наиболее полный список названий российских учреждений и их официальной англоязычной версии можно найти на сайте РУНЭБ: eLibrary.ru.

• **Keywords.** Для выбора ключевых слов на английском следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США — Medical Subject Headings (MeSH).

• **Полный текст** (на русском и/или английском языках) должен быть структурированным по разделам. Структура полного текста рукописи, посвященной описанию результатов оригинальных исследований, должна соответствовать формату **IMRAD** (Introduction, Methods, Results and Discussion — Введение, Методы, Результаты и Обсуждение) с выделением соответствующих разделов.

• **Благодарности на русском языке:** в этом разделе должны быть указаны ФИО людей, которые помогли в работе над статьей, но не являются авторами, а также информация о финансировании, как научной работы, так и процесса публикации статьи (фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.). Указывать размер финансирования не требуется.

• **Благодарности на английском языке (Acknowledgements).**

• **Информация о конфликте интересов** (перевод этой информации также должен быть сделан). Авторы должны раскрыть потенциальные и явные конфликты интересов, связанные с рукописью. Конфликтом интересов может считаться любая ситуация (финансовые отношения, служба или работа в учреждениях, имеющих финансовый или политический интерес к публикуемым материалам, должностные обязанности и др.), способная повлиять на автора рукописи и привести к сокрытию, искажению данных или изменению их трактовку. Наличие конфликта интересов у одного или нескольких авторов не является поводом для отказа в публикации статьи. Выявленное редакцией сокрытие потенциальных и явных конфликтов интересов со стороны авторов может стать причиной отказа в рассмотрении и публикации рукописи.

• **Список литературы (и перевод).** Оформление списка литературы осуществляется в соответствии с требованиями «Ванкуверского стиля» с указанием в конце источника индекса DOI (Digital Object Identifier, уникальный цифровой идентификатор статьи в системе CrossRef). Поиск DOI на сайте: <http://search.crossref.org/>. Для получения DOI нужно ввести в поисковую строку название статьи на английском языке.

Правила оформления списка литературы

Нумерация в списке литературы осуществляется по мере цитирования, а не в алфавитном порядке. В тексте статьи библиографические ссылки даются цифрами в квадратных скобках: [1, 2, 3, 4, 5].

Внимание!

НЕ ЦИТИРУЮТСЯ:

— тезисы, учебники, учебные пособия. Материалы конференций могут быть включены в список литературы только в том случае, если они доступны, обнаруживаются поисковыми системами;

— статистические сборники (указываются в постраничных сносках);

— диссертации без депонирования не указываются вообще!

Источниками в списке литературы могут быть печатные (опубликованные, изданные полиграфическим способом) и электронные издания (книги, имеющие ISBN, или статьи из периодических журналов, имеющие ISSN).

Примеры оформления

При оформлении ссылки рекомендуется обращать внимание на пример ниже, учитывая все детали (интервалы, знаки препинания, заглавные буквы и пр.):

Дулаев А. Л., Цег А. Н., Усубалиев Л. Н., Ильющенко К. Г., Муштин Н. Е. Результаты первичного эндопротезирования тазобедренного сустава при переломах вертельной области бедренной кости у пациентов пожилого возраста // Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова. — 2016. — Т. 23, № 1. — С. 54–58.

• **References** (список на английском).

Внимание! Все имена авторов русскоязычных источников пишем на транслите в системе «BSI», а имена авторов иностранных источников — на английском. Название русскоязычных журналов на английском должно быть взято у издателя (как правило, на сайте журнала есть английская версия). Названия иностранных журналов и книги следует ставить в оригинале. Указывать всех авторов. Менять очередность авторов в изданных источниках не допускается. Сначала пишется фамилия автора, затем — инициалы:

Dulaev A. K., Tsed A. N., Usubaliev K. T., Iljushchenko N. E., Mushtin N. E. Results of primary hip endoprosthesis replacement at fractures of trochanteric region of the femur in elderly patients. *Uchenye zapiski Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta imeni akademika I. P. Pavlova*. 2016;23(1):54–58. (In Russ.).

Автор несет полную ответственность за точность и достоверность данных, приведенных в рукописи статьи, прилагаемой в редакцию журнала.

• **Английский язык и транслитерация.** При публикации статьи часть или вся информация должна быть продублирована на английский язык или транслитерирована (имена собственные).

При транслитерации рекомендуется использовать стандарт BGN/PCGN (United States Board on Geographic Names / Permanent Committee on Geographical Names for British Official Use), рекомендованный международным издательством Oxford University Press как «British Standard». Для транслитерации текста в соответствии со стандартом BGN можно воспользоваться ссылкой: <http://www.transliteration.com/transliteration/en/russian/bgn-pcgn/>.

• **Таблицы** следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию. Ссылки на таблицы в тексте обязательны. *Названия таблиц необходимо переводить на английский.*

• **Рисунки** (графики, диаграммы, схемы, чертежи и другие иллюстрации, рисованные средствами MS Office) должны быть контрастными и четкими. Объем графического материала минимальный (за исключением работ, где это оправдано характером исследования). Каждый рисунок должен быть помещен в текст и сопровождаться нумерованной подрисуночной подписью. Ссылки на рисунки в тексте обязательны. *Подрисуночные подписи необходимо переводить на английский.*

• **Фотографии, отпечатки экранов мониторов** (скриншоты) и другие нерисованные иллюстрации необходимо загружать отдельно в специальном разделе формы для

подачи статьи в виде файлов формата *.jpeg, *.bmp, *.gif (*.doc и *.docx – в случае, если на изображение нанесены дополнительные пометки). Разрешение изображения должно быть >300 dpi. Файлам изображений необходимо присвоить название, соответствующее номеру рисунка в тексте. В описании файла следует отдельно привести подрисовочную подпись, которая должна соответствовать названию фотографии, помещаемой в текст (пример: Рис. 1. Сеченов Иван Михайлович).

• **Соответствие нормам этики.** Для публикации результатов оригинальной работы необходимо указать, подписывали ли участники исследования информированное согласие. В случае проведения исследований с участием животных – соответствовал ли протокол исследования этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных. В обоих случаях необходимо указать, был ли протокол исследования одобрен этическим комитетом (с приведением названия соответствующей организации, ее расположения, номера протокола и даты заседания комитета).

• **Сопроводительные документы.** При подаче рукописи в редакцию журнала необходимо дополнительно загрузить файлы, содержащие сканированные изображения заполненных и заверенных сопроводительных документов (в формате *.pdf). К сопроводительным документам относится **сопроводительное письмо** с места работы автора с печатью и подписью руководителя организации, а также подписями всех соавторов (для каждой указанной в рукописи организации необходимо предоставить отдельное сопроводительное письмо). Сопроводительное письмо должно содержать сведения, что данный материал не был опубликован в других изданиях и не принят к печати другим издательством/издающей организацией, конфликт

интересов отсутствует. В статье отсутствуют сведения, не подлежащие опубликованию.

• **Письмо-сопровождение**, подписанное каждым автором: «Настоящим подтверждаю передачу прав на публикацию статьи ФИО авторов „Название статьи“ в неограниченном количестве экземпляров в журнале «Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова», включая электронную версию журнала».

IV. Авторские права

Авторы, публикующие статьи в данном журнале, соглашаются со следующим.

1. Авторы сохраняют за собой авторские права на работу и предоставляют журналу право первой публикации работы на условиях лицензии Creative Commons Attribution License, которая позволяет другим распространять данную работу с обязательным сохранением ссылок на авторов оригинальной работы и оригинальную публикацию в этом журнале.

2. Авторы сохраняют право заключать отдельные контрактные договоренности, касающиеся не-эксклюзивного распространения версии работы в опубликованном здесь виде (например, размещение ее в институтском хранилище, публикацию в книге), со ссылкой на ее оригинальную публикацию в этом журнале.

3. Авторы имеют право размещать их работу в сети Интернет (например, в институтском хранилище или на персональном сайте) до и во время процесса рассмотрения ее данным журналом, так как это может привести к продуктивному обсуждению и большему количеству ссылок на данную работу (См. The Effect of Open Access).

МАТЕРИАЛЫ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ СЛЕДУЕТ ЗАГРУЖАТЬ НА САЙТ ЖУРНАЛА

Информация по заполнению электронной формы для отправки статьи в журнал подробно описана на сайте <http://www.sci-notes.ru/jour>.

197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6-8,
Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
Редакция журнала «Ученые записки СПбГМУ».

телефон: 338-70-07
факс: 8 (812) 338-66-77
e-mail: nauka@spb-gmu.ru
<http://www.sci-notes.ru>

Главный редактор – академик РАН, профессор С. Ф. Багненко
Зам. главного редактора – профессор Э. Э. Звартау
Зам. главного редактора – академик РАН, профессор Ю. С. Полушин

REGULATIONS FOR AUTHORS

The «The Scientific Notes of Pavlov University» is the official journal of the IPP-SPSMU. It publishes reports on the problems of medical science, practical work and teaching.

In accordance with the resolution of the Higher Attestation Commission (HAC) of the Ministry of Education and Science the journal «The Scientific Notes of Pavlov University» is included in the list of the leading reviewed scientific journals issued in the Russian Federation and is recommended for publication of the main results of dissertation researches.

The journal offers the following sections:

- editorials;
- original papers;
- reviews and lectures;
- discussions;
- practical guidelines
- brief information;
- history and present day events;
- historical calendar;
- information on the schedule of conferences, symposia, and congresses.

PEER REVIEW PROCESS

- Editorial staff provides expert analysis (double blind review, implying that neither author nor reviewer know each other) of the materials, going with its subject for the purpose of its expert analysis.

- All the readers are acknowledged specialists in the subject of reviewed materials and have had publications on the subject of reviewed article during the last 3 years.

- One of the readers is a member of editorial board of the journal. Having received two appreciations, the article was considered at the meeting of editorial board with obligatory participation of the member of editorial board who reviewed the article. Following the results of the discussion a decision is made about the publication of the article, its rejection or its adaptation under the guidance of appointed member of editorial board. In case of discrepancy of evaluation of the article by the external reviewer and the member of the editorial board, additional peer review can be set up.

- Pursuant to written reviews and conclusion of the Editorial board the manuscript is accepted for printing, sent to the author (coauthors) for adaptation or rejected.

- In case of refusal in publication of the article the editorial staff sends a reasoned refusal to the author.

- The Editorial staff will send copies of the reviews to the Ministry of Education and Science of the Russian Federation in case of corresponding inquiry sent to the editorial staff of the journal.

- Reviews are kept in the publishing house for 5 years.
- Articles are published in the journal free of charge.

INDEXATION

Articles in «The Scientific Notes of Pavlov University» are included into systems of settlements of citation indexes of authors and journals. «Citation index» is an index number, characterizing significance of this article, which can be calculated based on following publications, referring to this paper.

The journal is indexed in several systems:

Russian Scientific Citation Index (RSCI) — a database, accumulating information on papers by Russian scientists, published in native and foreign titles. The RSCI project is under development since 2005 by «Electronic Scientific Library» foundation (elibrary.ru). Over 2400 of national journals had been published on platform elibrary by 2012.

Google Academy (Google Scholar) is a freely accessible web search engine that indexes the full text of scholarly literature across an array of publishing formats and disciplines. The Google Scholar index includes most peer-reviewed online journals of Europe and America's largest scholarly publishers, plus scholarly books and other non-peer reviewed journals.

AUTHOR GUIDELINES

Preparing the manuscript to the Editorial Board, authors are kindly requested to adhere to the following regulations based on the «Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals», developed by the International Committee of Medical Journal Editors. Making decisions and resolving possible conflicts, the Editorial Board of the journal adheres to the recognized international rules governing ethical relations between all participants of the publication process — authors, editors, reviewers, publisher and founder.

The provisions listed in this part are based on the recommendations of the Committee on Publication Ethics (COPE), the Publication Ethics and Publication Malpractice Statement of the publisher Elsevier, the Declaration of the Association of scientific editors and publishers «Ethical principles of scientific publication».

I. Provision of Informed Consent

The work of the journal «The Scientific Notes of Pavlov University» is based on the World Medical Association Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (updated in 2013) and is directed to ensure compliance with ethical principles and rules of data collection for researches carried out with the involvement of human subjects. Before starting the research, the scientist must read provisions of the informed consent of the Declaration of Helsinki and carry out the research in strict accordance with the principles set out below (items 25 – 32 in original document).

1. Participation by individuals capable of giving informed consent as subjects in medical research must be voluntary. Although it may be appropriate to consult family members or community leaders, no individual capable of giving informed consent may be enrolled in a research study unless he or she freely agrees.

2. In medical research involving human subjects capable of giving informed consent, each potential subject must be adequately informed of the aims, methods, sources of funding, any possible conflicts of interest, institutional affiliations of the researcher, the anticipated benefits and potential risks of the study and the discomfort it may entail, post-study provisions and any other relevant aspects of the study. The potential subject must be informed of the right to refuse to participate in the study or to withdraw consent to participate at any time without reprisal. Special attention should be given to the specific information needs of individual potential subjects as well as to the methods used to deliver the information. After ensuring that the potential subject has understood the information, the physician or another appropriately qualified individual must then seek the potential subject's freely-given informed consent, preferably in writing. If the consent cannot be expressed in writing, the non-written consent must be formally documented and witnessed. All medical research subjects should be given the option of being informed about the general outcome and results of the study.

3. When seeking informed consent for participation in a research study the physician must be particularly cautious if the potential subject is in a dependent relationship with the physician or may consent under duress. In such situations the informed consent must be sought by an appropriately

qualified individual who is completely independent of this relationship.

4. For a potential research subject who is incapable of giving informed consent, the physician must seek informed consent from the legally authorised representative. These individuals must not be included in a research study that has no likelihood of benefit for them unless it is intended to promote the health of the group represented by the potential subject, the research cannot instead be performed with persons capable of providing informed consent, and the research entails only minimal risk and minimal burden.

5. When a potential research subject who is deemed incapable of giving informed consent is able to give assent to decisions about participation in research, the physician must seek that assent in addition to the consent of the legally authorised representative. The potential subject's dissent should be respected.

6. Research involving subjects who are physically or mentally incapable of giving consent, for example, unconscious patients, may be done only if the physical or mental condition that prevents giving informed consent is a necessary characteristic of the research group. In such circumstances the physician must seek informed consent from the legally authorised representative. If no such representative is available and if the research cannot be delayed, the study may proceed without informed consent provided that the specific reasons for involving subjects with a condition that renders them unable to give informed consent have been stated in the research protocol and the study has been approved by a research ethics committee. Consent to remain in the research must be obtained as soon as possible from the subject or a legally authorised representative.

7. The physician must fully inform the patient which aspects of their care are related to the research. The refusal of a patient to participate in a study or the patient's decision to withdraw from the study must never adversely affect the patient-physician relationship.

8. For medical research using identifiable human material or data, such as research on material or data contained in biobanks or similar repositories, physicians must seek informed consent for its collection, storage and/or reuse. There may be exceptional situations where consent would be impossible or impracticable to obtain for such research. In such situations the research may be done only after consideration and approval of a research ethics committee.

II. Provision of Human Rights

When presenting results of the experimental research involving human subjects, it is necessary to note that procedures were carried out in accordance with ethical principles of the Declaration of Helsinki. If the research was carried out without accounting principles of the Declaration, it is necessary to substantiate the chosen approach to the research and ensure that the ethics committee of the organization, where the research was carried out, approved this approach.

III. Manuscript preparation

1. Manuscript. Please send the manuscript to the Editorial Board uploading via the online form. You should upload your manuscript as a Microsoft Office Word document (*.doc, *.docx, *.rtf.).

2. The length of the full text of the manuscript should not exceed 0.5 authors sheet (20 000 characters).

3. Manuscript formatting. The text should be printed in Times New Roman, font size 12 pt and line spacing 1.0 pt. Margins on each side of the page are 2 cm. It is acceptable to use ONLY *italic* and **bold** formatting in the text, but not underlining. It is necessary to remove all repeated spaces and extra line breaks from the text (automatically through the Microsoft Word service «Find and replace»).

4. The file with the text of the manuscript uploaded via the online form should contain all the information for publication (including figures and tables). Please organize the structure of the manuscript according to the following template:

- **Author names in Russian.** When writing author names of the manuscript, the surname should be stated before initials of the name and the patronymic (Ivanov P. S., Petrov S. I., Sidorov I. P.).

- **Affiliation in Russian.** You should use the official FULL name of institution (without abbreviations). If authors from different institutions took part in the writing of the manuscript, it is necessary to correlate names of institutions and author names adding numerical indices in the upper register before names of institutions and surnames of appropriate authors.

- **Abstract in Russian** should be (if the work is original) structured: introduction, objective, material and methods, results, conclusion. The abstract should fully correspond to the content of the work. The text length of the abstract should be within 150–200 words (250–750 characters). The abstract should not contain general words. We refer to use guidelines for writing annotations, for example: <http://authorservices.taylorandfrancis.com/abstractsandtitles/> (Eng.) or: <http://www.sciencedirect.com/journal/article/view/19> (Russ.)

- **Article title.**

- **Keywords.** It is necessary to use keywords (from 4 to 10) that promote the indexing of the manuscript in search engines. Keywords should correspond in pairs in Russian and English.

- **Abstract in English.** The English version of the abstract of the manuscript should be in the sense and structure fully consistent with the Russian version and correct in terms of English.

- **Article title in English.** The article title in English should be correct in terms of English and within the sense fully consistent with the Russian version. We recommend to write the article title in English in capital letters (except prepositions and conjunctions): Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Chronic Heart Failure in Elderly People: Literature Review.

- **Author names in English.** Full name should be printed in accordance with your foreign passport or in the same way as previously published in foreign journals. The correct format: Ivan I. Ivanov. Authors who publish for the first time and do not have foreign passport should use the transliteration standard BGN/PCGN.

- **Affiliation in English.** You should use the OFFICIAL ENGLISH NAME of an INSTITUTION. The most complete list of names of Russian institutions and their official English version can be found on the RUNEB website: eLibrary.ru.

- **Keywords in English.** When selecting keywords in English, you should use the thesaurus of the U. S. National Library of Medicine – Medical Subject Headings (MeSH).

- **Full text** (in Russian and/or English) should be structured in sections. The structure of the full text of the manuscript devoted to the description of the results of the original research should correspond to the format **IMRAD** (Introduction, Methods, Results and Discussion) with marking appropriate sections.

- **Acknowledgements in Russian:** this section should contain full names of people who helped in the work on the manuscript, but are not authors, as well as information about the financing of both scientific work and the process of publication of the manuscript (fund, commercial or public organization, private person, etc.). You do not need to indicate the amount of funding.

- **Acknowledgements in English** (Acknowledgements).

- **Conflict of interest information** (translation of this information should also be done). Authors should disclose potential and obvious conflicts of interest related to the manuscript. A conflict of interest can be any situation (financial relations, service or

work in institutions with financial or political interest in the published materials, official duties, etc.) that can affect the author of the manuscript and lead to concealment, distortion of data or change their interpretation. The presence of a conflict of interest for one or more authors is not a reason for refusal to publish the manuscript. The concealment of potential and obvious conflicts of interests of the authors revealed by the Editorial Board can become the reason for refusal in consideration and publication of the manuscript.

• **References (and translation).** Reference list should be prepared in accordance with the requirements of the «Vancouver style» noting at the end the DOI (Digital Object Identifier; a unique digital identifier of the article in the CrossRef system). Search for DOI on the website: <http://search.crossref.org/>. You should enter the article title in English in a search string to obtain a DOI.

• **Reference list guidelines.** References should be enumerated in the order in which they are cited, but not in alphabetical order. Bibliographic references in the text of the manuscript should be listed in Arabic numerals figures and enclosed in square brackets: [1, 2, 3, 4, 5].

Important!

NOT QUOTED:

– theses, textbooks, manuals. Conference materials can be included in the list of references only if they are available, detected by search engines;

– statistic digests (indicated in pagebypage footnotes);

– dissertations without depositing are not indicated at all!

Sources in references can be published and electronic versions of publications (books with ISBN, or articles from periodicals with ISSN).

For example:

When listed references, it is recommended to pay attention to the example below, taking into account all the details (intervals, punctuation marks, capital letters, etc.):

Dulaev A. L., Tsed, A. N., Usabaliev, L. N., Iliushchenko K. G., Mushtin N. E. Results of primary hip endoprosthesis replacement at fractures of trochanteric region of the femur in elderly patients // *The Scientific Notes of Pavlov University*. – 2016. – T. 23, № 1. – P. 54–58.

• **References** (in English).

Important! All author names of the Russian-language sources should be printed in accordance with the transliteration system «BSI», and author names of foreign sources – in English. The name of Russian-language journals in English should be taken from the publisher (as a rule, English version is on the website of the journal). Names of foreign journals and books should be put in the original. Specify all authors. It is excluded changing the order of authors in published sources. Please begin with the author's surname, then initials:

Dulaev A. K., Tsed A. N., Usabaliev K. T., Iliushchenko N. E., Mushtin N. E. Results of primary hip endoprosthesis replacement at fractures of trochanteric region of the femur in elderly patients. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2016;23(1):54–58. (In Russ.).

The author is fully responsible for the accuracy and reliability of the presented data in the manuscript sent to the journal.

• **English translation.** When publishing the article, part or all of the information should be repeated in English or transliterated (proper names).

We recommend to use BGN/PCGN standard (United States Board on Geographic Names / Permanent Committee on geographic Names for British Official Use) recommended by Oxford University Press as «British Standard». You can use the following link to transliterate your text in accordance with the BGN standard: <http://www.transliteration.com/transliteration/en/russian/bgnpcgn/>.

• **Tables** should be placed in the text of the manuscript, have enumerated title and clearly marked columns, be convenient

and understandable for reading. The data of tables should correspond to figures in the text, but should not repeated the information presented in the text. References to tables in the text are required. Names of tables should be translated into English.

• **Figures** (graphics, diagrams, schemes, drawings and other illustrations drawn by MS Office) should be contrasting and clear. Reduce graphical material to minimum (unless the nature of your study dictates otherwise). Each figure should be placed in the text and accompanied by enumerated caption. References to figures in the text are required. Captions should be translated in English.

• **Pictures, screenshots** and other not drawn illustrations should be uploaded as separate files via our web form in *.jpg, *.bmp or *.gif (*.doc and *.docx – if the image contains additional notes). The image resolution should be >300 dpi. Image files should be named according to the number of the picture in the text. The description of the file should contain the separate caption, which should correspond to the name of the picture placed in the text (for example: Fig. 1. Sechenov Ivan Mikhailovich).

• **Ethics statement.** When publishing results of original work, it is necessary to indicate whether the participants signed the informed consent. In the case of studies involving animals, it is necessary to indicate whether the protocol of the research corresponded the ethical principles and standards of biomedical research involving animals. In both cases, it is necessary to indicate whether the protocol of the research was approved by the ethics committee (with the name of the organization, its location, protocol number and date of the meeting of the committee).

• **Supporting documents.** When submitting a manuscript to the Journal Editorial Board, it is necessary to additionally upload files containing scanned images of filled and certified supporting documents (*.pdf). Supporting documents include a cover letter from the author's place of work authenticated by seal and signed by the head of the organization, as well as signed by all co-authors (we require a separate letter for each of the affiliations declared in the manuscript). The cover letter should contain information that this material has not been published in other publications and is not under consideration for publication in another publisher/publishing organization, and there is no conflict of interest. The article does not contain information that cannot be published.

• **Cover letter.** The cover letter should be signed by each co-author: «I hereby confirm the transfer of rights to publish the article of author FULL NAMES «Article title» in an unlimited number of copies in the journal «The Scientific Notes of Pavlov University», including the electronic version of the journal».

IV. Copyright

Authors who publish with this journal agree to the following terms:

1. The authors retain their copyrights of the work and grant the journal the right to publish the work in the first place under the terms of the Creative Commons Attribution License, which allows others to distribute this work with the mandatory preservation of references to authors of the original work and the original publication in this journal.

2. The authors retain their rights to conclude separate contractual arrangements for the non-exclusive distribution of the published version of the work (for example, placement in an institutional data warehouse, publication in a book), with reference to its original publication in this journal.

3. The authors have the right to post their work on the Internet (for example, in institutional data warehouse or personal website) before and during the process of reviewing it by this journal, as this can lead to productive discussion and more references to this work (See The Effect of Open Access).

SOFT COPIES OF MATERIALS SHOULD BE UPLOADED TO THE WEBSITE OF THE JOURNAL

Information of filling in of electronic form for sending article to the journal can be found on the website <http://www.sci-notes.ru/jour>.

197022, Saint Petersburg, 6-8 Lev Tolstoy str.,
Pavlov First Saint Petersburg State Medical University

Tel.: 7 (812) 338-70-07
Fax: 7 (812) 338-66-77
e-mail: nauka@spb-gmu.ru

Editorial Office of the journal «The Scientific Notes of IPP-SPSMU» <http://www.sci-notes.ru>

Editor-in-chief – *S. F. Bagnenko*, MD, PhD, DMSc, professor, academician of RAS
Deputy Editors – *E. E. Zvartau*, MD, PhD, DMSc, professor
Deputy Editors – *Yu. S. Polushin*, MD, PhD, DMSc, professor, academician of RAS

ВНИМАНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ!

Сообщаем Вам, что на журнал «Ученые записки» проводится подписка по каталогу «Пресса России». Подписной индекс для организаций и частных лиц – 29248.

Информацию о подписке на журнал «Ученые записки» Вы также можете получить в РИЦ ПСПбГМУ им. И. П. Павлова.

Адрес: 193089, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6-8
Телефон: (812) 338-70-07
Факс: (812) 338-66-77

Компьютерная верстка и подготовка оригинал-макета *А. А. Чиркова*
Корректор *В. А. Черникова*



Журнал зарегистрирован
Государственным комитетом Российской Федерации по печати.
Свидетельство № 017631 от 22 мая 1998 г.
Подписано в печать 05.07.2022 г. Формат бумаги 60×90^{1/8}.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 9,75. Тираж 1000 экз. № 122/22.
РИЦ СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,
197089, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8.

© УЧЕННЫЕ ЗАПИСКИ СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, 2022