



Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова  
(Сеченовский Университет)

# СЕЧЕНОВСКИЙ *SECHENOV MEDICAL JOURNAL* ВЕСТНИК

Том/Volume 14  
№ 4, 2023

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

## ОБЗОР:

Влияние спринтерских тренировок  
на здоровье костей

## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ:

Цитолитический потенциал  
вируса везикулярного  
стоматита серотипов Indiana  
и New Jersey в отношении  
опухолевых клеточных линий

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ:

Хирургическое лечение пациента  
с интракраниальной  
эпителиоидной  
гемангиоэндотелиомой



# СЕЧЕНОВСКИЙ ВЕСТНИК

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ  
Sechenovskii vestnik

## Цели и задачи

К основным целям журнала относятся представление актуальных научных достижений российских и зарубежных ученых в области медико-биологических наук, фундаментальной и клинической медицины, увеличение значимости и авторитета российской медицинской науки за счет повышения качества научных публикаций.

Научно-практический медицинский журнал «Сеченовский вестник» публикует статьи по актуальным вопросам медико-биологических наук, клинической медицины. Издание предназначено для профессионалов в области здравоохранения.

## Главный редактор

**П.В. Глыбочко** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, ректор Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-5541-2251>, Scopus Author ID: 26435273000

## Заместитель главного редактора

**Д.В. Бутнару** – канд. мед. наук, доц., начальник управления по научному развитию Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0003-2173-0566>, Scopus Author ID: 15758889100

## Научные редакторы

**М.Ю. Надинская** – канд. мед. наук, доц., руководитель Издательского центра Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-1210-2528>, Scopus Author ID: 6507949442

**Н.В. Эберле** – научный редактор Издательского центра Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0009-0006-6165-8983>

## Ответственный секретарь

**С.С. Кардашева** – канд. мед. наук, доц. каф. пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-5116-2144>, Scopus Author ID: 57212196771

## Редакционный совет

• **Е. Айкава** – канд. мед. наук, доц. медицинской школы Гарвардского университета (Бостон, США); <https://orcid.org/0000-0001-7835-2135>, Scopus Author ID: 55303859000 • **Г.Б. Белякович** – д-р мед. наук, проф. Нишского университета (Ниш, Сербия); <https://orcid.org/0000-0002-3796-9945>, Scopus Author ID: 34567603700 • **Э. Грандоне** – д-р мед. наук, проф. госпиталя Casa Sollievo della Sofferenza (Сан-Джованни-Ротондо, Италия); <https://orcid.org/0000-0002-9880-9783>, Scopus Author ID: 7006391091 • **М.Ю. Капитанова** – д-р мед. наук, проф. кафедры фундаментальных медицинских наук факультета Медицины и Здравоохранения Университета Малайзии Sarawak (Unimas) (Кота Самарахан, Малайзия); <https://orcid.org/0000-0001-6055-3123>, Scopus Author ID: 8854275100 • **О.Д. Мяделец** – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Витебского государственного университета Дружбы народов медицинского университета (Витебск, Беларусь); <https://orcid.org/0000-0001-8796-052X>, Scopus Author ID: 55790984400 • **С. Петанидис** – канд. мед. наук, науч. сотрудник Университета имени Аристотеля в Салониках (Салоники, Греция); <https://orcid.org/0000-0001-7482-6559>, Scopus Author ID: 55362289600 • **Д. Риццо** – MD, профессор, Университет Рома Тор Вергата, зав. кафедрой акушерства и гинекологии, Центральная поликлиника Тор Вергата (Рим, Италия); <https://orcid.org/0000-0002-5525-4353>, Scopus Author ID: 7102724281 • **Х.Э. Санер** – д-р мед. наук, проф. Бернского университета (Берн, Швейцария); <https://orcid.org/0000-0002-8025-7433>, Scopus Author ID: 55835032800 • **А.А. Свиштунов** – д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН, первый проректор Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); Scopus Author ID: 55578030700 • **А. Спаллоне** – д-р мед. наук, проф., директор отделения клинических нейронаук нейробиологического центра Латин NCL (Рим, Италия); <https://orcid.org/0000-0002-7017-1513>, Scopus Author ID: 7005531516 • **В. Яковлевич** – д-р мед. наук, проф., декан факультета медицинских наук Университета г. Крагуевац (Крагуевац, Сербия); <https://orcid.org/0000-0002-0071-8376>, Scopus Author ID: 56425747600

## Редакционная коллегия

• **В.Б. Анкин** – канд. мед. наук, проф. The Royal Brompton & Harefield NHS Foundation Trust (Лондон, Великобритания); Scopus Author ID: 7005592092 • **О.Б. Блюсс** – канд. физ.-мат. наук, науч. сотрудник Лондонского университета королевы Марии (Лондон, Великобритания); <https://orcid.org/0000-0002-0194-6389>, Scopus Author ID: 56020531500 • **С.Б. Болевич** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. патологии человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-1574-477X>, Scopus Author ID: 6603144931 • **А.А. Заикин** – канд. физ.-мат. наук, проф. системной медицины Университетского колледжа Лондона (Лондон, Великобритания); <https://orcid.org/0000-0001-7540-1130>, Scopus Author ID: 7103103296 • **А.В. Зорькина** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. амбулаторно-поликлинической терапии Национального исследовательского Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева (Саранск, Россия); <https://orcid.org/0000-0003-1122-9532>, Scopus Author ID: 6508247780 • **В.Т. Ивашкин** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, зав. каф. пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-6815-6015>, Scopus Author ID: 57201595785 • **А.М. Казарян** – д-р мед. наук, проф. Университета Осло (Осло, Норвегия); <https://orcid.org/0000-0001-9960-0820>, Scopus Author ID: 7003922201 • **С.Л. Кузнецов** – д-р мед. наук, член-корр. РАН, проф. кафедры анатомии и гистологии человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>, Scopus Author ID: 27267733100 • **А.Д. Макария** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, зав. каф. акушерства и гинекологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-7415-4633>, Scopus Author ID: 6602363216 • **Д. Макфарланд** – доц., Автономный Мадридский университет (Мадрид, Испания); <https://orcid.org/0000-0003-3994-4570>, Scopus Author ID: 57203783686 • **Л. Матронарди** – руководитель отделения нейрохирургии, больница Сан-Филиппо Нери (Рим, Италия); <https://orcid.org/0000-0003-0105-5786>, Scopus Author ID: 56228961100 • **Д.Б. Мунблит** – канд. мед. наук, проф. Imperial College London (Лондон, Великобритания); <https://orcid.org/0000-0001-9652-6856>, Scopus Author ID: 55233686800 • **Д.А. Напалков** – д-р мед. наук, проф. каф. факультетской терапии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-6241-2711>, Scopus Author ID: 7801384884 • **Ч.С. Павлов** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. терапии, руководитель Центра доказательной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-5031-9798>, Scopus Author ID: 5719635076 • **С.В. Пирожков** – д-р мед. наук, проф. каф. патофизиологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-7116-3398>, Scopus Author ID: 7004383734 • **И.В. Решетов** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, зав. каф. онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-0909-6278>, Scopus Author ID: 6701353127 • **М.И. Секачева** – д-р мед. наук, проф., директор Института персонализированной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0003-0015-7094>, Scopus Author ID: 24342526600 • **А.Н. Стрижак** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, зав. каф. акушерства, гинекологии и перинатологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-7718-7465>, Scopus Author ID: 7005104683 • **А.А. Суфьянов** – д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН, главный врач Федерального центра нейрохирургии (Тюмень, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-7580-0385>, Scopus Author ID: 6603558501 • **Г.Т. Сухих** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, директор НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0003-0214-1213>, Scopus Author ID: 7005776727 • **А.С. Шершнев** – д-р мед. наук, проф. Свердловского областного онкологического диспансера (Екатеринбург, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-8515-6017>, Scopus Author ID: 7006207122

История издания журнала: издается с 2010 г.

Периодичность: выходит 4 раза в год.

Префикс DOI: 10.47093

Свидетельство о регистрации средства массовой информации: ПИ № ФС77-78884 от 28 августа 2020 года выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Условия распространения материалов: контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.

Учредитель, издатель, редакция: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Адрес: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

Телефон редакции: +7 (905) 517-27-99

Сайт: <https://www.sechenovmedj.com/jour>

E-mail: [sechenovmedj@staff.sechenov.ru](mailto:sechenovmedj@staff.sechenov.ru)

Выход в свет: 30.11.2023

Копирайт: © Сеченовский вестник, 2023

Индексирование: журнал входит в перечень изданий, рекомендованных ВАК, и библиографическую базу данных РИНЦ.

Журнал представлен в Федеральной электронной медицинской библиотеке:

<http://www.femb.ru>

Подписной индекс: в каталоге агентства «Пресса России» – 29124

Цена: свободная

Заведующая редакцией: А.В. Седова

Редакторы-корректоры: И.С. Пигулевская, Л.А. Зелексон

Верстка: О.А. Юнина

Отпечатано: ООО «БЕАН»

Адрес: 603003, г. Нижний Новгород, ул. Баррикад, д. 1

Формат 60х90 1/8.

Печать офсетная. Тираж 1000 экз.

SECHENOV MEDICAL  
JOURNAL

SCIENTIFIC AND PRACTICAL MEDICAL JOURNAL



## Focus and Scope

The Sechenov Medical Journal is committed to presenting important scientific achievements in the field of biomedical sciences, fundamental and clinical medicine, increasing the authority of the Russian medical science by improving the quality of scientific publications.

The academic and clinical Sechenov Medical Journal publishes articles related to the issues of medical and biological sciences, clinical medicine. The information contained in Sechenov Medical Journal is intended for healthcare professionals only.

## Editor-in-Chief

**Peter V. Glybochko** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Rector of Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-5541-2251>, Scopus Author ID: 26435273000

## Deputy Editor-in-Chief

**Denis V. Butnaru** – MD, PhD, Associate Professor, Head of the Scientific Development Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0003-2173-0566>, Scopus Author ID: 15758889100

## Scientific Editors

**Maria Yu. Nadinskaia** – MD, PhD, Associate Professor, Head of Publishing Center, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-1210-2528>, Scopus Author ID: 6507949442

**Nataliya V. Eberle** – MD, Scientific Editor of Publishing Center, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0009-0006-6165-8983>

## Executive Secretary

**Svetlana S. Kardasheva** – MD, PhD, Associate Professor, Department of Internal Medicine Propaedeutics, Gastroenterology and Hepatology, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-5116-2144>, Scopus Author ID: 57212196771

## Editorial Council

• **Elena Aikawa** – MD, PhD, Associate Professor of Medicine Harvard Medical School (Boston, USA); <https://orcid.org/0000-0001-7835-2135>, Scopus Author ID: 55303859000 • **Goran B. Bjelaković** – MD, DMSc, Professor, University of Nis (Nis, Serbia); <https://orcid.org/0000-0002-3796-9945>, Scopus Author ID: 34567603700 • **Elvira Grandone** – MD, PhD, Professor, Hospital Casa Solievo della Sofferenza (San Giovanni Rotondo, Italy); <https://orcid.org/0000-0002-8980-9783>, Scopus Author ID: 7006391091 • **Marina Yu. Kapitonova** – MD, PhD, DMSc, Professor, Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sarawak (Kota Samarahan, Malaysia); <https://orcid.org/0000-0001-6055-3123>, Scopus Author ID: 8854275100 • **Oleg D. Myadelets** – MD, PhD, DMSc, Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Vitebsk State Order of Friendship of Peoples Medical University (Vitebsk, Belarus); <https://orcid.org/0000-0001-8796-052X>, Scopus Author ID: 55790984400 • **Savvas Petanidis** – PhD, Research Assistant, Aristotle University of Thessaloniki (Thessaloniki, Greece); <https://orcid.org/0000-0001-7482-6559>, Scopus Author ID: 55362289600 • **Giuseppe Rizzo** – MD, Professor and Chairman, University of Rome Tor Vergata, Department of Obstetrics and Gynecology, Fondazione Policlinico Tor Vergata (Rome, Italy); <https://orcid.org/0000-0002-5525-4353>, Scopus Author ID: 7102724281 • **Hugo E. Saner** – MD, DMSc, Professor, University of Bern (Bern, Switzerland); <https://orcid.org/0000-0002-8025-7433>, Scopus Author ID: 55835032800 • **Andrey A. Svistunov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Corresponding Member of RAS, First Vice-rector, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); Scopus Author ID: 55578030700 • **Aldo Spallone** – MD, PhD, Professor of Neurosurgery, Department Director, Neurological Centre of Latium NCL (Rome, Italy); <https://orcid.org/0000-0002-7017-1513>, Scopus Author ID: 7005531516 • **Vladimir Jakovljevic** – MD, PhD, DMSc, Professor, Dean of the Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac (Serbia); <https://orcid.org/0000-0002-0071-8376>, Scopus Author ID: 56425747600

## Editorial Board

• **Vladimir B. Anikin** – MD, PhD, Professor of Thoracic Surgery and Consultant Thoracic Surgeon, The Royal Brompton & Harefield NHS Foundation Trust, Harefield Hospital (London, UK); Scopus Author ID: 7005592092 • **Oleg B. Blyuss** – PhD, Research Associate, Queen Mary University of London (London, UK); <https://orcid.org/0000-0002-0194-6389>, Scopus Author ID: 56020531500 • **Sergey B. Bolevich** – MD, PhD, DMSc, Professor, Head of Pathology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-1574-477X>, Scopus Author ID: 6603144931 • **Alexey A. Zaikin** – PhD, Professor of Systems Medicine and Applied Mathematics, University College London (London, UK); <https://orcid.org/0000-0001-7540-1130>, Scopus Author ID: 7103103296 • **Angelina V. Zorkina** – MD, PhD, DMSc, Professor, Head of Department of Outpatient Polyclinic Therapy, National Research Mordovia State University (Saransk, Russia); <https://orcid.org/0000-0003-1122-9532>, Scopus Author ID: 6508247780 • **Vladimir T. Ivashkin** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Head of Department of Internal Medicine Propaedeutics, Gastroenterology and Hepatology, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-6815-6015>, Scopus Author ID: 57201595785 • **Airazat M. Kazaryan** – MD, PhD, Professor of Surgery, Oslo University Hospital (Oslo, Norway); <https://orcid.org/0000-0001-9960-0820>, Scopus Author ID: 7003922201 • **Sergey L. Kuznetsov** – MD, PhD, DMSc, Corresponding member of the RAS, Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>, Scopus Author ID: 27267733100 • **Alexander D. Makatsariya** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Head of Obstetrics and Gynaecology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-7415-4633>, Scopus Author ID: 6602363216 • **J. McFarland** – Associate Professor, Autonomous University of Madrid (Madrid, Spain); <https://orcid.org/0000-0003-3994-4570>, Scopus Author ID: 57203783686 • **L. Mastronardi** – Head of the Division of Neurosurgery, San Filippo Neri Hospital (Rome, Italy); <https://orcid.org/0000-0003-0105-5786>, Scopus Author ID: 56228961100 • **Daniel B. Munblit** – MD, MSc, PhD, Honorary Senior Lecturer, Imperial College London (London, UK); <https://orcid.org/0000-0001-9652-6856>, Scopus Author ID: 55233686800 • **Dmitrii A. Napalkov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Faculty Therapy Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-6241-2711>, Scopus Author ID: 7801384884 • **Chavdar S. Pavlov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Head of Therapy Department, Head of Center for Evidence-Based Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-5031-9798>, Scopus Author ID: 57196355076 • **Sergey V. Pirozhkov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Pathophysiology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-7116-3398>, Scopus Author ID: 7004383734 • **Igor V. Reshetov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Head of Oncology, Radiotherapy and Plastic Surgery Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-0909-6278>, Scopus Author ID: 6701353127 • **Marina I. Sekacheva** – MD, PhD, DMSc, Professor, Director of the Institute of Personalized Medicine of Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0003-0015-7094>, Scopus Author ID: 24342526600 • **Alexander N. Strizhakov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Head of Obstetrics, Gynaecology and Perinatology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-7718-7465>, Scopus Author ID: 7005104683 • **Albert A. Sufianov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Corresponding member of RAS, Head of Federal Center of Neurosurgery (Tyumen, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-7580-0385>, Scopus Author ID: 6603558501 • **Gennadiy T. Sukhikh** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Director of Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0003-0214-1213>, Scopus Author ID: 7005776727 • **Alexander S. Shershever** – MD, PhD, DMSc, Professor, Sverdlovsk Regional Oncology Dispensary (Yekaterinburg, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-8515-6017>, Scopus Author ID: 7006207122

**Founded:** the journal has been published since 2010.

**Frequency:** quarterly

**DOI Prefix:** 10.47093

**Mass Media Registration Certificate:** PI No FS77-78884 as of 28 August 2020 issued by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor).

**Distribution:** content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License

**Founder, Publisher, Editorial Office:** Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

**Address:** 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991

**Editorial office phone number:** +7 (905) 517-27-99

**Website:** <https://www.sechenovmedj.com/jour>

**E-mail:** [sechenovmedj@staff.sechenov.ru](mailto:sechenovmedj@staff.sechenov.ru)

**Published:** 30.11.2023

**Copyright:** © Sechenov Medical Journal, 2023

**Indexation:** the Journal is included in the index of periodical publications recommended by the State Commission for Academic Degrees and Titles, and in the Russian Science Citation Index database

The Journal is available in the Federal Electronic Medical Library: <http://www.femb.ru>

**Subscription index** in the Russian Press Agency catalog – 29124.

**Price:** flexible

**Managing Editor:** Alla V. Sedova

**Editors-proofreaders:** Irina S. Pigulevskaya, Lev A. Zelexon

**Page layout:** Olga A. Yunina

**Printed by** LLC BEAN

**Address:** 1, Barrikad str., Nizhny Novgorod, 603003

Format 60x90 1/8. Off set print. Print run 1000 copies.

# СОДЕРЖАНИЕ

## ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

ВЛИЯНИЕ СПРИНТЕРСКИХ ТРЕНИРОВОК  
НА ЗДОРОВЬЕ КОСТЕЙ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ  
*С. Бали, С. Панда, А. Сингх, С. Сингх*

## КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЦИТОЛИТИЧЕСКОГО  
ПОТЕНЦИАЛА ВИРУСА ВЕЗИКУЛЯРНОГО  
СТОМАТИТА СЕРОТИПОВ INDIANA И NEW  
JERSEY В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ  
КЛЕТочНЫХ ЛИНИЙ  
*А.С. Исаева, Н.О. Порозова, Э. Идота,  
С.И. Володина, А.Н. Лукашев, А.С. Малоголовкин*

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ  
У МЫШЕЙ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ  
ВЫСОКИХ И НИЗКИХ ДОЗ HSP70  
*Г.А. Пьявченко, А.А. Венедиктов, Е.А. Кузьмин,  
С.Л. Кузнецов*

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

*IN SILICO* ПРЕДСКАЗАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ  
ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА  
И ЭНХАНСЕРА КАК ПЕРВОГО ЭТАПА  
РЕГУЛЯЦИИ АКСОНАЛЬНОГО РОСТА  
*Д.Д. Котельников, И.А. Синякин, Е.А. Бородин,  
Т.А. Баталова*

## НЕЙРОХИРУРГИЯ

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПАЦИЕНТА  
С ИНТРАКРАНИАЛЬНОЙ ЭПИТЕЛИОИДНОЙ  
ГЕАНГИОЭНДОТЕЛИОМОЙ:  
КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ  
*А.В. Гаврюшин, Д.М. Чёлушкин*

## ПИСЬМО В РЕДАКЦИЮ

ПИСЬМО В РЕДАКЦИЮ ОТНОСИТЕЛЬНО  
«DRESS СИНДРОМ НА ФОНЕ ДОБАВЛЕНИЯ  
МЕРОПЕНЕМА К ТЕРАПИИ КАРБАМАЗЕПИНОМ:  
КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ»  
*В.М. дос Сантос, Т.А.М. Сугай*

## ОТ РЕДАКЦИИ

БЛАГОДАРНОСТЬ ЗА РЕЦЕНЗИРОВАНИЕ  
И ПОМОЩЬ В ПОДГОТОВКЕ РУКОПИСЕЙ  
К ПУБЛИКАЦИИ

# CONTENT

## INTERNAL DISEASES

- 4 IMPACT OF SPRINT TRAINING ON BONE  
HEALTH: A LITERATURE REVIEW  
OF CURRENT EVIDENCE  
*Seveka Bali, Sougata Panda, Amarjeet Singh,  
Sonia Singh*

## CELL BIOLOGY, CITOTOLOGY, HISTOLOGY

- 17 COMPARATIVE ANALYSIS OF ONCOLYTIC  
POTENTIAL OF VESICULAR STOMATITIS VIRUS  
SEROTYPES INDIANA AND NEW JERSEY IN  
CANCER CELL LINES  
*Anastasia S. Isaeva, Natalya O. Porozova,  
Esther Idota, Sofya I. Volodina, Alexander N. Lukashev,  
Alexander S. Malogolovkin*

- 31 MORPHOFUNCTIONAL FEATURES IN MICE  
TREATED BY LOW AND HIGH HSP70 DOSES  
*Gennadii A. Piavchenko, Artem A. Venediktov,  
Egor A. Kuzmin, Sergey L. Kuznetsov*

## MOLECULAR BIOLOGY

- 42 *IN SILICO* PREDICTION OF THE TRANSCRIPTION  
FACTOR-ENHANCER INTERACTION AS A FIRST  
STAGE OF AXONAL GROWTH REGULATION  
*Danil D. Kotelnikov, Ivan A. Sinyakin,  
Evgeny A. Borodin, Tatyana A. Batalova*

## NEUROSURGERY

- 51 SURGICAL TREATMENT OF INTRACRANIAL  
EPITHELIOID HEMANGIOENDOTHELIOMA:  
A CASE REPORT  
*Andrey V. Gavryushin, Danil M. Chelushkin*

## LETTER TO THE EDITOR

- 60 LETTER TO THE EDITOR REGARDING “DRESS  
SYNDROME ON THE BACKGROUND OF ADDING  
MEROPENEM TO CARBAMAZEPINE THERAPY:  
A CLINICAL CASE”  
*Vitorino M. dos Santos, Taciana A. M. Sugai*

## EDITORIAL

- 62 ACKNOWLEDGEMENTS FOR PEER REVIEW  
AND ASSISTANCE IN PREPARING MANUSCRIPTS  
FOR PUBLICATION

## Impact of sprint training on bone health: a literature review of current evidence

Seveka Bali<sup>1</sup>, Sougata Panda<sup>2,✉</sup>, Amarjeet Singh<sup>1</sup>, Sonia Singh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Post Graduate Institute of Medical Education & Research (PGIMER)

Madhya Marg, Sector 12, Chandigarh, 160012, India

<sup>2</sup>Chandigarh University

Gharuan, Mohali, Punjab, 140413, India

<sup>3</sup>Punjabi University

Patiala, Punjab, 147002, India

SECHENOV  
MEDICAL JOURNAL  
GRAPHICAL ABSTRACT



### Impact of sprint training on bone health: a literature review of current evidence

#### Summary

Sprint training has the potential to improve bone health, so athletes and older adults may be encouraged to integrate it into regular training regimens to mitigate age-related bone degeneration



#### Materials and methods

**Study design:**  
analysis of 8 studies according to PRISMA

**Population:**  
941 adults aged from 19 to 94

**Sex:**  
75% men

**Located in:**  
Finland, Italy, Germany, Great Britain, Canada and Australia

#### Outcomes

##### Intervention n=585



sprint training >2 times/week from 8 weeks to 10 years

VS.

##### Comparison n=356



less sprint trained, middle- or long-distance running, age-matched inactive controls



↑ bone mineral density  
↑ diaphyseal cortical area  
↑ polar moment of resistance  
↑ strength strain index  
↓ osteocalcin  
↓ sclerostin  
↓ DKK1



Bali S., Panda S., Singh A., Singh S. Impact of sprint training on bone health: a literature review of current evidence. Sechenov Medical Journal. 2023; 14(4): 4–16. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.4.4-16>

### Abstract

Specific impact of sprint training (ST) on bone health has yet to be fully explored, in particular how it affects bone mineral density (BMD) and bone structure.

**Aim.** To investigate the ST and bone health relationship between athletes of different training intensities and non-athletes of different ages.

**Materials and methods.** A search of databases PubMed, Embase, and Pedro was conducted from January 2009 to August 2023. The full texts of all potentially relevant studies were obtained and evaluated by three independent reviewers for inclusion.

**Results.** The comprehensive review of eight studies indicates a positive influence of ST on bone health. Sprinters show higher cortical and trabecular BMD in the tibia than controls, with a noted age-related decline in BMD. Short-

distance runners demonstrate significantly better BMD, counter-movement jump performance, and grip strength compared to long-distance runners. These benefits are consistent across various age groups, including older athletes, with minimal age-related changes in mid-tibial BMD. ST is also associated with a 21% increase in tibial stress-strain index, indicating sustained bone strength, and a reduction in fracture risk in the elderly through downregulation of fracture-related microRNAs.

**Conclusion.** ST significantly enhances bone health, particularly in improving BMD and bone microarchitecture. Incorporating ST into exercise routines may benefit athletes and older individuals. Further research is essential to understand the mechanisms and develop optimal training protocols for bone health.

**Keywords:** athletes; exercise; osteoporosis; bone density; osteopenia; sports

**MeSH terms:**

RUNNING

EXERCISE

BONE AND BONES

BONE DENSITY

REVIEW

**For citation:** Bali S., Panda S., Singh A., Singh S. Impact of sprint training on bone health: a literature review of current evidence. Sechenov Medical Journal. 2023; 14(4): 4–16. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.4.4-16>

**CONTACT INFORMATION:**

**Sougata Panda**, Assistant Professor, Department of Physiotherapy, Chandigarh University, Mohali, Punjab, India.

**Address:** Gharuan, Mohali, Punjab, 140413, India

**Tel.:** 08116090083

**E-mail:** sougataphysio@gmail.com

**Conflict of interests.** The authors declare that there is no conflict of interests.

**Financial support.** The study was not sponsored (own resources).

**Received:** 21.08.2023

**Accepted:** 05.10.2023

**Date of publication:** 30.11.2023

## Влияние спринтерских тренировок на здоровье костей: обзор литературы

Севека Бали<sup>1</sup>, Сугата Панда<sup>2,✉</sup>, Амарджит Сингх<sup>1</sup>, Соня Сингх<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт последипломного медицинского образования и исследований (PGIMER)

Мадхья Марг, сектор 12, Чандигарх, 160012, Индия

<sup>2</sup>Университет Чандигарх

Гаруан, Мохали, Пенджаб, 140413, Индия

<sup>3</sup>Пенджабский университет

Патиала, Пенджаб, 147002, Индия

### Аннотация

Влияние спринтерских тренировок (СТ) на здоровье костей изучено недостаточно, в особенности воздействие на минеральную плотность костной ткани (МПК) и структуру костей.

**Цель.** Изучить взаимосвязь СТ и здоровья костей среди профессиональных спортсменов, тренирующихся с разной интенсивностью, и спортсменов-любителей разного возраста.

**Материалы и методы.** Поиск по базам данных PubMed, Embase и Pedro проводился с января 2009 по август 2023 г. Были получены полные тексты всех потенциально релевантных исследований и оценены по критериям включения тремя независимыми рецензентами.

**Результаты.** Комплексный обзор восьми исследований указывает на положительное влияние СТ

на здоровье костей. У спринтеров наблюдается более высокая кортикальная и трабекулярная МПК большеберцовой кости, чем в контрольной группе, с возрастным снижением МПК. Спринтеры демонстрируют значительно более высокую МПК, лучший результат в тесте прыжка со встречным движением и большую силу хвата по сравнению с бегунами на длинные дистанции. Эти преимущества СТ были выявлены в разных возрастных группах, включая спортсменов старшего возраста, у которых возрастные изменения МПК средней части большеберцовой кости были минимальными. СТ также связаны с увеличением на 21% индекса напряжения-деформации большеберцовой кости, что указывает на устойчивую прочность костей и снижение риска переломов у пожилых людей за счет подавления микро-РНК, связанных с переломами.

**Заключение.** СТ значительно укрепляют здоровье костей, особенно за счет повышения минеральной плотности кости и улучшения микроархитектуры кости. Включение СТ в программу физической подготовки может принести пользу как спортсменам, так и пожилым людям. Дальнейшие исследования необходимы для понимания механизмов и разработки оптимальных для здоровья костей режимов тренировок.

**Ключевые слова:** спортсмены; тренировки; остеопороз; плотность костной ткани; остеопения; спорт

**Рубрики MeSH:**

БЕГ

ФИЗИЧЕСКАЯ НАГРУЗКА

КОСТЬ И КОСТНЫЕ ТКАНИ

КОСТИ ПЛОТНОСТЬ

ОБЗОР

**Для цитирования:** Бали С., Панда С., Сингх А., Сингх С. Влияние спринтерских тренировок на здоровье костей: обзор литературы. Сеченовский вестник. 2023; 14(4): 4–16. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.4.4-16>

**КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:**

**Панда Сугата**, доцент кафедры физиотерапии Университета Чандигарха, Мохали, Пенджаб, Индия.

**Адрес:** Гаруан, Мохали, Пенджаб, 140413, Индия

**Tel.:** 08116090083

**E-mail:** sougataphysio@gmail.com

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки (собственные ресурсы).

**Поступила:** 21.08.2023

**Принята:** 05.10.2023

**Дата печати:** 30.11.2023

**List of abbreviation:**

ST – Sprint training

SIT – sprint interval training

BMD – bone mineral density

RST – repeated-sprint training

SSI – stress-strain index

miRNAs – micro ribonucleic acids

pQCT – Peripheral Quantitative Computed Tomography

HIGHLIGHTS	КЛЮЧЕВЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ
Sprint training enhances bone density and structure, notably reducing fracture risks in athletes.	Спринтерские тренировки повышают плотность и укрепляют структуру костей, что значительно снижает риск переломов у спортсменов.
Benefits of sprint training span all age groups, effectively countering bone aging effects.	Преимущества спринтерских тренировок распространяются на все возрастные группы, эффективно противодействуя эффектам старения костей.
Enhanced bone health results from mechanical stimuli and hormonal influences due to sprint training.	Улучшение здоровья костей в результате спринтерских тренировок происходит за счет механических воздействий и гормональных влияний.
Compared to long-distance athletes and sedentary individuals, sprinters exhibit superior bone health.	При сравнении с бегунами на длинные дистанции и людьми, ведущими малоподвижный образ жизни, спринтеры демонстрируют лучшее здоровье костей.
Integral for osteoporosis prevention, sprint training is particularly advantageous for older adults.	Включение в комплекс мер по профилактике остеопороза спринтерских тренировок будет особенно полезным для пожилых людей.

Sprint training is crucial in numerous athletic activities, providing a significant competitive benefit in the majority of sports and frequently determining performance success [1, 2]. It requires fast muscular energy release to move an athlete forward at the highest possible speed [3]. Sprint training (ST) that combines running with resistance exercises provides effective osteogenic stimulus for maintaining bone density, especially in lower limbs [2, 4–11]. According to studies conducted on young and older athletes, sprint and power sports offer an efficient osteogenic stimulus that strengthens bones [1, 3, 12–14].

Sprint performance has been extensively evaluated using a range of measurements such as peak, mean, and total power, a velocity test or time trial measurement over a set distance [1, 15, 16]. Depending on the phase an athlete or person is in, ST comprises a variety of interventions and exercise intensities [17]. Compared to aerobic training, sprint interval training (SIT) produces only changes in aerobic fitness and other body composition parameters in premenopausal women [18]. It also helps to improve cardiovascular health in obese people and reduce the inflammatory process in diabetic patients [19, 20]. The possible preventative role of ST against osteoporosis and bone health must be investigated in depth to determine the significance of the same in preventing these disorders.

Regular ST positively affects the density and structure of bone, particularly in older and middle-aged athletes, with direction-specific effects on bone health [5, 7]. Sprinting has the potential to promote bone formation through the application of mechanical stress and the upregulation of growth factors. Sprinters may have longer forefoot bones due to increased mechanical stress during sprinting, although further research is required to establish any correlation with sprint performance [21].

The effects of repeated-sprint training (RST) on bone health are currently unknown, but high-impact

loading from sprinting has been shown to potentially prevent age-related bone loss [6, 22]. Sprinters have been found to have elevated bone density in the hips and spine compared to endurance athletes and non-athletic control [11]. Over time, power athletes (such as those who specialize in jumping and sprinting) appear to better maintain bone mass compared to endurance athletes, prominently in men and regardless of any changes in performance. However, the moment of inertia for a cross-sectional area does not seem to show the same difference between male and female athletes [23].

The impact of ST on bone health is attributed to a combination of factors, incorporating factors such as exercise intensity and loading, individual body dimensions, and hormonal attributes [5]. In addition, ST can make beneficial alterations in muscular activity patterns, leading to efficiency improvements through neural pathways and decreased co-contractions [24]. ST can also increase the activity of the enzyme citrate synthase, which is an indicator of muscle oxidative potential [25].

Although the processes underlying the favorable effects of exercise on skeletal health are not yet entirely known, mechanical stimuli, hormones, cytokines, cell signaling pathways and noncoding RNAs are believed to be contributing factors [26].

Bone responds best to exercise throughout adolescence and reduced physical activity during the later stages of life is a contributing factor to the decline in bone mass commonly associated with aging [27, 28]. Regular strength and ST prevent bone deterioration in adults and provides strong osteogenic stimuli to improve bone characteristics at loaded sites. Stimuli such as compression and fluid shear are crucial for osteoblastic activity and the maintenance of a healthy bone mass and density [29]. Sprint-trained athletes exhibit observable structural adaptations as a thickened cortical loaded area, which is one of the reasons for effective direction-specific bending strength [30].

Hence, the objective of this review is to critically evaluate the current evidence on the impact of sprint training on bone health, including the effects on bone mineral density, bone turnover markers, and fracture risk, to provide a comprehensive analysis of the potential benefits and limitations of this training modality for promoting bone health.

MATERIAL AND METHODS

The methodology for conducting this review was based on the PRISMA 2020 checklist [31].

Eligibility criteria

We adhered to the PICOS framework (Population, Intervention, Comparison, Outcomes, and Study) for the design of this study, as described below [32].

**Population:** Humans of any age, gender, and fitness level who have undergone sprint training.

**Intervention:** Sprint training is defined as a high-intensity exercise protocol that involves short bursts of maximal effort, with or without additional interventions of any duration or frequency.

**Comparison:** Any comparison group, including sedentary individuals, those engaging in other types of physical activity, individuals undergoing no intervention, placebo or any forms of exercise.

**Outcomes:** Bone health, which may be measured using various indicators such as bone mineral density, bone turnover markers or fracture incidence.

**Study design:** Any experimental and observational research designs, such as randomized controlled trials, non-randomized controlled trials, cohort studies, and case-control studies. However, reviews and conference abstracts were excluded from the study.

Literature search

A systematic literature search was done in electronic databases such as PubMed, Embase, Pedro from January 2009 to August 2023. A variety of keywords like sprinting, exercises, bone health and osteoporosis were used for the same.

The details of the search strategy are provided in Table 1.

Study selection

The studies were initially evaluated individually by all four reviewers (SP) (SB) (SS) (AS). All the studies

that fulfilled the inclusion or eligibility criteria were included. The difference of opinion was settled by communication among the four regarding the same. In this study, a meta-analysis was not conducted due to the heterogeneity found among the included studies. The study flow chart is depicted in Figure.

RESULTS

There were 416 studies shortlisted from the databases. After eliminating the duplicates, animal studies and studies that were unrelated to the aim, findings were limited to eight studies. The included studies were carried out in Finland, Italy, Germany, United Kingdom, Canada and Australia. The majority of the research relied on computer tomography to assess the density and other properties of bone.

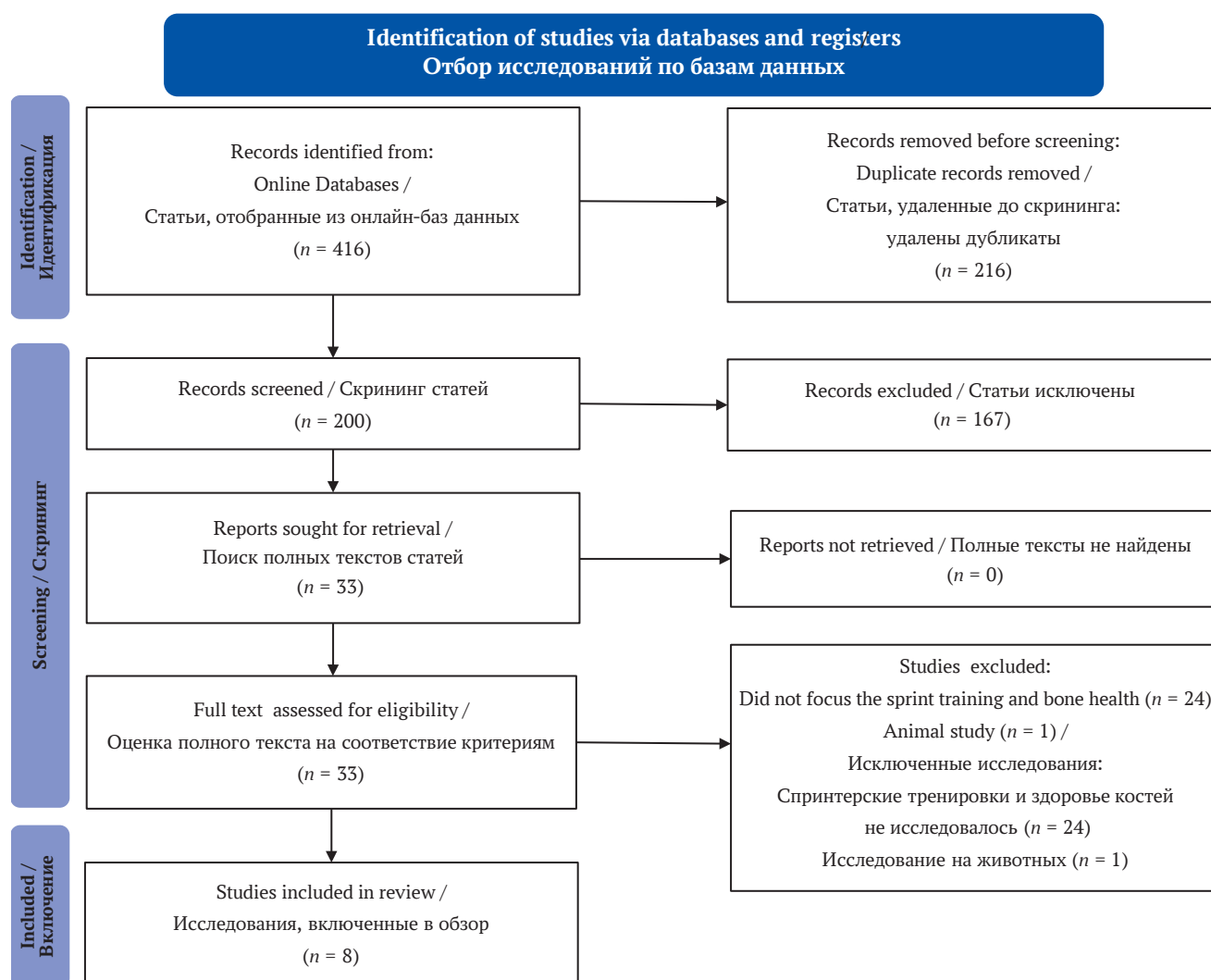
D.C. Wilks et al. (2009), in a cross-sectional study conducted on sprinters, aimed to see if sprinting enables athletes to maintain bone health till old age. The results of tomographic scans of the lower and upper limbs, as well as trabecular bone mineral density (BMD), indicated that athletes generally had higher cortical and trabecular BMD in the tibia than controls at all stages of life ( $p < 0.001$ ). However, these outcomes showed a decline with age [8, 10].

Another work by U. Gast et al. (2013) studied the physical activity's impact on the musculoskeletal and neuromuscular performance of adult athletes supported these findings [3]. They used dual X-ray absorptiometry, single-leg hop, and grip tests as outcome measures to examine the sprinters and long-distance runners. Short-distance runners demonstrated significantly greater BMD ( $p \leq 0.0012$ ), countermovement jumps and grip force ( $p \leq 0.027$ ) compared to long-distance athletes. BMD of athletes was higher than the same-age non-athlete population [3].

Sprinters of different age groups (40–85 years) were examined for bone properties by M.T. Korhonen et al.: bone densitometry and computed tomography values at the distal and mid tibia. BMD at the tibial level was generally greater in athletes than referents ( $p < 0.05$ ), whereas the other bone characteristics assessed were almost similar between the groups ( $p > 0.05$ ). At the mid-tibia no age-related changes in total BMD were observed. The findings suggest that middle-aged and older athletes can benefit from ST, as it has a positive impact on bone strength and structure [5].

Table 1. Search strategy  
Таблица 1. Стратегия поиска

Search terms / Условия поиска	Boolean Operator / Логический Оператор
Sprint training, Sprint, High intensity interval training	OR
Bone and Bones, Bone Density, Bone, Remodeling, Osteoporosis, Bone Regeneration	OR
Athletes, Sports, Exercise	OR
English	AND
2009/01/01–2023/08/31	AND



**FIG.** PRISMA 2020 Flow Diagram.

**РИС.** Блок-схема PRISMA 2020.

A randomized control trial examined 72 men (interventional group  $n = 40$ , control  $n = 32$ ) aged between 40–85 years over 20 weeks ST program. BMD measured by computer tomography revealed that the more consistent athletes (adherence  $>75\%$ ) had better strength and bone density ( $p = 0.007$ ) than the controls included [7]. The results were in accordance with another work which studied effect of ST on 67 athletes aged between 19–84 years. The computed tomographic assessment indicated that sprinters had 21% higher tibial stress-strain index (SSI) ( $p < 0.001$ ) than the controls. No within-group difference was seen in terms of SSI at the fibula ( $p = 0.12$ ). Male sprinters appear to maintain tibial bone strength, more than fibular bone strength, as they age [6].

Fracture risk can be assessed by specific systemic markers and molecules derived from bones e.g. micro ribonucleic acids (miRNAs). V. Sansoni et al. [22] in their randomized control study found that ST for 8 weeks downregulates levels of miRNAs related to fracture risk

( $p < 0.001$ ) and concluded that ST plays an important role in decreasing the risk of fracture in the elderly population.

A longitudinal study of 10 years of follow-up was conducted in Finland, and the researchers assessed the effect of prolonged ST on bone health and aging in 69 male athletes. Densitometric values derived from computer tomography at 10 years of training revealed that well-trained sprinters had better bone properties than less-trained ones ( $p < 0.05$ ). The main effect was seen in lower and mid-tibial trabeculae [30].

All eight researches concluded that ST has positive benefits on bone health and characteristics. Table 2 summarises the characteristics of the study.

## DISCUSSION

This systematic review of the literature uncovered a total of eight research papers that focus on investigating the impacts of ST on individuals categorized as healthy, normal-weight adults, as well as athletes. Subjects

Table 2. Characteristics of included study

#	Author	Year	Sample size & Age	Study design	Participants & Intervention	Outcome measures	Main findings
1	Suominen T.H., et al. [30]	2021	n = 69 (40–85 years)	Longitudinal	Male masters athletes. Group 1 – well-trained, (actively competing, sprint training including strength training >2 times/week), n = 36. Group 2 – less-trained (<2 times/week, no strength training, switched to endurance training), n = 33 Regular strength and sprint training for 10 years	Bone structure, densitometric properties, and strength were measured by pQCT	Group 1: maintaining or enhancing bone characteristics, Group 2: declining bone characteristics. The most significant disparities were observed in the trabecular vBMD at the distal tibia and the BMC at the mid-tibia's posterior part
2	Sanson V., et al. [22]	2018	n = 18 (mean age 24)	Longitudinal	Healthy, physically active male adults. EXP: repeated-sprint training group, n = 9. CTRL: age-matched inactive controls, n = 9 8 weeks repeated-sprint training, 3 times/week	Fracture risk-associated miRNA by PCR (RT-qPCR), serum level of DKK1, sclerostin, osteoprotegerin, osteocalcin, osteopontin	EXP group: after 4 weeks decrease in DKK1 (p < 0.05) and in osteocalcin (p < 0.01); after 8 weeks decrease in sclerostin (p < 0.05) and in expression of circulating miRNA compared to baseline and CTRL
3	Suominen T.H., et al. [7]	2017	n = 72 (40–85 years)	Longitudinal	Male sprint athletes. EXP: a combination of heavy and explosive strength exercises with sprint training, n = 40. CTRL: usual sprint training schedules, n = 32. A 20 weeks program	Tibial bone structure and strength	EXP group: 2.0% increase in ThCO (p = 0.007) compared to CTRL; improvement in total and cortical cross-sectional area ThCO, and area and density-weighted moments of inertia ( $I_{mid}^{min}$ ) ranged from 1.6–3.2% (p = 0.023–0.006); increase BMC at specific sites and decreased vBMD
4	Rantalainen T., et al. [6]	2014	n = 127 (19–39 years & 65–84 years)	Cross-sectional	Men. Habitual sprinters, n = 67. Non-athletic, n = 60	pQCT to measure bone traits at the mid-shaft of the tibia and fibula	Sprinters had 21% greater SSI (p < 0.001); 12% larger ToA of the tibia (p < 0.001), 15% larger CoA of the tibia (p < 0.001), 1% lower adjusted cortical density (p = 0.01), compared to non-athletic
5	Gast U., et al. [3]	2013	n = 178 (mean age 52.6 – 57.5 years)	Cross-sectional	Men athletes and women athletes at the 15th European Masters Championships in Poznań, Poland (2006) Short-distance, n = 50. Middle-distance, n = 19. Long-distance, n = 109	aBMD, lean tissue mass, countermovement jump performance, multiple one-leg hopping, and maximal grip force tests	Older short-distance athletes had significantly higher BMD at key skeletal sites (p < 0.0001 to p < 0.05) and superior neuromuscular performance (p < 0.0001 to p < 0.05) compared to long-distance athletes. Middle-distance athletes showed intermediate results in both BMD and neuromuscular performance compared to the other two groups

Continuation of Table 2

#	Author	Year	Sample size & Age	Study design	Participants & Intervention	Outcome measures	Main findings
6	Korhonen M.T., et al. [5]	2012	n = 102 (31–85 years)	Cross-sectional	Men. Sprinters, n = 83. Physically active referents, n = 19	Bone density, structure, and strength	Sprinters had significantly higher BMC in the distal and midshaft tibia, with increases ranging from 11% to 48% compared to the reference group.  Older sprinters showed reductions in hopping height (ranging from 30.4 ± 4.2 cm in the youngest to 17.0 ± 4.4 cm in the oldest, p < 0.001).  Trabecular vBMD of the distal tibia was 12.3% lower in the oldest athletes compared to the youngest (P < 0.05).  Strong correlations were found between various bone parameters and factors such as performance in sprint and hop tests, muscle characteristics, and hormone levels, with certain variables like average mechanical power in the braking showing a significant correlation with BMC (p < 0.001)
7	Wilks D.C., et al. [10]	2009	n = 375 (35–94 years)	Cross-sectional	Master athletes in World, European, and British Master Athletics Championships between 2004 and 2006.  Sprinters, n = 106.  Middle distance runners, n = 52. Long distance runners, n = 93. Race-walkers, n = 49.  Sedentary controls, n = 75	pQCT measurement of bone mass and geometry	Male and female sprinters had larger periosteal circumferences in their tibia shafts (4% and 8% respectively, p < 0.001) compared to controls.  Sprinters had notably greater trabecular vBMD values (15% for males and 18% for females, p < 0.001) but lower cortical vBMD in the tibia
8	Wilks D., et al. [8]	2009	n = 375 (33–94 years)	Cross-sectional	Master athletes in World, European, and British Master Athletics Championships between 2004 and 2006.  Male master athletes, n = 157. Female master athletes, n = 143.  Sedentary controls, n = 75	Age-dependency of bone mass and geometry	In the tibia, athletes consistently exhibited greater diaphyseal CoA, RPol, and trabecular vBMD across all age groups when compared to controls.  Among athletes, age was negatively correlated with CoA, RPol (in females), and trabecular vBMD, but this correlation was not observed in the control group (p < 0.01).  In contrast, measurements in the radius were similar between athletes and controls across all age groups.  When analyzing the combined data, age showed negative correlations with CoA, RPol (in females), cortical vBMD, and trabecular vBMD (in males; p < 0.005) but positive correlations with endocortical circumference (p < 0.001)

Note: pQCT – Peripheral Quantitative Computed Tomography; vBMD – Volumetric bone mineral density; BMC – Bone mineral content; EXP – experimental; CTRL – control; miRNA – micro ribonucleic acid; PCR – Polymerase chain reaction; RT-qPCR – Reverse transcription quantitative PCR; DKK1 – Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor 1; ThCO – mid-tibial cortical thickness; SSI – strength strain index; ToA – Total Area; CoA – Cortical Area; aBMD – Areal bone mineral density; RPol – polar moment of resistance.

The Russian version of the table is presented in the supplementary materials to the article on the journal's website. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.4.4-16-table>

had better bone characteristics and health than the population who didn't make ST part of their routine. Furthermore, no side effects were observed in all the subjects that were followed. The link between ST and changes in the bone is clearly of worldwide interest, as evidenced by the research evaluated, which came from different countries of the world, so the focus of the study was to assess the available research and find the effect of ST on bone health. Adults between the age group (45–85) and athletes were included to study effects in the different study populations and age groups. All the studies included found a strong significant link between continuous ST and better bone health. Bone properties and characteristics were better in people who underwent ST, and effects were mainly seen in tibia. Bone health decreased with advancing age, but it was always better than sedentary people at any point of time.

ST has demonstrated beneficial effects on bone health and mechanical loading [6, 7, 33]. Sprinting efficiency and mechanical characteristics, such as force-velocity-power profile, have shown improvement with the implementation of resisted ST [33]. For male sprinters who are in their mid-to late life research has shown that a twenty-week program involving high-intensity strength and ST can enhance tibial bone structure and strength [7].

Studies have demonstrated that ST can enhance human muscle oxidative potential and boost their capacity for cycling endurance [25]. The appropriate load for ST, according to studies, is the one that decreases an athlete's velocity by greater than 10% from unloaded sprinting, as it can cause significant alterations in the sprinting method of the athlete [34]. Adding weights to sleds has been employed as a means to enhance sprint acceleration ability, and it has been observed that relatively heavier loads could be more advantageous than lighter loads [35–39]. Overall, ST including resisted ST and heavy sled towing has been shown to positively affect bone health and mechanical loading and might be a practical training strategy for enhancing sprinting performance and bone health.

Body hormones such as estrogen are regulated by physical activity, and the role of these in bone metabolism is a proven fact [40–42]. Physical activity that stimulates estrogen secretion can imitate the effects of hormone replacement therapy and can help osteoporotic menopausal women [43–46]. ST can have a positive impact on bone health by various mechanisms, including hormonal changes. Hormones play a crucial role in bone metabolism, and exercise can affect hormone levels [22]. For instance, a study found that RST for eight weeks increased circulating levels of fracture risk-associated miRNA [22]. A further research study highlighted the positive effects of consistent strength training on the structure and strength of bones in athletes who are middle-aged and above. Furthermore, the investigation highlighted that exercise loading, body

size, and hormonal characteristics play a significant role in determining the variations in bone traits among individuals [5]. In addition, a study revealed that the various types of sprint interval sessions could impact the balance of anabolic and catabolic hormones as well as circulating inflammatory cytokines [47]. Therefore, it can be concluded that ST can have beneficial effects on bone health by hormonal changes.

Signaling mechanisms such as Wnt/-catenin, Bone morphogenetic proteins (BMP), osteoprotegerin (OPG)/receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) govern bone metabolism, and exercise can stimulate numerous signaling pathways to influence osteoblastic and osteoclastic activity [26, 48–50]. Noncoding RNAs, including small interfering RNAs (siRNAs), miRNAs, long intervening/intergenic noncoding RNAs (lincRNAs), and circular RNAs (CircRNAs) also have a significant impact on how bone metabolism is regulated by stimulating bone cells [51].

Studies have demonstrated that sprinting can enhance muscle health by activating serine-threonine kinase and promoting protein synthesis and muscle activity, additionally, SIT has been found to increase muscle oxidative potential, cycle endurance capacity and glycogen content in humans [25, 51–54]. ST induces metabolic and morphological changes in muscles: it has also been shown to increase muscle Na<sup>(+)</sup>-K<sup>(+)</sup>-ATPase concentration, which improves K<sup>+</sup> regulation [55], to improve peak performance by 25% [56] and reduce oxidative stress while enhancing antioxidant defense in skeletal muscle and heart [57]. According to A. Ross and M. Leveritt (2001), enzyme adaptations are a significant metabolic adaptation to ST, with the enzymes of all three energy systems (phosphate metabolism, glycolysis, aerobic system) exhibiting indicators of training adaptation [17]. Sprint exercise can result in oxidative stress and muscle damage; however, training decreases oxidative stress even more so when exercise is done in severe acute hypoxia [58]. According to D. Morales-Alamo et al. (2014) and M. Esbjörnsson et al. (2009), female individuals exhibit a more pronounced serum growth hormone and insulin response to sprint exercise. This finding may provide a potential explanation for the previously observed phenomenon of greater muscle hypertrophy in women following ST [59, 60]. R. Aaserud et al. (1998) conducted a study that revealed that consuming creatine supplements could effectively delay fatigue onset during repeated sprint running bouts [31]. These findings suggest that sprinting can be a valuable exercise for promoting muscle health.

Several studies also that measured bone strength revealed that sprint-trained athletes had greater bone strength than their active counterparts [4, 8–10]. Another review by M. Sloth et al. strongly supported the claim that exercise performance, VO<sub>2</sub> max, and aerobic capacity increase following sprinting. Our work expands previous

findings by demonstrating that not only strength but also bone characteristics are more pronounced in sprinters than in others [53].

The study by M. Sloth et al. on the role of exercise in preventing osteosarcopenia indicated that the best defense against the disease is exercise in conjunction with lifestyle change; however, the exact type, frequency, and intensity of exercise must be explored further [53].

Most of the research included in this review used computer tomography and bone densitometry as an outcome measure to assess bone density and other characteristics, whereas one study used Dual X-ray absorptiometry, one-leg hopping, and maximal grip force tests [3]. Different categories of athletes were also assessed separately, and effects were in favor of ST in all the categories.

In addition to peripheral quantitative computer topographic measures, fasting hormonal measurements of blood concentrations of total testosterone, total estradiol, and sex hormone-binding globulin were also obtained. No substantial Harmonic differences were observed amongst athletes of different ages [5]. Another author, M.C. Rumpf et al. investigated the type of ST and concluded that all types of training (specific, non-specific, and combination) have a good impact on the performance of athletes [61].

The type of ST and their effects separately should be examined in future research to guarantee that the

findings can be more precise. Other variations such as body type, past accidents or musculoskeletal issues, lifestyle, life situations, living habits and other stresses might all have an impact on bone health, which were not ruled out in the studies included. Further research with larger sample sizes and specific types of ST is necessary to advance the literature on the variables involved and to comprehensively understand the underlying mechanisms and develop optimal training protocols for maximizing bone health benefits.

The limitation of the study was its focus on descriptive overviews written only in English.

## CONCLUSION

Sprint Training (ST) offers notable potential in bolstering bone health, as evidenced by mechanisms such as force stimuli and hormonal effects. The enhancement of BMD, improved bone microarchitecture, and favorable enzyme adaptations underscore the potential efficacy of ST in reducing fracture risks among the elderly. It is paramount to adhere to well-structured training protocols to ensure maximum benefits. The implications of these findings are particularly salient for populations susceptible to osteoporosis. Consequently, integrating ST into regular exercise regimens is recommended for athletes and seniors to mitigate age-associated bone degeneration.

## AUTHOR CONTRIBUTION

Seveka Bali and Sougata Panda participated in the development of the article concept, performed the search, analysis, and systematization of literature on the topic of the review and wrote a significant part of the text. Amarjeet Singh and Sonia Singh prepared the introduction and conclusion and finalized the text of the manuscript. Amarjeet Singh developed the general concept of the article and supervised its writing. All authors approved the final version of the article.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Севека Бали и Сугата Панда участвовали в разработке концепции статьи, выполнили поиск, анализ и систематизацию литературы по теме обзора и написали значительную часть текста. Амарджит Сингх и Соня Сингх подготовили введение и заключение, а также доработали текст рукописи. Амарджит Сингх разработал общую концепцию статьи и руководил ее написанием. Все авторы одобрили окончательную версию статьи.

## REFERENCES

1. Faude O., Koch T., Meyer T. Straight sprinting is the most frequent action in goal situations in professional football. *J Sports Sci.* 2012; 30(7): 625–631. <https://doi.org/10.1080/02640414.2012.665940>. Epub 2012 Mar 6. PMID: 22394328
2. Nowak A., Straburzyńska-Lupa A., Kusy K., et al. Bone mineral density and bone turnover in male masters athletes aged 40–64. *Aging Male.* 2010 Jun; 13(2): 133–141. <https://doi.org/10.3109/13685531003657776>. PMID: 20210695
3. Gast U., Belavý D.L., Armbrrecht G., et al. Bone density and neuromuscular function in older competitive athletes depend on running distance. *Osteoporos Int.* 2013 Jul; 24(7): 2033–2042. <https://doi.org/10.1007/s00198-012-2234-0>. PMID: 23242430
4. Welch J.M., Rosen C.J. Older women track and field athletes have enhanced calcaneal stiffness. *Osteoporos Int.* 2005 Aug; 16(8): 871–878. <https://doi.org/10.1007/S00198-004-1769-0>. PMID: 15592922
5. Korhonen M.T., Heinonen A., Siekkinen J., et al. Bone density, structure and strength, and their determinants in aging sprint athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2012 Dec; 44(12): 2340–2349. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e318267c954>. PMID: 22776884
6. Rantalainen T., Duckham R.L., Suominen H., et al. Tibial and fibular mid-shaft bone traits in young and older sprinters and non-athletic men. *Calcif Tissue Int.* 2014 Aug; 95(2): 132–140. <https://doi.org/10.1007/s00223-014-9881-4>. PMID: 24925060
7. Suominen T.H., Korhonen M.T., Alén, M., et al. Effects of a 20-week high-intensity strength and sprint training program on tibial bone structure and strength in middle-aged and older male sprint athletes: a randomized controlled trial. *Osteoporos Int.* 2017 Sep; 28(9): 2663–2673. <https://doi.org/10.1007/s00198-017-4107-z>. PMID: 28623425
8. Wilks D.C., Winwood K., Gilliver S.F., et al. Age-dependency in bone mass and geometry: a pQCT study on male and female master sprinters, middle and long distance runners, race-walkers and sedentary people. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2009 Oct-Dec; 9(4): 236–246. PMID: 19949281
9. Wilks D.C., Gilliver S.F., Rittweger J. Forearm and tibial bone measures of distance- and sprint-trained master cyclists. *Med Sci Sports Exerc.* 2009 Mar; 41(3): 566–573. <https://doi.org/10.1249/MSS.0B013E31818A0EC8>. PMID: 19204595

10. Wilks D.C., Winwood K., Gilliver S.F., et al. Bone mass and geometry of the tibia and the radius of master sprinters, middle and long distance runners, race-walkers and sedentary control participants: A pQCT study. *Bone*. 2009 Jul; 45(1): 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2009.03.660>. PMID: 19332164; PMCID: PMC2832729
11. Piasecki J., McPhee J.S., Hannam K., et al. Hip and spine bone mineral density are greater in master sprinters, but not endurance runners compared with non-athletic controls. *Arch Osteoporos*. 2018 Jul; 13(1): 72. <https://doi.org/10.1007/S11657-018-0486-9>. PMID: 29971503; PMCID: PMC6028830
12. Heinonen A., Oja P., Kannus P., et al. Bone mineral density in female athletes representing sports with different loading characteristics of the skeleton. *Bone*. 1995 Sep; 17(3): 197–203. [https://doi.org/10.1016/8756-3282\(95\)00151-3](https://doi.org/10.1016/8756-3282(95)00151-3). PMID: 8541131
13. Heinonen A., Sievänen H., Kyröläinen H., et al. Mineral mass, size, and estimated mechanical strength of triple jumpers' lower limb. *Bone*. 2001 Sep; 29(3): 279–285. [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(01\)00574-9](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(01)00574-9). PMID: 11557373
14. Bennell K.L., Malcolm S.A., Khan K.M., et al. Bone mass and bone turnover in power athletes, endurance athletes, and controls: a 12-month longitudinal study. *Bone*. 1997 May; 20(5): 477–484. [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(97\)00026-4](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(97)00026-4). PMID: 9145246
15. Rienzi E., Drust B., Reilly T., et al. Investigation of anthropometric and work-rate profiles of elite South American international soccer players. *J Sports Med Phys Fitness*. 2000 Jun; 40(2): 162–169. PMID: 11034438
16. Gómez J.J.H., Marquina V., Gómez R.W. On the performance of Usain Bolt in the 100 metre sprint. *Eur J Phys*. 2013 May; 34(5): 1227–1233. <https://doi.org/10.1088/0143-0807/34/5/1227>
17. Ross A., Leveritt M. Long-term metabolic and skeletal muscle adaptations to short-sprint training: implications for sprint training and tapering. *Sports Med*. 2001; 31(15): 1063–1082. <https://doi.org/10.2165/00007256-200131150-00003>. PMID: 11735686
18. Talanian J.L., Galloway S.D.R., Heigenhauser G.J.F., et al. Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. *J Appl Physiol*. (1985) 2007 Apr; 102(4): 1439–1447. <https://doi.org/10.1152/jap-physiol.01098.2006>. PMID: 17170203
19. Trilk J.L., Singhal A., Bigelman K.A., Cureton K.J. Effect of sprint interval training on circulatory function during exercise in sedentary, overweight/obese women. *Eur J Appl Physiol*. 2011 Aug; 111(8): 1591–1597. <https://doi.org/10.1007/S00421-010-1777-Z>. Epub 2010 Dec 29. PMID: 21190036
20. Zamanpour L., Banitalebi E., Amirhosseini S.E. The effect of sprint training and combined aerobic and strength training on some inflammatory markers and insulin resistance in women with diabetes mellitus (T2dm). *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2016; 15(5): 300–311.
21. Tanaka T., Suga T., Otsuka M., et al. Relationship between the length of the forefoot bones and performance in male sprinters. *Scand J Med Sci Sports*. 2017 Dec; 27(12): 1673–1680. <https://doi.org/10.1111/sms.12857>. Epub 2017 Mar 23. PMID: 28207966
22. Sansoni V., Perego S., Vernillo G., et al. Effects of repeated sprints training on fracture risk-associated miRNA. *Oncotarget*. 2018 Apr; 9(26): 18029–18040. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24707>. PMID: 29719588
23. Ireland A., Mittag U., Degens H., et al. Greater maintenance of bone mineral content in male than female athletes and in sprinting and jumping than endurance athletes: a longitudinal study of bone strength in elite masters athletes. *Arch Osteoporos*. 2020 Dec; 15(1): 87. <https://doi.org/10.1007/S11657-020-00757-W>. PMID: 32524289. PMCID: PMC7286845
24. Taylor J., Macpherson T., Spears I., Weston M. The effects of repeated-sprint training on field-based fitness measures: a meta-analysis of controlled and non-controlled trials. *Sports Medicine*. 2015 Jun; 45(6): 881–891. <https://doi.org/10.1007/S40279-015-0324-9>. PMID: 25790793
25. Burgomaster K.A., Hughes S.C., Heigenhauser G.J., et al. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *J Appl Physiol*. (1985). 2005 Jun; 98(6): 1985–1990. <https://doi.org/10.1152/jap-physiol.01095.2004>. Epub 2005 Feb 10. PMID: 15705728
26. Tong X., Chen X., Zhang S., et al. The effect of exercise on the prevention of osteoporosis and bone angiogenesis. *Biomed Res Int*. 2019 Apr; 2019: 8171897. <https://doi.org/10.1155/2019/8171897>. PMID: 31139653; PMCID: PMC6500645
27. Hannam K., Deere K.C., Hartley A., et al. A novel accelerometer-based method to describe day-to-day exposure to potentially osteogenic vertical impacts in older adults: findings from a multi-cohort study. *Osteoporos Int*. Mar. 2017; 28(3): 1001–1011. <https://doi.org/10.1007/S00198-016-3810-5>. Epub 2016 Oct 31. PMID: 27798733; PMCID: PMC5306163
28. Tanaka H., Tarumi T., Rittweger J. Aging and physiological lessons from master athletes. *Compr Physiol*. 2019 Dec; 10(1): 261–296. <https://doi.org/10.1002/cphy.c180041>. PMID: 31853968
29. Klein-Nulend J., Bacabac R.G., Bakker A.D. Mechanical loading and how it affects bone cells: the role of the osteocyte cytoskeleton in maintaining our skeleton. *Eur Cell Mater*. 2012; 24: 278–291. <https://doi.org/10.22203/ecm.v024a20>. PMID: 23007912
30. Suominen T.H., Alen M., Törmäkangas T., et al. Regular strength and sprint training counteracts bone aging: A 10-year follow-up in male masters athletes. *JBM Plus*. 2021 May; 5(7): e10513. <https://doi.org/10.1002/jbm4.10513>. PMID: 34258508. PMCID: PMC8260815
31. Aaserud R., Gramvik P., Olsen S.R., Jensen J. Creatine supplementation delays onset of fatigue during repeated bouts of sprint running. *Scand J Med Sci Sports*. 1998; 8(5, Pt 1): 247–251. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.1998.tb00478.x>. PMID: 9809381
32. Amir-Behghadami M., Janati A. Population, Intervention, Comparison, Outcomes and Study (PICOS) design as a framework to formulate eligibility criteria in systematic reviews. *Emerg Med J*. 2020 Jun; 37(6): 387. <https://doi.org/10.1136/emered-2020-209567>. Epub 2020 Apr 5. PMID: 32253195
33. Page M.J., McKenzie J.E., Bossuyt P.M., et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021 Mar; 29; 372: n71. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>. PMID: 33782057; PMCID: PMC8005924
34. Cross M.R., Lahti J., Brown S.R., et al. Training at maximal power in resisted sprinting: Optimal load determination methodology and pilot results in team sport athletes. *PLoS One*. 2018 Apr; 13(4): e0195477. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195477>. PMID: 29641589; PMCID: PMC5895020
35. Bachero-Mena B., González-Badillo J.J. Effects of resisted sprint training on acceleration with three different loads accounting for 5, 12.5, and 20% of body mass. *J Strength Cond Res*. 2014 Oct; 28(10): 2954–2960. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000000492>. PMID: 24736770
36. Bentley I., Sinclair J.K., Atkins S.J., et al. Effect of velocity-based loading on acceleration kinetics and kinematics during sled

- towing. *J Strength Cond Res.* 2021 Apr; 35(4): 1030–1038. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002850>. PMID: 30299389
37. Kawamori N., Newton R.U., Hori N., Nosaka K. Effects of weighted sled towing with heavy versus light load on sprint acceleration ability. *J Strength Cond Res.* 2014 Oct; 28(10): 2738–2745. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3182915ed4>. PMID: 23539079
  38. Cochrane D.J., Monaghan D. Using sprint velocity decrement to enhance acute sprint performance. *J Strength Cond Res.* 2021 Feb; 35(2): 442–448. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002707>. PMID: 29927891
  39. Zisi M., Stavridis I., Agilara G.O., et al. The acute effects of heavy sled towing on acceleration performance and sprint mechanical and kinematic characteristics. *Sports.* 2022 May; 10 (5): 77. <https://doi.org/10.3390/sports10050077>. PMID: 35622486; PMCID: PMC9146810
  40. Edwards T., Piggott B., Banyard H.G., et al. The effect of a heavy resisted sled-pull mesocycle on sprint performance in junior Australian football players. *J Strength Cond Res.* 2023 Feb; 37(2): 388–393. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000004269>
  41. Bemben D.A., Fettes N.L. The independent and additive effects of exercise training and estrogen on bone metabolism. *Journal of Strength and Conditioning Research.* 2000; 14(1): 114–120.
  42. De Souza M.J., West S.L., Jamal S.A., et al. The presence of both an energy deficiency and estrogen deficiency exacerbate alterations of bone metabolism in exercising women. *Bone.* 2008 Jul; 43(1): 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2008.03.013>. Epub 2008 Apr 8. PMID: 18486582
  43. Xiao C.M., Kang Y., Zhuang Y.C. Effects of elastic resistance band exercise on postural balance, estrogen, bone metabolism index, and muscle strength of perimenopausal period women. *J Am Geriatr Soc.* 2016 Jun; 64(6): 1368–1370. <https://doi.org/10.1111/jgs.14172>. PMID: 27321627
  44. Gennari L., Merlotti D., Nuti R. Selective estrogen receptor modulator (SERM) for the treatment of osteoporosis in postmenopausal women: focus on lasofoxifene. *Clin Interv Aging.* 2010 Feb; 5: 19–29. <https://doi.org/10.2147/cia.s6083>. PMID: 20169039; PMCID: PMC2817938
  45. Krum S.A. Direct transcriptional targets of sex steroid hormones in bone. *J Cell Biochem.* 2011 Feb; 112(2): 401–408. <https://doi.org/10.1002/jcb.22970>. PMID: 21268060; PMCID: PMC3070194
  46. Guerrini M.M., Takayanagi H. The immune system, bone and RANKL. *Arch Biochem Biophys.* 2014 Nov; 561: 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.06.003>. Epub 2014 Jun 12. PMID: 24929185
  47. Gardinier J.D., Mohamed F., Kohn D.H. PTH signaling during exercise contributes to bone adaptation. *J Bone Miner Res.* 2015 Jun; 30(6): 1053–1063. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2432>. PMID: 25529455; PMCID: PMC4734644
  48. Meckel Y., Nemet D., Bar-Sela S., et al. Hormonal and inflammatory responses to different types of sprint interval training. *J Strength Cond Res.* 2011 Aug; 25(8): 2161–2169. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181dc4571>. PMID: 21785293
  49. Zhu L., Xu P.C. Downregulated lncRNA-ANCR promotes osteoblast differentiation by targeting EZH2 and regulating Runx2 expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Mar; 432(4): 612–617. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.02.036>. Epub 2013 Feb 21. PMID: 23438432
  50. Huang Y., Zheng Y., Jia L., Li W. Long noncoding RNA H19 promotes osteoblast differentiation Via TGF- $\beta$ 1/Smad3/HDAC signaling pathway by deriving miR-675. *Stem Cells.* 2015 Dec; 33(12): 3481–3492. <https://doi.org/10.1002/stem.2225>. Epub 2015 Oct 23. PMID: 26417995
  51. Zuo B., Zhu J., Li J., et al. microRNA-103a functions as a mechanosensitive microRNA to inhibit bone formation through targeting Runx2. *J Bone Miner Res.* 2015 Feb; 30(2): 330–345. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2352>. PMID: 25195535
  52. Yuan Y., Zhang L., Tong X., et al. Mechanical stress regulates bone metabolism through microRNAs. *J Cell Physiol.* 2017 Jun; 232(6): 1239–1245. <https://doi.org/10.1002/jcp.25688>. Epub 2016 Nov 28. PMID: 27861865
  53. Sloth M., Sloth D., Overgaard K., Dalgas U. Effects of sprint interval training on VO<sub>2</sub>max and aerobic exercise performance: A systematic review and meta-analysis. *Scand J Med Sci Sports.* 2013 Dec; 23(6): e341–352. <https://doi.org/10.1111/sms.12092>. Epub 2013 Jul 25. PMID: 23889316
  54. Goodman C.A., Hornberger T.A., Robling A.G. Bone and skeletal muscle: Key players in mechanotransduction and potential overlapping mechanisms. *Bone.* 2015 Nov; 80: 24–36. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.04.014>. PMID: 26453495; PMCID: PMC4600534
  55. Cariati I., Bonanni R., Onorato F., et al. Role of physical activity in bone–muscle crosstalk: biological aspects and clinical implications. *J. Funct. Morphol. Kinesiol.* 2021 Jun; 6(2): 55. <https://doi.org/10.3390/jfmk6020055>. PMID: 34205747; PMCID: PMC8293201
  56. McKenna M.J., Schmidt T.A., Hargreaves M., et al. Sprint training increases human skeletal muscle Na<sup>+</sup>-K-ATPase concentration and improves K<sup>+</sup> regulation. *J Appl Physiol.* 1993 Jul; 75(1): 173–180. <https://doi.org/10.1152/jappl.1993.75.1.173>. PMID: 8397176
  57. Atalay M., Seene T., Hänninen O., et al. Skeletal muscle and heart antioxidant defences in response to sprint training. *Acta Physiol Scand.* 1996 Oct; 158(2): 129–134. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.1996.540305000.x>. PMID: 8899059
  58. Linossier M.T., Denis C., Dormois D., et al. Ergometric and metabolic adaptation to a 5-s sprint training programme. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1993; 67(5): 408–414. <https://doi.org/10.1007/BF00376456>. PMID: 8299612
  59. Morales-Alamo D., Calbet J.A. Free radicals and sprint exercise in humans. *Free Radic Res.* 2014 Jan; 48(1): 30–42. <https://doi.org/10.3109/10715762.2013.825043>. Epub 2013 Oct 7. PMID: 23879691
  60. Esbjörnsson M., Norman B., Suchdev S., et al. Greater growth hormone and insulin response in women than in men during repeated bouts of sprint exercise. *Acta Physiologica.* 2009 Oct; 197(2): 107–115. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2009.01994.x>. Epub 2009 Apr 27. PMID: 19432586
  61. Rumpf M.C., Lockie R.G., Cronin J.B., Jalilvand F. Effect of different sprint training methods on sprint performance over various distances: a brief review. *J Strength Cond Res.* 2016 Jun; 30(6): 1767–1785. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000001245>. PMID: 26492101

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS / ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Seveka Bali**, Physiotherapist, Department of Physical & Rehabilitation Medicine, Post Graduate Institute of Medical Education & Research (PGIMER), Chandigarh, India.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4447-4844>

**Sougata Panda**✉, Assistant Professor, Department of Physiotherapy, Chandigarh University, Mohali, Punjab, India.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5979-3565>

**Amarjeet Singh**, Professor, Head of the Department of Community Medicine, and School of Public Health, Post Graduate Institute of Medical Education & Research (PGIMER), Chandigarh, India.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0978-0907>

**Sonia Singh**, Assistant Professor, Head of the Department of Physiotherapy, Punjabi University, Patiala, India.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-6335-9173>

**Бали Севека**, физиотерапевт, кафедра физической и реабилитационной медицины Института последипломного медицинского образования и исследований (PGIMER), Чандигарх, Индия.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4447-4844>

**Панда Сугата**✉, доцент кафедры физиотерапии Университета Чандигарха, Мохали, Пенджаб, Индия.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5979-3565>

**Сингх Амарджит**, профессор, заведующий кафедрой общественной медицины и Школы общественного здравоохранения Института последипломного медицинского образования и исследований (PGIMER), Чандигарх, Индия.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0978-0907>

**Сингх Соня**, доцент, заведующая кафедрой физиотерапии Пенджабского университета, Патиала, Индия.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-6335-9173>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Оригинальная статья / Original article

УДК 616-006-085.277.3.012.6

<https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.946.14>

## Сравнительный анализ цитолитического потенциала вируса везикулярного стоматита серотипов Indiana и New Jersey в отношении опухолевых клеточных линий

А.С. Исаева, Н.О. Порозова, Э. Идота, С.И. Володина, А.Н. Лукашев, А.С. Малооголовкин✉

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет

им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, г. Москва, 119048, Россия

### Аннотация

**Цель.** Провести сравнительный анализ эффективности лизиса раковых клеток и кинетику накопления двумя серотипами вируса везикулярного стоматита Indiana (VSV-IND) и New Jersey (VSV-NJ) на клеточных линиях меланомы мыши B16F10, гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 и аденокарциномы молочной железы человека MCF7.

**Материалы и методы.** Была оценена жизнеспособность клеточных линий меланомы мыши B16F10, гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 и аденокарциномы молочной железы человека MCF7, инфицированных вирусами VSV-IND и VSV-NJ при разной множественности заражения (Multiplicity of infection, MOI) (10 MOI; 1 MOI; 0,1 MOI), через 24, 48 и 72 часа, а также вычислены значения половины максимальной ингибирующей концентрации (IC50) с помощью метил-тетразолиевого теста. Взаимосвязь с накоплением вируса в клеточной культуре определяли с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени, 50%-ные инфицирующие дозы (TCID50) VSV-IND и VSV-NJ для B16F10, HepG2, MCF7 рассчитывали с помощью метода Рида – Менча.

**Результаты.** Наиболее восприимчивой клеточной линией для обоих вирусов оказалась B16F10: жизнеспособность клеток через 72 часа после заражения 10 MOI составила лишь 10,4 и 5,7% для VSV-IND и VSV-NJ соответственно. Жизнеспособность клеток HepG2 составила 10,8 и 9,8% для VSV-IND и VSV-NJ, а для аденокарциномы MCF7 – 46,6 и 36,2% соответственно через 72 часа после заражения 10 MOI. При этом лишь в культуре B16F10 установлена положительная статистически значимая корреляция средней силы между ингибированием жизнеспособности клеток и накоплением вирусной РНК: для VSV-IND  $r = 0,601$  ( $p < 0,05$ ); для VSV-NJ  $r = 0,668$  ( $p < 0,05$ ). HepG2 и MCF7 не продемонстрировали значимой корреляции.

**Заключение.** Результаты исследований свидетельствуют о возможности использования серотипов VSV-IND и VSV-NJ в качестве платформы для разработки новых рекомбинантных вирусов для виротерапии солидных опухолей в комбинации с другими видами лечения.

**Ключевые слова:** иммунотерапия; вирусные векторы; онколитики; вирусы животных; цитопатическое действие; полимеразная цепная реакция

### Рубрики MeSH:

КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ – ВИРУСОЛОГИЯ

КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ – ИММУНОЛОГИЯ

КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ – ДЕЙСТВИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ВИРУСОТЕРАПИЯ – МЕТОДЫ

ВЕЗИКУЛЯРНОГО СТОМАТИТА ИНДИАНА ВИРУС – ИММУНОЛОГИЯ

ВЕЗИКУЛЯРНОГО СТОМАТИТА ИНДИАНА ВИРУС – ПАТОГЕННОСТЬ

ВЕЗИКУЛЯРНОГО СТОМАТИТА НЬЮ-ДЖЕРСИ ВИРУС – ИММУНОЛОГИЯ

ВЕЗИКУЛЯРНОГО СТОМАТИТА НЬЮ-ДЖЕРСИ ВИРУС – ПАТОГЕННОСТЬ

ЛЕКАРСТВА СОЗДАНИЕ

**Для цитирования:** Исаева А.С., Порозова Н.О., Идота Э., Володина С.И., Лукашев А.Н., Малоголовкин А.С. Сравнительный анализ цитолитического потенциала вируса везикулярного стоматита серотипов Indiana и New Jersey в отношении опухолевых клеточных линий. Сеченовский вестник. 2023; 14(4): 17–30. Публикация онлайн 29.11.2023. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.946.14>

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

**Малоголовкин Александр Сергеевич**, канд. биол. наук, зав. лабораторией молекулярной вирусологии Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет)

**Адрес:** ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, г. Москва, 119048, Россия

**Тел.:** +7 (919) 000-89-02

**E-mail:** malogolovkin\_a\_s@staff.sechenov.ru

**Соответствие принципам этики.** Данное исследование с использованием биологического материала проводилось исключительно в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения биомедицинских исследований.

**Доступ к данным исследования.** Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у авторов по обоснованному запросу.

Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала – сертифицированным специалистом по биостатистике.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке Программы академического лидерства «Приоритет-2030» ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет).

**Поступила:** 24.08.2023

**Принята:** 09.10.2023

**Дата публикации онлайн:** 29.11.2023

**Дата печати:** 30.11.2023

## Comparative analysis of oncolytic potential of vesicular stomatitis virus serotypes Indiana and New Jersey in cancer cell lines

Anastasia S. Isaeva, Natalya O. Porozova, Esther Idota, Sofya I. Volodina,  
Alexander N. Lukashev, Alexander S. Malogolovkin✉

Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia

#### Abstract

**Aim.** Compare the lytic efficiency and the kinetics of accumulation of vesicular stomatitis virus serotypes Indiana (VSV-IND) and New Jersey (VSV-NJ) on cell lines of mouse melanoma B16F10, human hepatocellular carcinoma HepG2 and human mammary adenocarcinoma MCF7.

**Materials and methods.** The viability of mouse melanoma B16F10, human hepatocellular carcinoma HepG2 and human mammary adenocarcinoma MCF7 cell lines infected with VSV-IND and VSV-NJ viruses at different multiplicity of infection (10 MOI; 1 MOI; 0.1 MOI) was assessed after 24, 48 and 72 hours, and the half maximal inhibitory concentration (IC50) values were measured using the methyl tetrazolium test. The relationship with virus accumulation in cell culture was determined using reverse transcription – quantitative polymerase chain reaction; 50% tissue culture infectious dose (TCID50) of VSV-IND and VSV-NJ for B16F10, HepG2, MCF7 were calculated using the Reed-Muench method.

**Results.** The most susceptible cell line for both viruses was B16F10: cell viability 72 hours after infection at 10 MOI was only 10.4% and 5.7% for VSV-IND and VSV-NJ, respectively. HepG2 cell viability at 72 hours post-infection at 10 MOI was 10.8% and 9.8% for VSV-IND and VSV-NJ, and for MCF7 adenocarcinoma it was 46.6% and 36.2%, respectively. Moreover, only in the B16F10 culture was a positive statistically significant correlation of medium strength established between the inhibition of cell viability and the accumulation of viral RNA: for VSV-IND  $r = 0.601$  ( $p < 0.05$ ); for VSV-NJ  $r = 0.668$  ( $p < 0.05$ ). HepG2 and MCF7 showed no significant correlation.

**Conclusion.** The research results indicate the potential of using oncolytic viruses of the VSV-IND and VSV-NJ as a platform for the development of new recombinant viruses for virotherapy of solid tumors in combination with other types of treatment.

**Keywords:** immunotherapy; viral vectors; oncolytics; animal viruses; cytopathic effect; polymerase chain reaction

**MeSH terms:**

CELL LINE, TUMOR – VIROLOGY  
CELL LINE, TUMOR – IMMUNOLOGY  
CELL LINE, TUMOR – DRUG EFFECTS  
ONCOLYTIC VIROTHERAPY – METHODS  
VESICULAR STOMATITIS INDIANA VIRUS – IMMUNOLOGY  
VESICULAR STOMATITIS INDIANA VIRUS – PATHOGENICITY  
VESICULAR STOMATITIS NEW JERSEY VIRUS – IMMUNOLOGY  
VESICULAR STOMATITIS NEW JERSEY VIRUS – PATHOGENICITY  
DRUG DESIGN

**For citation:** Isaeva A.S., Porozova N.O., Idota E., Volodina S.I., Lukashev A.N., Malogolovkin A.S. Comparative analysis of oncolytic potential of vesicular stomatitis virus serotypes Indiana and New Jersey in cancer cell lines. *Sechenov Medical Journal*. 2023; 14(4): 17–30. Epub ahead of print 29.11.2023. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.946.14>

**CONTACT INFORMATION:**

**Alexander S. Malogolovkin**, Cand. of Sci. (Biology), Head of Laboratory of Molecular Virology, Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-borne Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

**Address:** 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia

**Tel.:** +7 (919) 000-89-02

**E-mail:** malogolovkin\_a\_s@staff.sechenov.ru

**Ethics statements.** This research involving biological material was conducted solely in accordance with the World Medical Association's Declaration of Helsinki on ethical principles for medical research.

**Data availability.** The data that support the findings of this study are available from the corresponding authors on reasonable request. Data and statistical methods used in the article were examined by a professional biostatistician on the Sechenov Medical Journal editorial staff.

**Conflict of interests.** The authors declare that there is no conflict of interests.

**Financial support.** The research was supported by the Priority 2030 academic leadership program, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

**Received:** 24.08.2023

**Accepted:** 09.10.2023

**Date of publication online:** 29.11.2023

**Date of publication:** 30.11.2023

**Список сокращений**

ATCC – American Type Culture Collection, Американская коллекция типовых культур

IC50 – Half maximal inhibitory concentration, половина максимальной ингибирующей концентрации

RT-qPCR – real-time reverse transcription – quantitative polymerase chain reaction, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени

MOI – Multiplicity of infection, множественность заражения

TCID50 – 50% Tissue Culture Infectious Dose, 50%-ная инфицирующая доза вируса

VSV – Vesicular stomatitis virus, вирус везикулярного стоматита

VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana, вирус везикулярного стоматита серотип Indiana

VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey, вирус везикулярного стоматита серотип New Jersey

ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома

МТТ – метил-тетразолиевый тест

РМЖ – рак молочной железы

Несмотря на прогресс в изучении молекулярных процессов онкогенеза, смертность от рака в мире (9,3 млн случаев в год) остается на втором месте после сердечно-сосудистых заболеваний (17,2 млн случаев в год) в структуре смертности от неинфекционных болезней<sup>1</sup>. Согласно мировым статистическим данным за 2020 год, тройку наиболее частых и агрессивных видов рака составляют: рак молочной железы (РМЖ), рак легких и рак толстого кишечника / прямой кишки, число новых случаев в год составляет 2,26, 2,21 и 1,93 млн соответственно<sup>2</sup>.

В борьбе с онкологическими заболеваниями остается ряд нерешенных задач, связанных с эффективностью и безопасностью лечения – так, химиотерапия и лучевая терапия, несмотря на положительный результат воздействия на раковые клетки, вызывают клинически значимые побочные эффекты, ухудшающие общее состояние пациентов. Актуален поиск лекарственных средств с высокой эффективностью, вызывающих избирательную гибель опухолевых клеток, но с минимальными побочными эффектами для здоровых клеток и тканей [1–4].

Онколитические вирусы уже долгое время рассматриваются как возможные противоопухолевые средства [5]. Среди них большое внимание уделяется вирусам семейства *Rhabdoviridae*, к которым относится вирус везикулярного стоматита (Vesicular stomatitis virus, VSV) [6]. VSV – РНК-содержащий вирус, который может эффективно проникать в разные типы клеток животных, оставаясь непатогенным для человека [7, 8]. Репликация VSV усиливается в опухолевых клетках с дефектным сигнальным путем интерферона, в котором не срабатывает врожденный иммунный ответ [9]. Кроме того, VSV имеет быстрый жизненный цикл, не интегрируется в геном хозяина [8] и является мощным индуктором апоптоза в инфицированных раковых клетках [10, 11].

VSV продемонстрировал противоопухолевую активность в широком спектре раковых клеток, включая остеосаркому [12], рак шейки матки [13], РМЖ [14], меланому [15], гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК) [16], рак поджелудочной железы [17] и глиобластому [4, 18].

Известно два основных серотипа VSV: New Jersey (VSV-NJ) и Indiana (VSV-IND), которые отличаются генетическими и антигенными свойствами. Гомология главного капсидного гликопротеина G вирусов обоих серотипов составляет менее 50% [19]. Вирусы серотипов VSV-NJ и VSV-IND также обладают разной патогенностью для сельскохозяйственных животных [20, 21]. Дополнительно фосфопротеин Р, важный компонент комплекса РНК-зависимой

РНК-полимеразы, является наиболее вариабельным для обоих вирусов – гомология нуклеотидных последовательностей составляет 30% [22]. Обладая общностью происхождения и разными антигенными свойствами, VSV-NJ и VSV-IND могут обладать индивидуальными особенностями в эффективности уничтожения опухолевых клеток.

Потенциал виротерапии привлекает интерес как возможность воздействия вирусов на широкий спектр злокачественных клеток. В данной работе мы сравнили онколитический потенциал VSV-NJ и VSV-IND в отношении наиболее широко распространенных линий: меланомы мыши – B16F10, ГЦК человека – HepG2, РМЖ человека – MCF7. Помимо отличий в происхождении, строении и характере метастазирования меланомы, ГЦК, РМЖ, данные клеточные линии обладают различной перmissивностью в отношении онколитических вирусов. Например, B16F10 не перmissивна к человеческому аденовирусу 5-го типа [23, 24], однако перmissивна к вирусу миксомы [25]. Такое отличие обусловлено отсутствием рецептора CAR (chimeric antigen receptor, химерный рецептор антигена) на поверхности клетки, необходимого для проникновения аденовируса, в то время как инфекционный цикл вируса миксомы не зависит от мембранных рецепторов [26].

Большинство современных исследований посвящены рекомбинантным штаммам на основе VSV-IND, однако ни один из них до настоящего времени не одобрен в клинике. Для оценки перспективы использования других серотипов VSV в виротерапии опухолей необходим их сравнительный анализ, как и дальнейшее изучение различных генетически отличающихся вариантов природных серотипов VSV с целью выбора наиболее перспективной платформы для разработки новых армированных онколитических вирусов.

Цель исследования: изучить цитолитическое действие и кинетику накопления VSV-IND и VSV-NJ на клеточных линиях меланомы мыши, ГЦК и РМЖ человека.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Вирусы

В работе были использованы вирусы везикулярного стоматита VSV (серотип New Jersey (VSV-NJ) и Indiana (VSV-IND) из рабочей коллекции Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных инфекций им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

<sup>1</sup> World Health Organization: Newsroom/Fact sheets/Detail/Noncommunicable diseases. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases> (дата обращения: 22.09.2023).

<sup>2</sup> World Health Organization: Newsroom/Fact sheets/Detail/Cancer. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (дата обращения: 22.09.2023).

Вирусы VSV получали в культуре клеток фибробластов хомяка ВНК-21 (American Type Culture Collection (ATCC), CCL-10)<sup>3</sup>.

### Клеточные линии

Для работы были выбраны клеточные линии: меланомы мыши – B16F10 (ATCC CRL-6475)<sup>4</sup>, ГЦК человека – HepG2 (ATCC HB-8065)<sup>5</sup>, РМЖ человека – MCF7 (ATCC HTB-22)<sup>6</sup>. Раковые клеточные линии предоставлены ФГБУН «Институт биологии гена РАН» (Москва, Россия) (рис. 1).

### Культивирование клеток и анализ жизнеспособности

Экспериментальная часть данной работы проводилась с августа 2022 по февраль 2023 года. Клетки культивировали в стандартных условиях (5% CO<sub>2</sub>, 37 °C), согласно протоколам ATCC для каждой клеточной линии, до достижения 70–80% конfluентности на флаконах T25 и T75 (Wuxi NEST Biotechnology Co., Ltd., Китай), в среде Игла, модифицированной по Дульбекко (Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM) (ООО «ПанЭко», Россия) с высоким содержанием глюкозы, с L-глутамином (ООО «ПанЭко», Россия), с добавлением 10% телячьей эмбриональной сыворотки (ООО «Диаэм», Россия) и пенициллина-стрептомицина, 100-х лиофил. (ООО «ПанЭко», Россия).

Жизнеспособность клеток определяли на счетчике клеток C-100 (RWD Life Science, Китай) с использованием трипанового синего (ООО «ПанЭко», Россия). Цитотоксичность серотипов онколитических вирусов оценивали по снижению жизнеспособности клеток исследуемых линий в метилтетразолиевом тесте (MTT)<sup>7</sup>. Для каждого эксперимента клетки рассаживали в три 96-луночных культуральных планшета (SARSTEDT AG & Co., Германия) в концентрации 10 000 клеток на лунку, культивировали 24 часа, после чего из одной лунки снимали клетки и подсчитывали количество живых клеток для расчета множественности заражения (Multiplicity of infection, MOI).

Клетки в лунках планшета инфицировали серотипами VSV-IND и VSV-NJ в дозах 10 MOI, 1 MOI и 0,1 MOI. В качестве неинфицированного контроля оставляли лунки с клетками без добавления вируса. Для каждой дозы вируса (MOI) использовали от 4 до 8 лунок. Все работы проводили в стерильных условиях.

Результаты эксперимента учитывали через 24, 48 и 72 часа с помощью МТТ-теста (конечная концентрация МТТ-реагента в лунке – 0,5 мг/мл). Оптическую плотность цветной реакции измеряли при длинах волн 550 и 620 нм на планшетном спектрофотометре Varioskan LUX (ThermoFisher Scientific ТМ., США). Жизнеспособность клеток в лунках с неинфицированными клетками принималась за 100% (контрольное значение). Жизнеспособность инфицированных клеток рассчитывалась как процент от значений оптической плотности неинфицированных. На основе данных МТТ-теста также были вычислены значения половины максимальной ингибирующей концентрации (Half maximal inhibitory concentration, IC50) для каждой клеточной линии при различных MOI (10; 1; 0,1) и длительности инкубации (24, 48 и 72 часа).

### Выделение РНК вируса

Для проведения полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (real-time reverse transcription – quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) из лунок планшета спустя 24, 48 и 72 часа после инфицирования клеточных культур отбирали 100 мкл суспензии и выделяли РНК вирусов комплектом реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) согласно протоколу производителя.

RT-qPCR. Для обнаружения РНК VSV была разработана система праймеров комплементарной последовательности участка гена *N* VSV-IND и VSV-NJ. Прямой (5'-GCTGCAGTGGACATGTTCTTC-3') и обратный праймеры (5'-CATGTATGAATCSGCCTTRTCAATTTC-3') использовали для амплификации RT-qPCR продукта размером 240 п.о. в присутствии интеркалирующего красителя SybrGreen с набором для полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в одной пробирке (ООО «Альфа Фермент», Россия) и добавлением 3% диметилсульфоксида при следующих параметрах реакции: 50 °C – 10 мин (1 цикл), 95 °C – 5 мин (1 цикл), 95 °C – 15 сек, 55 °C – 30 сек, 72 °C – 30 сек. (40 циклов) на приборе QuantStudio 5 (ThermoFisher Scientific, США).

### Определение 50% тканевой инфицирующей дозы вируса

Определение 50% тканевой инфицирующей дозы вируса (Tissue Culture Infectious Dose, TCID50) на 1

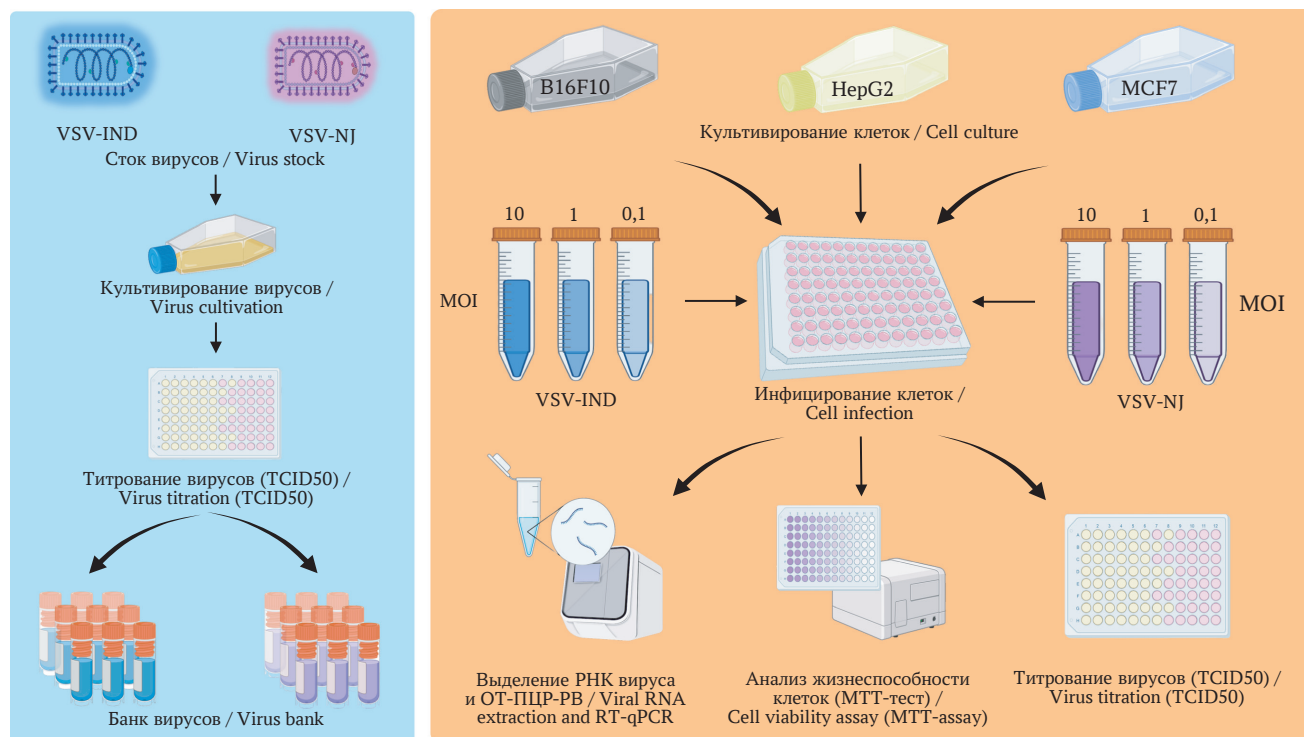
<sup>3</sup> American Type Culture Collection (ATCC): Cell Products/Animal Cells/CCL-10. <https://www.atcc.org/products/ccl-10> (дата обращения: 29.09.2023).

<sup>4</sup> American Type Culture Collection (ATCC): Cell Products/Animal Cells/CRL-6475. <https://www.atcc.org/products/crl-6475> (дата обращения: 29.09.2023).

<sup>5</sup> American Type Culture Collection (ATCC): Cell Products/Human Cells/HB-8065. <https://www.atcc.org/products/hb-8065> (дата обращения: 29.09.2023).

<sup>6</sup> American Type Culture Collection (ATCC): Cell Products/Human Cells/HTB-22. <https://www.atcc.org/products/htb-22> (дата обращения: 29.09.2023).

<sup>7</sup> Методы исследования цитотоксичности при скрининге лекарственных препаратов. Учебно-методическое пособие / А.Г. Иксанова, О.В. Бондарь, К.В. Балакин. Казань: Казанский университет, 2016. 40 с. [https://kpfu.ru/staff\\_files/F1213114794/Metody\\_skrininga\\_LS.pdf](https://kpfu.ru/staff_files/F1213114794/Metody_skrininga_LS.pdf) (дата обращения: 29.09.2023).



**РИС. 1.** Схема эксперимента: изучение онколитического потенциала вируса везикулярного стоматита серотипов Indiana и New Jersey.

**FIG. 1.** Experimental design: study of oncolytic potential of vesicular stomatitis virus serotypes Indiana and New Jersey.

Примечание: VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana, вирус везикулярного стоматита серотип Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey, вирус везикулярного стоматита серотип New Jersey; TCID50 – 50% Tissue Culture Infectious Dose, 50%-ная инфицирующая доза вируса; B16F10 – клеточная линия меланомы мыши; HepG2 – клеточная линия гепатоцеллюлярной карциномы человека; MCF7 – клеточная линия рака молочной железы человека; MOI – Multiplicity of infection, множественность заражения; РНК – рибонуклеиновая кислота; ОТ-ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени; MTT – метил-тетразолиевый тест.

Note: VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey; TCID50 – 50% Tissue Culture Infectious Dose; B16F10 – Mouse melanoma cell line; HepG2 – Human hepatocellular carcinoma cell line; MCF7 – Human breast cancer cell line; MOI – Multiplicity of infection; RNA – Ribonucleic acid; RT-qPCR – real-time reverse transcription – quantitative polymerase chain reaction; MTT – methyl tetrazolium test.

мл образца проводили методом титрования в культуре клеток ВНК-21 (ATCC CCL-10) в формате 96-луночного планшета (рис. 1). В лунки планшета вносили 10 000 клеток в полной ростовой среде. Игла, модифицированной по Дульбекко, культивировали 24 часа в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37 °C, затем проводили заражение VSV-IND и VSV-NJ в дозах 10 MOI, 1 MOI и 0,1 MOI (по 8 лунок на разведение) в объеме 50 мкл на лунку и инкубировали 60 минут (5% CO<sub>2</sub>, 37 °C) для сорбции вируса на клетках. Далее, добавляли 150 мкл полной ростовой среды и инкубировали 72 часа в тех же условиях. Результаты учитывали под инвертированным микроскопом («Микромед И», Россия), отмечая лунки с характерными изменениями морфологии клеток (округлившиеся и сжатые клетки, частичное отслоение клеток). Титр вируса рассчитывали с помощью метода Рида – Менча<sup>8</sup>.

### Статистический анализ

Оценка на нормальность данных проводилась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Данные МТТ-теста и RT-qPCR представлены в виде средних значений со стандартным отклонением выборки. Статистическая значимость различий жизнеспособности клеток определялась с применением *t*-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений.

Для выявления взаимосвязей между жизнеспособностью клеток и накоплением вируса в клеточной культуре применяли корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции Пирсона (*r*). Интерпретацию силы корреляции проводили, оценивая диапазон величин (*r*): от 0 до 0,299 – как слабую взаимосвязь; от 0,3 до 0,699 – как среднюю; от 0,7 до 1,0 – как сильную.

<sup>8</sup> <https://web.archive.org/web/20131119121647/http://aje.oxfordjournals.org/content/27/3/493.extract>

Для опровержения нулевой гипотезы принят уровень статистической значимости  $p < 0,05$ . Статистический анализ данных и построение графиков осуществляли при помощи RStudio v.2023.03.1+446<sup>9</sup> с использованием библиотек rstatix, ggplot2.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Клеточная линия мышинной меланомы B16F10

При трансдукции клеточной линии B16F10 в экспериментах с МТТ наблюдалось значительное снижение жизнеспособности клеток при заражении обоими серотипами вируса – как VSV-IND (рис. 2А), так и VSV-NJ (рис. 2В).

При анализе взаимосвязи между цитотоксичностью и количеством вирусной РНК установлена положительная статистически значимая корреляция средней силы для обоих серотипов:  $r = 0,601$  для VSV-IND,  $p < 0,05$  и  $r = 0,668$  для VSV-NJ,  $p < 0,05$ .

ТСID<sub>50</sub> вирусов, накопленных на этой культуре за 24 часа, при дозе заражения 10 MOI составил  $1,0 \times 10^4$  и  $1,47 \times 10^5$  ТСID<sub>50</sub> для VSV-IND и VSV-NJ соответственно (рис. 2С, 2D). Мы также определили дозу IC<sub>50</sub> (MOI) для вирусов обоих серотипов (Табл.).

В культуре B16F10 через 24 часа воздействия для ингибирования жизнеспособности 50% клеток определили 5,31 MOI VSV-IND и 1,08 MOI VSV-NJ, то есть IC<sub>50</sub> VSV-IND почти пятикратно превышала IC<sub>50</sub> VSV-NJ. Напротив, при увеличении времени экспозиции до 48 и 72 часов определить IC<sub>50</sub> для VSV-IND уже не удалось из-за гибели подавляющего большинства клеток (более 80%) во всем диапазоне применяемых концентраций вируса.

При этом для VSV-NJ через 48 и 72 часа IC<sub>50</sub> определялась в пределах 0,02–0,1 MOI (табл.), а показатель ТСID<sub>50</sub> для VSV-IND оказался более чем в 3 раза выше, чем для VSV-NJ ( $9,28 \times 10^5$  и  $2,94 \times 10^5$  ТСID<sub>50</sub> для 10 MOI соответственно).

### Клеточная линия гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2

Жизнеспособность клеток линии HepG2 через 24 часа инкубации с вирусом обоих серотипов сопоставима с таковой B16F10 (рис. 3А, 3В). Через 48 часов на всем диапазоне концентраций вируса остается больше жизнеспособных клеток HepG2, чем в культуре B16F10 в этих же условиях, за исключением VSV-NJ 0,1 MOI, для которых значения у обеих клеточных линий совпадают (рис. 2В, 3В). Динамика снижения жизнеспособности клеток позволяет определить IC<sub>50</sub> через 48 часов экспозиции вируса обоих серотипов (табл.). Однако через 72 часа перmissивность HepG2 к VSV-NJ превосходит таковую для линии B16F10. Даже при минимальной инфицирующей дозе вируса в 0,1 MOI более 80% клеток погибает через 72 часа: IC<sub>50</sub> не определяется в данном диапазоне инфицирующих доз для обоих серотипов (рис. 3В).

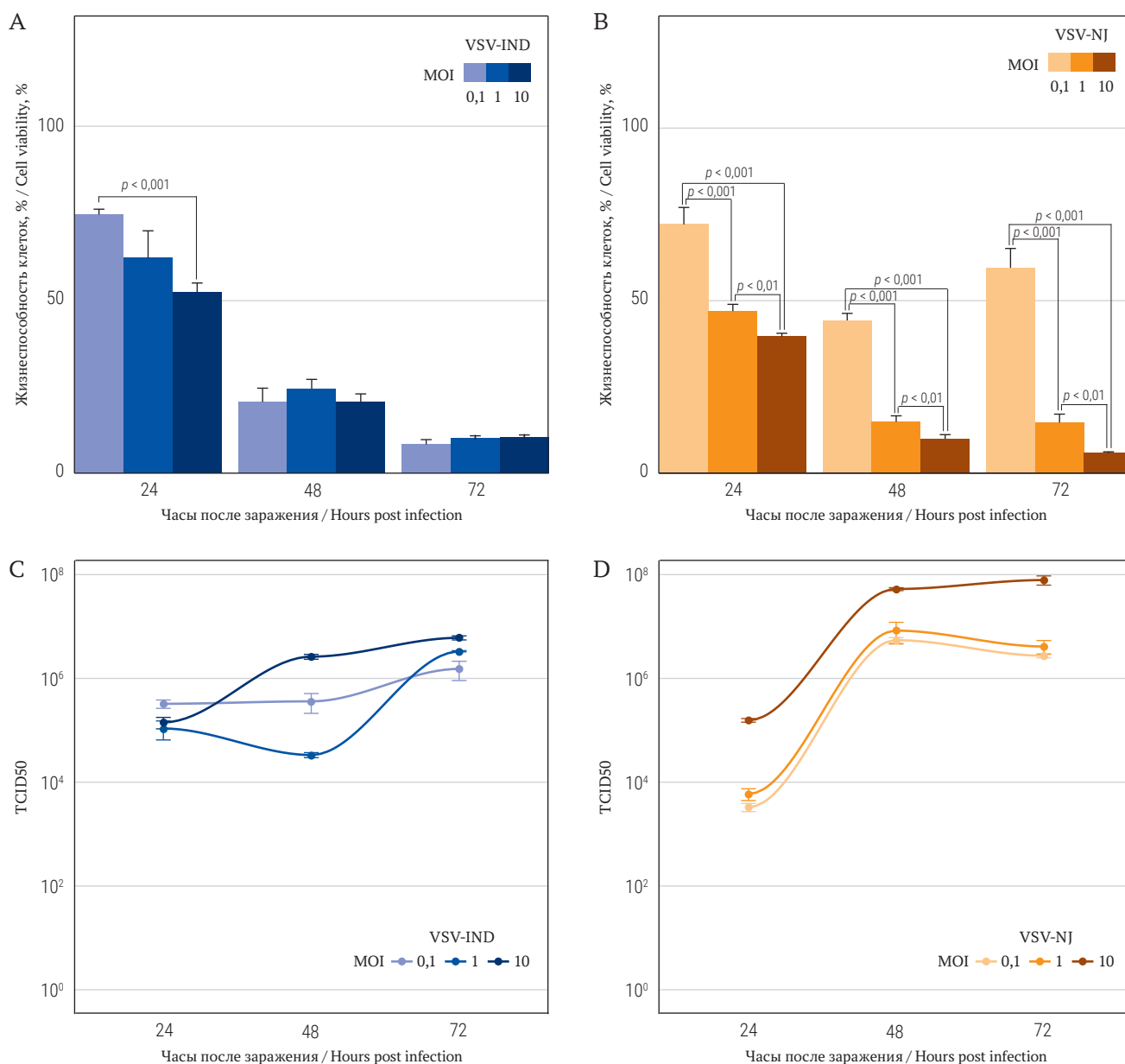
В результате титрования VSV-NJ и VSV-IND методом ТСID<sub>50</sub>, после инфицирования клеток HepG2 значения составляли от  $2,15 \times 10^4$  до  $4,64 \times 10^6$  ТСID<sub>50</sub> для VSV-IND и от  $1,0 \times 10^6$  до  $3,16 \times 10^9$  ТСID<sub>50</sub> для VSV-NJ (рис. 3С, 3D), что на несколько порядков превышает эти показатели для B16F10. Значимых корреляций между снижением жизнеспособности и изменением количества вирусной РНК (RT-qPCR) для HepG2 не обнаружено.

**Таблица. Определение IC<sub>50</sub> для серотипов вируса VSV-NJ и VSV-IND на раковых клеточных культурах**  
**Table. IC<sub>50</sub> values for VSV-NJ and VSV-IND in cancer cell lines**

Клеточная линия / Cell line	Время, ч / Time, h	IC <sub>50</sub>	
		VSV-IND (MOI)	VSV-NJ (MOI)
B16F10	24	5,31	1,08
	48	n/a	0,02
	72	n/a	0,1
HepG2	24	12,07	4,80
	48	0,25	0,01
	72	n/a	n/a
MCF7	24	17,25	33,12
	48	n/a	0,01
	72	0,66	6,02

Примечание: IC<sub>50</sub> – Half maximal inhibitory concentration, половина максимальной ингибирующей концентрации; VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana, вирус везикулярного стоматита серотип Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey, вирус везикулярного стоматита серотип New Jersey; MOI – Multiplicity of infection, множественность заражения; n/a – not analyzed, не определяется. Note: IC<sub>50</sub> – Half maximal inhibitory concentration; VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey; MOI – Multiplicity of infection; n/a – not analyzed.

<sup>9</sup> <https://dailies.rstudio.com/rstudio/cherry-blossom/electron/windows-xcopy/2023-03-1-446/>



**РИС. 2.** Оценка жизнеспособности клеток B16F10, инфицированных вирусами VSV-IND и VSV-NJ.

**FIG. 2.** B16F10 cells viability after VSV-IND and VSV-NJ infection.

Примечание: онколитический эффект представлен в % живых клеток после инфицирования VSV-IND (A) и VSV-NJ (B).

Количественный анализ РНК выражается в титре (TCID<sub>50</sub>) VSV-IND (C) и VSV-NJ (D). В качестве референс-стандарта для количественного определения TCID<sub>50</sub> использовали VSV с известным титром:  $3,0 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> и  $6,23 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub> для VSV-IND и VSV-NJ соответственно.

VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana, вирус везикулярного стоматита серотип Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey, вирус везикулярного стоматита серотип New Jersey; MOI – Multiplicity of infection, множественность заражения; TCID<sub>50</sub> – 50% Tissue Culture Infectious Dose, 50%-ная инфицирующая доза вируса.

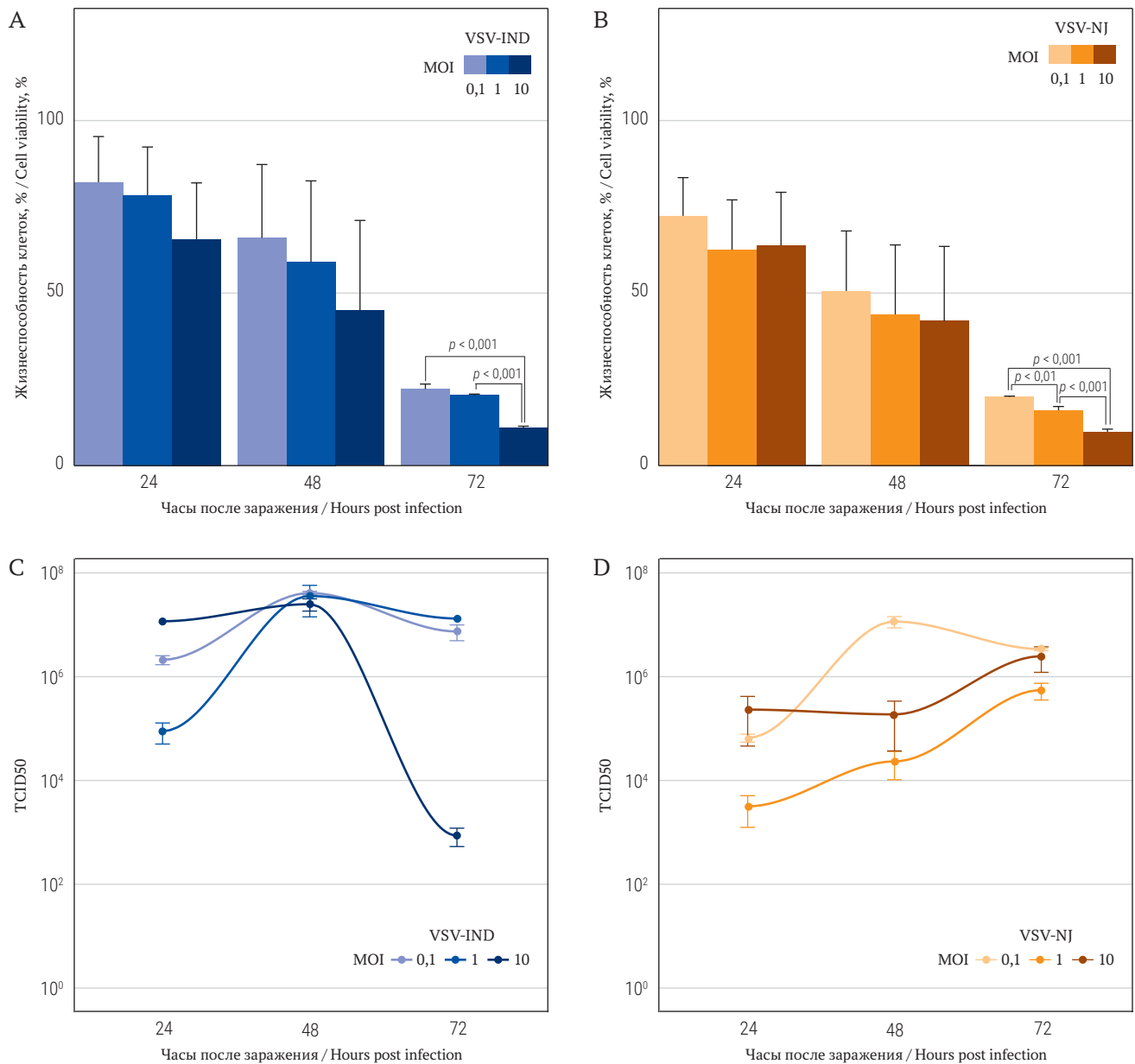
Note: the oncolytic effect is expressed as a proportion of living cells (%) after infection with VSV-IND (A) and VSV-NJ (B).

Quantitative analysis of RNA is expressed as titer (TCID<sub>50</sub>) VSV-IND (C) and VSV-NJ (D). As a reference standard for the quantitative determination of TCID<sub>50</sub>, VSV with a predetermined titer was used:  $3.0 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> and  $6.23 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub> for VSV-IND and VSV-NJ, respectively. VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey; MOI – Multiplicity of infection; TCID<sub>50</sub> – 50% Tissue Culture Infectious Dose.

#### Клеточная линия аденокарциномы молочной железы человека – MCF7

В серии наших экспериментов клеточная линия MCF7 являлась наименее перmissive к VSV

(рис. 4A, 4B), демонстрируя устойчивость к VSV-NJ более 50% во всем диапазоне концентраций вируса и времени инкубации, кроме максимальных концентраций (10 MOI, 72 часа). При воздействии



**РИС. 3.** Оценка жизнеспособности клеток HepG2, инфицированных вирусами VSV-IND и VSV-NJ.

**FIG. 3.** HepG2 cells viability after VSV-IND and VSV-NJ infection.

Примечание: онколитический эффект представлен в % живых клеток после инфицирования VSV-IND (A) и VSV-NJ (B).

Количественный анализ РНК выражается в титре (TCID<sub>50</sub>) VSV-IND (C) и VSV-NJ (D). В качестве референс-стандарта для количественного определения TCID<sub>50</sub> использовали VSV с известным титром:  $3,0 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> и  $6,23 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub> для VSV-IND и VSV-NJ соответственно.

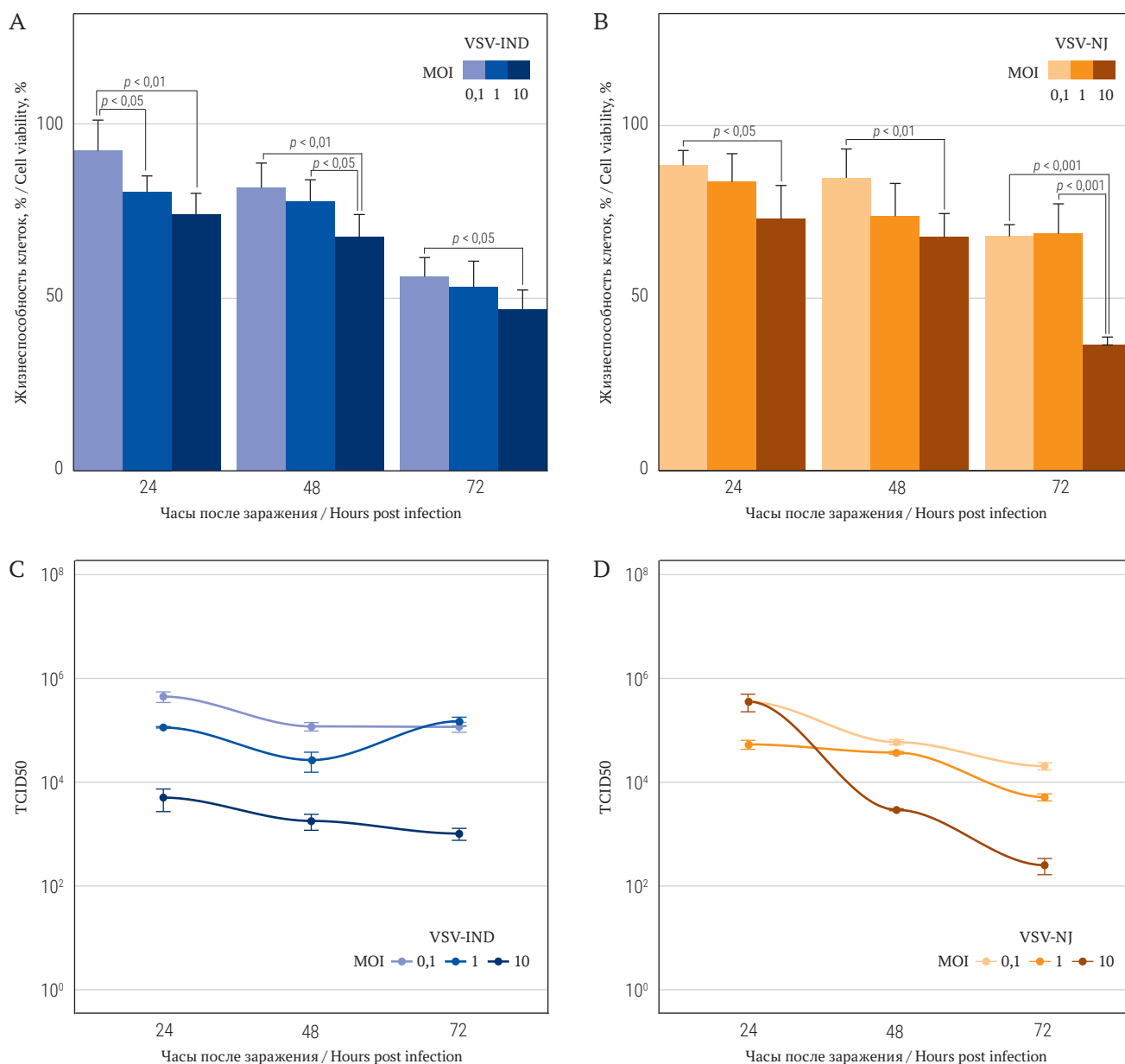
VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana, вирус везикулярного стоматита серотип Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey, вирус везикулярного стоматита серотип New Jersey; MOI – Multiplicity of infection, множественность заражения; TCID<sub>50</sub> – 50% Tissue Culture Infectious Dose, 50%-ная инфицирующая доза вируса.

Note: the oncolytic effect is expressed as a proportion of living cells (%) after infection with VSV-IND (A) and VSV-NJ (B).

Quantitative analysis of RNA is expressed as titer (TCID<sub>50</sub>) VSV-IND (C) and VSV-NJ (D). As a reference standard for the quantitative determination of TCID<sub>50</sub>, VSV with a predetermined titer was used:  $3.0 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> and  $6.23 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub> for VSV-IND and VSV-NJ, respectively. VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey; MOI – Multiplicity of infection; TCID<sub>50</sub> – 50% Tissue Culture Infectious Dose.

VSV-IND в течение 72 часов содержание жизнеспособных клеток оставалось не ниже 40%. Соответственно, наблюдались и высокие значения IC<sub>50</sub> (Табл.).

Содержание в культуре MCF7 вирусной РНК в динамике либо оставалось практически без изменений, как у VSV-IND (1 MOI), либо снижалось, причем снижение достигало трех порядков, как у VSV-NJ



**РИС. 4.** Оценка жизнеспособности клеток MCF7, инфицированных вирусами VSV-IND и VSV-NJ.

**FIG. 4.** MCF7 cells viability after VSV-IND and VSV-NJ infection.

Примечание: онколитический эффект выражается в % живых клеток после инфицирования VSV-IND (A) и VSV-NJ (B).

Количественный анализ РНК выражается в титре (TCID50) VSV-IND (C) и VSV-NJ (D). В качестве референс-стандарта для количественного определения TCID50 использовали VSV с известным титром:  $3,0 \times 10^7$  TCID50 и  $6,23 \times 10^6$  TCID50 для VSV-IND и VSV-NJ соответственно.

VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana, вирус везикулярного стоматита серотип Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey, вирус везикулярного стоматита серотип New Jersey; MOI – Multiplicity of infection, множественность заражения; TCID50 – 50% Tissue Culture Infectious Dose, 50%-ная инфицирующая доза вируса.

Note: the oncolytic effect is expressed as a proportion of living cells (%) after infection with VSV-IND (A) and VSV-NJ (B).

Quantitative analysis of RNA is expressed as titer (TCID50) VSV-IND (C) and VSV-NJ (D). As a reference standard for the quantitative determination of TCID50, VSV with a predetermined titer was used:  $3.0 \times 10^7$  TCID50 and  $6.23 \times 10^6$  TCID50 for VSV-IND and VSV-NJ, respectively. VSV-IND – Vesicular stomatitis virus Indiana; VSV-NJ – Vesicular stomatitis virus New Jersey; MOI – Multiplicity of infection; TCID50 – 50% Tissue Culture Infectious Dose.

(10 MOI) (рис. 4C, D). Подтвержденная взаимосвязь между показателями снижения жизнеспособности клеток и изменением количества вирусной РНК отсутствовала при заражении обоими серотипами.

## ОБСУЖДЕНИЕ

VSV является модельным объектом исследований, способствующих комплексному пониманию взаимодействия вирусов и раковых клеток [10].

Благодаря непатогенности VSV для человека и способности репродуцироваться в разных клетках природные серотипы VSV-IND и VSV-NJ могут служить источником новых эффективных средств иммунотерапии. VSV селективно индуцирует цитоллиз многочисленных трансформированных клеточных линий человека *in vitro* со всеми морфологическими характеристиками апоптотической клеточной гибели [27]. Кроме того, геном VSV может вместить вставку одного или нескольких функциональных генов [28–30], а значит, онколитический потенциал может быть значительно усилен. В данной работе мы сфокусировались на сравнении VSV-IND и VSV-NJ в эффективности разрушения опухолевых клеток.

Исходя из результатов МТТ-теста мы предполагаем, что клеточные линии меланомы мыши B16F10 и ГЦК человека HepG2 перmissive к обоим серотипам вируса VSV. Причем на клетках линии B16F10 цитотоксичность VSV-IND (72 часа после инфекции) достигала более 80% независимо от первоначальной дозы, а в культуре клеток HepG2 такая же картина наблюдалась и для VSV-NJ. Однако ни в одной клеточной линии не удалось зафиксировать 100% гибель клеток. По данным литературы, клеточная линия меланомы мыши B16F10 может быть частично устойчива к инфекции VSV [15, 28]. О высокой цитотоксичности VSV в культуре HepG2 сообщается в работе В.М. Nagalo и соавт., 2020 [16], где гликопротеин G VSV был модифицирован геммаглутинином вируса кори.

В нашей гипотезе мы исходили из того, что: (1) наличие прямой статистически достоверной сильной или средней корреляции между ингибированием жизнеспособности клеток (цитотоксичностью VSV) и накоплением вирусной РНК может отражать гибель в результате репликации вируса, тогда как (2) высокие показатели гибели клеток в отсутствие накопления РНК (а значит и репликации вируса) могут свидетельствовать о цитотоксическом действии вирусных белков. Первая ситуация наблюдалась в культуре клеток B16F10 для обоих серотипов. Напротив, в культуре клеток HepG2 каких-либо достоверных взаимосвязей между снижением жизнеспособности клеток и накоплением вирусной РНК выявлено не было. Можно предположить, что восприимчивость клеток HepG2 к VSV-IND и VSV-NJ в большей степени обусловлена цитотоксическим действием их белков, чем репликацией, что согласуется с данными литературы [20].

Отдельно следует отметить линию РМЖ человека MCF7, которая демонстрировала выживаемость более 50% практически во всем диапазоне концентраций VSV-IND и VSV-NJ и времени экспозиции, кроме максимальных (10 MOI и 72 часа). Ранее в работе С. Rogers и соавт., 2017 [11], при исследовании влияния матриксного белка М

VSV на высокоонкогенную линию MCF7 были получены аналогичные результаты. Авторам не удалось добиться полной регрессии опухоли *in vivo*, и они сделали вывод, что цитолитический эффект VSV при РМЖ необходимо сочетать с более агрессивным лечением [11]. В 2021 году попытка применить VSV совместно с иммунотерапией натуральными киллерами (Natural killer T-cells, NKT) оказалась более успешной [31]. При этом монотерапия VSV не приводила к полной регрессии опухоли (как и в наших экспериментах), хотя и демонстрировала индукцию гибели клеток. Исследование проводилось на линии аденокарциномы человека 4T1, что не позволяет сравнивать результаты с нашим экспериментом, тем не менее оно дает надежду на успех в случае комбинированной терапии для аденокарциномы молочной железы.

Содержание вирусной РНК через 72 часа в культуре клеток MCF7 в нашем исследовании снизилось как для VSV-IND, так и для VSV-NJ. Статистически значимой связи между снижением жизнеспособности клеток и накоплением вирусной РНК не выявлено при заражении обоими серотипами.

#### Ограничения исследования

Настоящее исследование не включает генетически модифицированные VSV, ограничиваясь природными (дикими) серотипами вируса. Большое разнообразие раковых клеточных линий может быть использовано для проверки онколитического потенциала вирусов.

#### Направления для дальнейших исследований

Дальнейшие исследования могут включать оценку воздействия VSV-IND и VSV-NJ на более широкий спектр раковых, а также нераковых клеточных линий, например MCF10, фибробластов и др. Планируется также определить тип клеточной гибели в результате воздействия VSV (некроз, апоптоз, аутофагия). По итогам более масштабного исследования можно определить наиболее универсальный и перспективный серотип как платформу для дальнейших генетических модификаций VSV с целью усиления противоопухолевого действия.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе мы показали, что восприимчивой клеточной линией для вирусов VSV-IND и VSV-NJ оказались B16F10 и HepG2, в то время как ингибирование жизнеспособности клеток MCF7 составило лишь 63,8 и 53,4% для VSV-IND и VSV-NJ соответственно. Линия MCF7 по выживаемости клеток и по накоплению вирусной РНК умеренно устойчива к заражению VSV обоих серотипов. Линии B16F10 и HepG2 оказались перmissive при заражении VSV-IND и VSV-NJ в дозах 10, 1 и 0,1 MOI, несмотря на отсутствие тотальной гибели клеток. При этом

в них обнаруживается разная динамика гибели и накопления РНК вируса, что может быть использовано

### ВКЛАД АВТОРОВ

А.С. Исаева и Н.О. Порозова внесли равный значительный вклад в проведение исследований и обработку данных, статистическую обработку результатов исследования и подготовку рукописи. Э. Идота внесла основной вклад в подготовку и поддержание раковых клеточных линий. С.И. Володина участвовала в разработке протоколов титрования серотипов VSV и депонирования вирусов в рабочую коллекцию. А.Н. Лукашев внес основной вклад в дизайн исследований, обсуждение и редактирование статьи. А.С. Малоголовкин внес основной вклад в разработку концепции идеи и методологии проведения эксперимента, а также написание текста статьи. Все авторы утвердили окончательную версию статьи.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность заместителю директора Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) кандидату медицинских наук Ахмадишиной Людмиле Васильевне за помощь в организации и проведении исследований; заведующему лабораторией биофизики ФГБНУ «ФНИЦ ВИЭВ РАН» кандидату ветеринарных наук Надточей Григорию Андреевичу за комментарии и дискуссию по результатам работы; а также заведующему лабораторией молекулярной онкобиологии Института биологии гена РАН кандидату биологических наук Татарскому Виктору Вячеславовичу за предоставленные клеточные линии.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Zainutdinov S.S., Kochneva G.V., Netesov S.V., et al. Directed evolution as a tool for the selection of oncolytic RNA viruses with desired phenotypes. *Oncolytic Virother.* 2019 Jul 12; 8: 9–26. <https://doi.org/10.2147/OV.S176523>. PMID: 31372363
2. Бабаева Ф.Э., Липатова А.В., Кочетков Д.В. и др. Исследование репродукции онколитических вирусов в органных культурах лимфоидных опухолей человека. *Онкогематология* 2019; 14(4): 84–89. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2019-14-4-84-89> / *Babaeva F.E., Lipatova A.V., Kochetkov D.V., et al.* The study of oncolytic viruses reproduction in organ cultures of human lymphoid tumors. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2019; 14(4): 84–89 (In Russian). <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2019-14-4-84-89>
3. Shalhout S.Z., Miller D.M., Emerick K.S., Kaufman H.L. Therapy with oncolytic viruses: progress and challenges. *Nat Rev Clin Oncol.* 2023 Mar; 20(3): 160–177. <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00719-w>. Epub 2023 Jan 11. PMID: 36631681
4. Jiang B., Huang D., He W., et al. Inhibition of glioma using a novel non-neurotoxic vesicular stomatitis virus. *Neurosurg Focus.* 2021 Feb; 50(2): E9. <https://doi.org/10.3171/2020.11.FOCUS20839>. PMID: 33524950
5. Kelly E., Russell S.J. History of oncolytic viruses: genesis to genetic engineering. *Mol Ther.* 2007 Apr; 15(4): 651–659. <https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300108>. Epub 2007 Feb 13. PMID: 17299401
6. Hastie E., Grdzishvili V.Z. Vesicular stomatitis virus as a flexible platform for oncolytic virotherapy against cancer. *J Gen Virol.* 2012 Dec; 93(Pt 12): 2529–2545. <https://doi.org/10.1099/vir.0.046672-0>. Epub 2012 Oct 10. PMID: 23052398

для выбора средств при комбинированной терапии меланомы и рака печени.

### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Anastasia S. Isaeva and Natalya O. Porozova made equal significant contributions to research and data processing, statistical analysis, and preparation of the manuscript. Esther Idota: preparation and maintenance of cancer cell lines. Sofya I. Volodina: development of protocols for VSV serotypes titration and depositing viruses in the working collection. Alexander N. Lukashev study design, discussion and manuscript editing. Alexander S. Malogolovkin: study concept and methodology of the experiment, as well as writing the text of the article. All the authors approved the final version of the article.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their gratitude Deputy Director, Martsinovskiy Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-borne Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University, Cand. of Sci. (Medicine), Ludmila V. Akhmadishina for her help in organizing and conducting the research; Head of Biophysics Laboratory, FSC VIEV, Cand. of Sci. (Veterinary medicine), Grigory A. Nadochey for comments and discussion of the results; as well as the Head of the Laboratory of Molecular Oncobiology of the Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences, Cand. of Sci. (Biology), Victor V. Tatarsky for providing the cell lines.

7. Pelzel-McCluskey A.M. Vesicular Stomatitis Virus. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2023 Apr; 39(1): 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2022.11.004>. Epub 2023 Feb 1. PMID: 36737291
8. Bishnoi S., Tiwari R., Gupta S., et al. Oncotargeting by Vesicular Stomatitis Virus (VSV): advances in cancer therapy. *Viruses.* 2018 Feb 23; 10(2): 90. <https://doi.org/10.3390/v10020090>. PMID: 29473868
9. Bressy C., Droby G.N., Maldonado B.D., et al. Cell Cycle Arrest in G2/M phase enhances replication of interferon-sensitive cytoplasmic RNA viruses via inhibition of antiviral gene expression. *J Virol.* 2019 Feb 5; 93(4): e01885-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01885-18>. PMID: 30487274
10. Koyama A.H. Induction of apoptotic DNA fragmentation by the infection of vesicular stomatitis virus. *Virus Res.* 1995 Aug; 37(3): 285–290. [https://doi.org/10.1016/0168-1702\(95\)00026-m](https://doi.org/10.1016/0168-1702(95)00026-m). PMID: 8533463
11. Rogers C., Fernandes-Alnemri T., Mayes L., et al. Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death. *Nat Commun.* 2017 Jan 3; 8: 14128. <https://doi.org/10.1038/ncomms14128>. PMID: 28045099
12. Makielski K.M., Sarver A.L., Henson M.S., et al. Neoadjuvant systemic oncolytic vesicular stomatitis virus is safe and may enhance long-term survivorship in dogs with naturally occurring osteosarcoma. *Molecular Therapy: Oncolytics* 2023 December; 31: 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2023.100736>. Epub 2023 October 13.
13. Riepler L., Frommelt L.S., Wilmschen-Tober S., et al. Therapeutic efficacy of a VSV-GP-based human papilloma virus vaccine in

- a murine cancer model. *J Mol Biol.* 2023 Jul 1; 435(13): 168096. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2023.168096>. Epub 2023 Apr 20. PMID: 37086948
14. Askari F.S., Mohebbi A., Moradi A., Javid N. The role of vesicular stomatitis virus matrix protein in autophagy in the breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2021 Jan 1; 22(1): 249–255. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2021.22.1.249>. PMID: 33507706
  15. Kimpel J., Urbila C., Koske I., et al. The oncolytic virus VSV-GP is effective against malignant melanoma. *Viruses.* 2018 Mar 2; 10(3): 108. <https://doi.org/10.3390/v10030108>. PMID: 29498639
  16. Nagalo B.M., Breton C.A., Zhou Y., et al. Oncolytic virus with attributes of vesicular stomatitis virus and Measles virus in hepatobiliary and pancreatic cancers. *Mol Ther Oncolytics.* 2020 Sep 25; 18: 546–555. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2020.08.007>. Epub 2020 Aug 19. PMID: 32839735
  17. Tang S., Shi L., Luker B.T., et al. Modulation of the tumor micro-environment by armed vesicular stomatitis virus in a syngeneic pancreatic cancer model. *Viral J.* 2022 Feb 23; 19(1): 32. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01757-7>. PMID: 35197076
  18. Kim T.E., Puckett S., Zhang K., et al. Diversity in responses to oncolytic Lassa-vesicular stomatitis virus in patient-derived glioblastoma cells. *Mol Ther Oncolytics.* 2021 Jun 12; 22: 232–244. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2021.06.003>. PMID: 34514102
  19. Martinez I., Wertz G.W. Biological differences between vesicular stomatitis virus Indiana and New Jersey serotype glycoproteins: identification of amino acid residues modulating pH-dependent infectivity. *J Virol.* 2005 Mar; 79(6): 3578–3585. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.6.3578-3585.2005>. PMID: 15731252
  20. Velazquez-Salinas L., Medina G.N., Valdez F., et al. Exploring the molecular basis of vesicular stomatitis virus pathogenesis in swine: insights from expression profiling of primary macrophages infected with M51R mutant virus. *Pathogens.* 2023; 12(7): 896. <https://doi.org/10.3390/pathogens12070896>. PMID: 37513744
  21. Velazquez-Salinas L., Canter J.A., Zhu J.J., Rodriguez L.L. Molecular pathogenesis and immune evasion of vesicular stomatitis New Jersey virus inferred from genes expression changes in infected porcine macrophages. *Pathogens.* 2021 Sep 3; 10(9): 1134. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091134>. PMID: 34578166
  22. Das S.C., Pattnaik A.K. Phosphorylation of vesicular stomatitis virus phosphoprotein P is indispensable for virus growth. *J Virol.* 2004 Jun; 78(12): 6420–6430. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.12.6420-6430.2004>. PMID: 15163735
  23. Blair G.E., Dixon S.C., Griffiths S.A., Zajdel M.E. Restricted replication of human adenovirus type 5 in mouse cell lines. *Virus Res.* 1989 Dec; 14(4): 339–346. [https://doi.org/10.1016/0168-1702\(89\)90026-9](https://doi.org/10.1016/0168-1702(89)90026-9). PMID: 2560294
  24. Zhang L., Hedjran F., Larson C., et al. A novel immunocompetent murine model for replicating oncolytic adenoviral therapy. *Cancer Gene Ther.* 2015 Jan; 22(1): 17–22. <https://doi.org/10.1038/cgt.2014.64>. Epub 2014 Dec 19. PMID: 25525035
  25. Stanford M.M., Shaban M., Barrett J.W., et al. Myxoma virus oncolysis of primary and metastatic B16F10 mouse tumors *in vivo*. *Mol Ther.* 2008 Jan; 16(1): 52–59. <https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300348>. Epub 2007 Nov 13. PMID: 17998900
  26. Rahman M.M., McFadden G. Oncolytic virotherapy with Myxoma virus. *J Clin Med.* 2020 Jan 8; 9(1): 171. <https://doi.org/10.3390/jcm9010171>. PMID: 31936317
  27. Balachandran S., Barber G.N. Vesicular stomatitis virus (VSV) therapy of tumors. *IUBMB Life.* 2000 Aug; 50(2): 135–138. <https://doi.org/10.1080/713803696>. PMID: 11185959
  28. Munis A.M., Bentley E.M., Takeuchi Y. A tool with many applications: vesicular stomatitis virus in research and medicine. *Expert Opin Biol Ther.* 2020 Oct; 20(10): 1187–1201. <https://doi.org/10.1080/14712598.2020.1787981>. Epub 2020 Jul 9. PMID: 32602788
  29. Zhang Y., Nagalo B.M. Immunovirotherapy based on recombinant vesicular stomatitis virus: Where are we? *Front Immunol.* 2022 Jun 28; 13: 898631. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.898631>. PMID: 35837384
  30. Leveille S., Goulet M.L., Lichty B.D., Hiscott J. Vesicular stomatitis virus oncolytic treatment interferes with tumor-associated dendritic cell functions and abrogates tumor antigen presentation. *J Virol.* 2011 Dec; 85(23): 12160–12169. <https://doi.org/10.1128/JVI.05703-11>. PMID: 21917977
  31. Gebremeskel S., Nelson A., Walker B., et al. Natural killer T cell immunotherapy combined with oncolytic vesicular stomatitis virus or reovirus treatments differentially increases survival in mouse models of ovarian and breast cancer metastasis. *J Immunother Cancer.* 2021 Mar; 9(3): e002096. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-002096>. PMID: 33722907

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Исаева Анастасия Сергеевна**, младший научный сотрудник, аспирантка Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9459-6372>

**Порозова Наталья Олеговна**, канд. биол. наук, старший научный сотрудник Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0253-5968>

**Anastasia S. Isaeva**, Junior Researcher, postgraduate student, Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-borne Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9459-6372>

**Natalya O. Porozova**, Cand. of Sci. (Biology), Senior Researcher, Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-borne Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0253-5968>

**Идота Эстер**, аспирантка Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1888-2827>

**Володина Софья Игоревна**, младший научный сотрудник, аспирантка Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1702-1572>

**Лукашев Александр Николаевич**, д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7365-0352>

**Малоголовкин Александр Сергеевич**✉, канд. биол. наук, зав. лабораторией молекулярной вирусологии Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1352-1780>

**Esther Idota**, postgraduate student, Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-borne Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1888-2827>

**Sofya I. Volodina**, Junior Researcher, Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-borne Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1702-1572>

**Alexander N. Lukashev**, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Corresponding member of RAS, Director of the Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-borne Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7365-0352>

**Alexander S. Malogolovkin**✉, Cand. of Sci. (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Virology, Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-borne Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1352-1780>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Оригинальная статья / Original article

УДК 616-009.19-085.31.015

<https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.918.13>

## Морфофункциональные изменения у мышей после однократного введения высоких и низких доз Hsp70

Г.А. Пьявченко, А.А. Венедиктов✉, Е.А. Кузьмин, С.Л. Кузнецов

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»

Минздрава России (Сеченовский Университет)

ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Москва, 119048, Россия

### Аннотация

**Цель.** Оценить влияние экзогенного Hsp70 (heat shock protein, белок теплового шока массой 70 кДа) на морфофункциональное состояние взрослых мышей при его однократном подкожном введении в высоких и низких дозах.

**Материалы и методы.** Изучались самцы мышей линии CD1 ( $n = 30$ ) возрастом  $90 \pm 3$  суток, рандомизированные на три группы по 10 животных в каждой. Вводили однократно подкожно: 1-й группе (контроль) – физиологический раствор, 2-й группе – низкую дозу Hsp70 (500 мкг/кг) и 3-й группе – высокую дозу Hsp70 (5000 мкг/кг) рекомбинантного человеческого HspA1A. На 3-й день регистрировали поведенческую активность: скорость перемещения, пройденный путь и количество дефекаций. На 5-й день мышей выводили из эксперимента с последующим гистологическим исследованием и морфометрией срезов коры головного мозга, тимуса, селезенки и печени. Статистическая обработка данных осуществлялась при помощи однофакторного дисперсионного анализа и апостериорного теста Тьюки.

**Результаты.** В изученных группах не обнаружено статистически значимой разницы поведенческих показателей. Синусоидные капилляры печени в группе контроля и группе Hsp70 500 мкг/кг оказались немного шире и полнокровнее по сравнению с Hsp70 5000 мкг/кг. При морфометрии клеток получены следующие результаты: число нейронов в ганглионарном слое коры больших полушарий головного мозга, разница лимфоцитарной клеточности между корковым и мозговым веществами тимуса, число лимфоцитов в белой пульпе селезенки, количество ядер гепатоцитов в печени в группах не различались. В красной пульпе селезенки количество макрофагов составило  $1774,5 \pm 24,8$ ,  $1623,0 \pm 26,7$ ,  $1553,6 \pm 47,0$  в группах контроля, низкой и высокой доз Hsp70 соответственно ( $p < 0,0001$ ). В тесте Тьюки статистически значимые различия получены между группой контроля и группами Hsp70 500 мкг/кг ( $p = 0,012$ ) и 5000 мкг/кг ( $p < 0,0001$ ).

**Заключение.** Исследование не выявило негативного влияния подкожного введения низких и высоких доз Hsp70 на морфофункциональные показатели у мышей.

**Ключевые слова:** белки теплового шока; рекомбинантный человеческий Hsp70; шапероны; морфофункциональная характеристика; экзогенный Hsp70 у мышей; HspA1A

### Рубрики MeSH:

СТРЕСС ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ

БЕЛКИ HSP70 ТЕПЛОВОГО ШОКА – ПРИЕМ И ДОЗИРОВКА

БЕЛКИ HSP70 ТЕПЛОВОГО ШОКА – ФАРМАКОЛОГИЯ

**Для цитирования:** Пьявченко Г.А., Венедиктов А.А., Кузьмин Е.А., Кузнецов С.Л. Морфофункциональные изменения у мышей после однократного введения высоких и низких доз Hsp70. Сеченовский вестник. 2023; 14(4): 31–41. Публикация онлайн 29.11.2023. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.918.13>

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

**Венедиктов Артем Андреевич**, аспирант, ассистент кафедры анатомии и гистологии человека, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

**Адрес:** ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, г. Москва, 119048, Россия

**Тел.:** +7 (980) 019-08-63

**E-mail:** [venediktov\\_a\\_a@staff.sechenov.ru](mailto:venediktov_a_a@staff.sechenov.ru)

**Соответствие принципам этики.** Исследование проведено с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей. Все манипуляции с животными проведены в соответствии с разрешением Локального этического комитета ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (№ 04-23-02.03.2023).

**Доступ к данным исследования.** Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у авторов по обоснованному запросу.

Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала – сертифицированным специалистом по биостатистике.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование проведено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00448<sup>1</sup> от 12.01.2023.

Поступила: 23.08.2023

Принята: 28.09.2023

Дата публикации онлайн: 29.11.2023

Дата печати: 30.11.2023

## Morphofunctional features in mice treated by low and high Hsp70 doses

Gennadii A. Piavchenko, Artem A. Venediktov<sup>✉</sup>, Egor A. Kuzmin, Sergey L. Kuznetsov  
*Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)  
8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia*

### Abstract

**Aim.** We sought to assess the effects of exogenous Hsp70 (single subcutaneous low- and high-dose injections) on organ structure and functions in adult mice.

**Materials and methods.** We randomized CD1 90-day-old male mice ( $n = 30$ ) to three groups (10 mice per group). We injected the animals with single subcutaneous saline solution for Group 1 (control), low dose (500  $\mu\text{g/kg}$ ) of recombinant human Hsp70 (HspA1A) for Group 2, and high dose (5000  $\mu\text{g/kg}$ ) of the Hsp70 for Group 3. We examined the behavior of the mice on Day 3 after the injections (distance traveled, velocity, and bowel movement number). We lethalized the mice on Day 5 with further histological study and morphometrics of cerebral cortex, thymus, spleen, and liver. The statistics included one-factor ANOVA test with *post hoc* Tukey test.

**Results.** All study groups exhibited no significant difference of behavioral parameters. Some liver sinusoids were wider in control group and Hsp70 500  $\mu\text{g/kg}$  group comparing to Hsp70 5000  $\mu\text{g/kg}$  group. We obtained also data for morphometrics: no difference was found for the number of neurons in ganglionic cerebral cortex, the lymphocytic cellularity difference between thymic cortex and medulla, the number of lymphocytes in white splenic pulp, and the number of hepatocyte nuclei in the liver. Red splenic pulp exhibited  $1774,5 \pm 24,8$ ,  $1623,0 \pm 26,7$ ,  $1553,6 \pm 47,0$  macrophages for control, low-dose and high-dose groups, respectively ( $p < 0,0001$ ). Tukey test showed a significant difference between control group and each of Hsp70 groups 500  $\mu\text{g/kg}$  ( $p = 0,012$ ) and 5000  $\mu\text{g/kg}$  ( $p < 0,0001$ ).

**Conclusion.** Our study revealed no negative impact of subcutaneous Hsp70 administration at low and high doses on organ structure and functions in mice.

**Keywords:** heat-shock proteins; recombinant human Hsp70; chaperones; morpho-functional characteristics; exogenous Hsp70 in mice; HspA1A

### MeSH terms:

STRESS, PHYSIOLOGICAL

HSP70 HEAT-SHOCK PROTEINS – ADMINISTRATION & DOSAGE

HSP70 HEAT-SHOCK PROTEINS – PHARMACOLOGY

**For citation:** Piavchenko G.A., Venediktov A.A., Kuzmin E.A., Kuznetsov S.L. Morphofunctional features in mice treated by low and high Hsp70 doses. *Sechenov Medical Journal*. 2023; 14(4): 31–41. Epub ahead of print 29.11.2023. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.918.13>

<sup>1</sup> <https://rscf.ru/project/23-25-00448/> (дата обращения: 12.06.2023).

## CONTACT INFORMATION:

**Artem A. Venediktov**, Postgraduate student, Assistant Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

**Address:** 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia

**Tel.:** +7 (980) 019-08-63

**E-mail:** venediktov\_a\_a@staff.sechenov.ru

**Ethics statements.** The study complies with the standards of the EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. All manipulations with animals were approved by the Local Bioethics Committee of the Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), No. 04-23 of 02.03.2023.

**Data availability.** The data that support the findings of this study are available from the corresponding authors on reasonable request. Data and statistical methods used in the article were examined by a professional biostatistician on the Sechenov Medical Journal editorial staff.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

**Financing.** The work was financed by funding obtained from a grant of Russian Scientific Fund # 23-25-00448<sup>2</sup> from 12.01.2023.

**Received:** 23.08.2023

**Accepted:** 28.09.2023

**Date of publication online:** 29.11.2023

**Date of publication:** 30.11.2023

**Список сокращений:**

Hsp70 – 70 kilodalton heat shock proteins, белки теплового шока массой 70 килодальтон

Молекулярной основой разнообразных патологических процессов служат нарушения работы всей совокупности клеточных белков (протеома). Для коррекции таких нарушений разрабатывают терапевтические подходы с применением регуляторов, позволяющих защищать и/или восстанавливать свойства белковых макромолекул. Данные регуляторы, составляющие разнородную группу соединений под названием «молекулярные шапероны», помогают поддерживать протеостаз, обеспечивая динамическую работу сбалансированного, функционального протеома. Шапероны представляют собой белки, участвующие в восстановлении правильной нативной третичной или четвертичной структуры белков организма, в том числе за счет образования с ними промежуточных белковых комплексов и их диссоциации. Среди них ключевое значение отводят семейству белков теплового шока массой 70 килодальтон (70 kilodalton heat shock proteins, Hsp70) [1].

Представители Hsp70 участвуют в обеспечении структурно-функционального постоянства практически во всех клетках организма посредством контроля качества протеома, предотвращая накопление агрегатов из неправильно свернутых белков или продуктов их деградации. Механизмами этого управления служат как ограждение от возможных ошибок посттрансляционных модификаций (фолдинга и рефолдинга), так и активация протеасом и процесса протеолиза, а также транспорт дефектных белков для аутофагии. Hsp70 регулирует апоптотическую активность, предотвращая клеточную гибель и образование апоптосом [2].

Хотя каскады биохимических реакций, задействующие Hsp70, происходят во всех клетках организма, роль этого семейства шаперонов особенно велика для долгоживущих клеточных популяций, например нервной ткани. Hsp70 способствуют устойчивости нейронов к преждевременной деградации [3, 4], снижению реакции нейроглии на провоспалительные цитокины [5, 6]. Всплеск интереса к разработке фармакологических веществ, служащих индукторами или аллостерическими модификаторами для данного белка в нервной ткани [7], привел к росту числа исследований, посвященных изучению роли Hsp70 в механизме защиты нейронов от повреждения при различных нейродегенеративных заболеваниях, например болезни Альцгеймера или ишемии головного мозга [8]. Тем не менее большинство научных коллективов нацелены на исключительно прикладной результат для быстро реализуемых терапевтических опций, что ограничивает понимание фундаментальных последствий повышенной экспрессии или активности Hsp70 в нейронах и глии *in vivo* [9]. Так, участие Hsp70 в различных внутриклеточных каскадах позволяет предположить, что усиление экспрессии или активности данных белков может вызвать череду нежелательных клинических реакций, что особенно вероятно при стрессовых реакциях, увеличивающих выработку молекулярных шаперонов. Возможно, таргетированная доставка Hsp70 непосредственно к клетке-мишени стала бы более безопасной альтернативой, хоть и более затратной. Целесообразность последней зависит от сравнения поступления в нервную ткань Hsp70 извне и стимуляции выработки собственных белков.

<sup>2</sup> <https://rscf.ru/project/23-25-00448/> (дата обращения: 12.06.2023).

Цель исследования: изучить морфофункциональные изменения в органах нервной и иммунной систем, а также печени при поступлении избытка экзогенного Hsp70.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Манипуляции с животными

Исследования на экспериментальных животных проводились в соответствии с ГОСТ 33215-2014 от 01.07.2016, ГОСТ 33216-2014<sup>3</sup> от 01.07.2016<sup>4</sup> и Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8<sup>th</sup> edition)<sup>5</sup>. Исследование выполнено на 30 самцах мышей аутобредной линии CD1. Количество животных рассчитано согласно стандартным правилам для дизайна экспериментов на грызунах [10]. Животные поступали из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России, пребывали в виварии с поддержанием постоянной комнатной температуры 20–22 °С и влажности 50–60 % с доступом к чистой воде и гранулированному корму *ad libitum*.

Возраст животных на начало эксперимента составлял 90 ± 3 суток, средняя масса тела 33,2 ± 2,3 г. Выбор возраста мышей был обусловлен необходимостью в полной мере оценить изменения в органах нервной и иммунной систем в связи с процессами

реорганизации коры головного мозга в более ранние периоды жизни, а также началом инволюции тимуса в более поздние периоды жизни животных. Поскольку инволюция вилочковой железы у самцов и самок происходит в разное время, для исследования были выбраны животные одного пола [11, 12].

Для исследования был выбран белок 1А семейства Hsp70 – HspA1A – как наиболее активный представитель семейства шаперонов при стрессе [13]. Для определения того, как влияет аллогенный Hsp70 на работу нервной системы, изучались поведенческие характеристики, а также клеточные популяции в центральной нервной системе. Оценка системных нежелательных эффектов при введении Hsp70 проводилась путем изучения клеточных популяций в печени как органе, осуществляющем метаболизм экзогенного Hsp70, и в органах иммунной системы (тимусе и селезенке). Дизайн эксперимента представлен на рисунке 1.

После двухнедельного карантина осуществляли рандомизацию мышей методом случайных чисел на 3 группы по 10 особей в каждую. Животных каждой группы содержали отдельно по 5 особей в клетке в отдельном помещении вивария для недопущения скученности. Все особи получили в день 0 однократные подкожные введения: 1-я группа – физиологического раствора (контроль), 2-я группа – низкой дозы

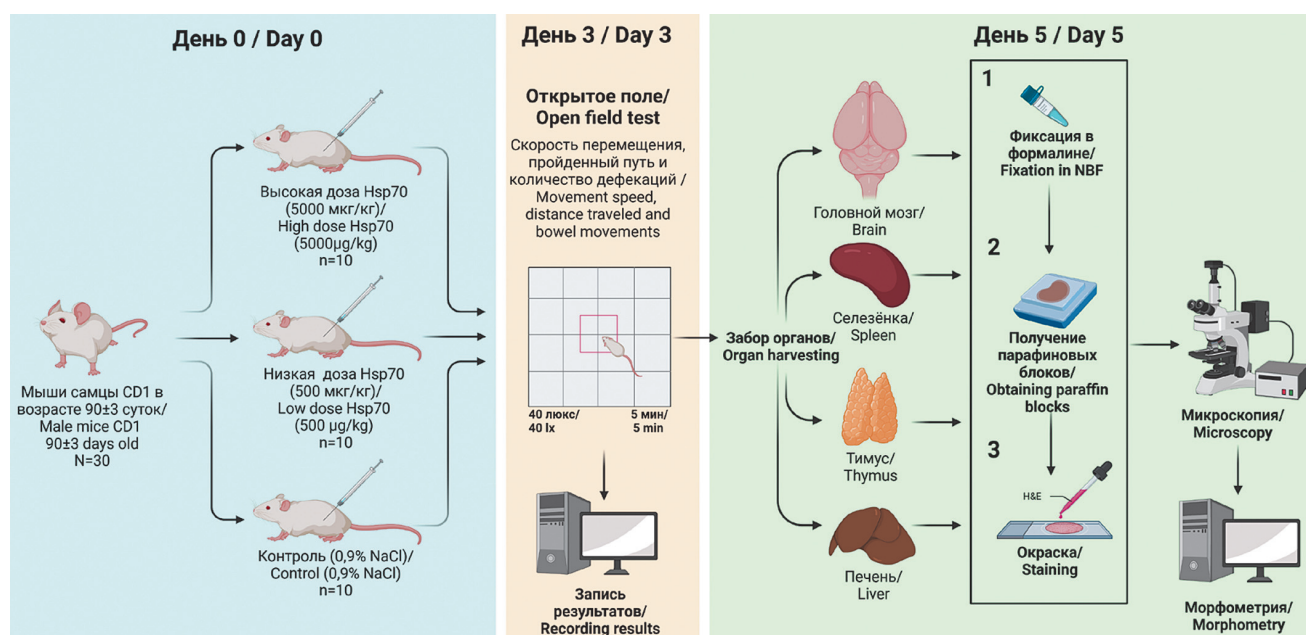


РИС. 1. Схема эксперимента.

FIG. 1. Experimental design.

Примечание: Hsp70 (heat shock 70 kDa, белок теплового шока массой 70 кДа) / рекомбинантный человеческий HspA1A.  
Note: Hsp70 (heat shock 70 kDa) / HspA1A (heat shock 70 kDa protein 1A), recombinant; NBF – Neutral Buffered Formalin.

<sup>3</sup> <https://www.internet-law.ru/gosts/gost/61242/> (дата обращения: 12.06.2023).

<sup>4</sup> <https://www.internet-law.ru/gosts/gost/62388/> (дата обращения: 12.06.2023).

<sup>5</sup> Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. Восьмое издание / пер. с англ. под ред. И.В. Белозерцевой, Д.В. Блинова, М.С. Красильщиковой. М.: ИРБИС, 2017. 336 с.

Hsp70 (рекомбинантный человеческий HspA1A, ИМБ РАН, Россия, доза – 500 мкг/кг), 3-я группа – высокой дозы Hsp70 (тот же препарат и производитель, 5000 мкг/кг).

На 3-й день после инъекции все мыши проходили физиологический тест «открытое поле» в течение двух минут в интервале времени 8:00–8:30 и при освещенности 40 люкс при помощи установки «Открытое поле для мышей» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия). За час до теста мышам давали отдохнуть в покое – исключали передвижение клетки, взятие грызунов в руки или беспокойство их каким-либо иным способом. Регистрировали показатели поведенческой активности: скорость перемещения, пройденный путь и количество дефекаций.

На 5-й день после инъекции животных выводили из эксперимента, повышая концентрацию углекислого газа во вдыхаемом ими воздухе [14].

### Морфологическое исследование

Осуществляли забор головного мозга, тимуса, селезенки и печени. После фиксации в 10 % забуференном формалине (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) и стандартной проводки через изопропиловый спирт возрастающей концентрации изготавливали гистологические препараты толщиной 5 мкм по рутинной методике с окраской гематоксилином и эозином [15]. На каждом стекле анализировали по шесть полей зрения при помощи микроскопа Axio Imager.A1 с камерой AxioCam 305 color и программным обеспечением Zen 3.3 (все – производство Zeiss, Германия).

### Морфометрия

Для определения клеток и ядер использовали программное обеспечение с открытым кодом QuPath 0.3.2, (Queen's University Belfast, Великобритания), обученное в рамках проводимых исследований на определение тех или иных структур в представляющих интерес органах и тканях [16].

На препаратах больших полушарий головного мозга в затылочной области идентифицировали количество нейронов в ганглионарном слое коры.

На срезах тимуса анализировали сохранность селекции Т-клеток, для чего в полях зрения подсчитывали отдельно количество лимфоцитов в участках коркового и мозгового веществ равной площади и вычисляли разницу между этими значениями. При этом по форме и контрастности ядер исключали эндотелиальную и ретикулоэпителиальную популяции.

На препаратах селезенки в 6 полях зрения от каждого препарата учитывали количество объектов с морфологией лимфоцита в периартериолярных лимфатических влагищах белой пульпы и количество объектов с морфологией макрофага в красной пульпе.

На срезах печени в полях зрения регистрировали количество ядер гепатоцитов в паренхиме

печеночных долек без центральных вен и триад. При морфометрии печени учитывали округлые ядра средней контрастности. Поскольку отдельные гепатоциты полиплоидны, определять непосредственно клеточность было нецелесообразно.

### Статистический анализ

Оценивали нормальность распределения по критерию Колмогорова – Смирнова. Все полученные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля), а также среднего арифметического со стандартной ошибкой среднего. Для сравнения групп использовался однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). При наличии значимых различий в ANOVA попарное сравнение между группами проводили с помощью апостериорного (*post hoc*) теста Тьюки. Принятый уровень значимости  $p < 0,05$ . Для проведения статистического анализа использовались пакеты программного обеспечения Microsoft Excel (Microsoft, США) и OriginPro (OriginLab, США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

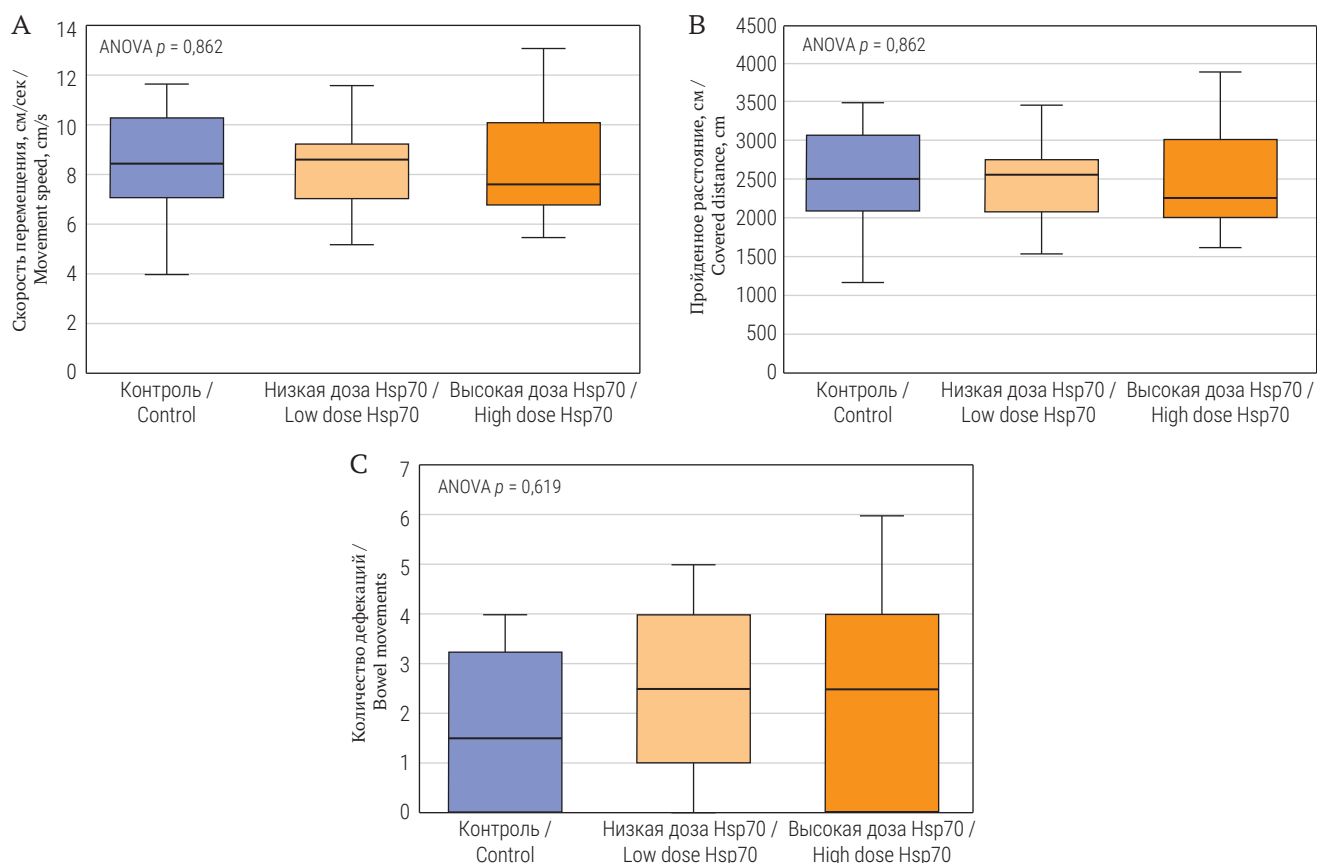
### Тест «открытое поле»

Анализ двигательной активности показал, что в группе контроля грызуны двигались со средней скоростью  $8,9 \pm 1,0$  см/с, в группе Hsp70 500 мкг/кг –  $8,4 \pm 0,6$  см/с, а в группе Hsp70 5000 мкг/кг –  $8,4 \pm 0,7$  см/с (рис. 2А). Результаты для пройденного пути: мыши группы контроля в среднем перемещались на  $2671,7 \pm 292,1$  см, группы Hsp70 500 мкг/кг –  $2507,8 \pm 167,0$  см, группы Hsp70 5000 мкг/кг –  $2524,7 \pm 222,7$  см (рис. 2В). У мышей группы контроля отмечено в среднем  $1,7 \pm 0,5$  дефекации, в группе Hsp70 500 мкг/кг –  $2,5 \pm 0,5$  и в группе Hsp70 5000 мкг/кг –  $2,2 \pm 0,7$  дефекации (рис. 2С). Количество болюсов при одном испражнении варьировало во всех группах в пределах 1–3 штук. По всем изученным параметрам статистически значимых различий между группами в тесте «открытое поле» не выявлено.

При гистологическом исследовании головного мозга у мышей всех групп были выявлены сохраняющаяся цито- и миелоархитектоника, нейроны и глия были распределены равномерно (рис. 3). Гистологическая картина всех трех групп соответствовала норме.

При оценке иммуноморфологических эффектов Hsp70 на срезах тимуса у животных всех трех групп структура как коркового, так и мозгового вещества хорошо визуализируется, признаки структурных изменений отсутствуют, визуальных различий между группами не выявлено (рис. 3).

На срезах белой пульпы селезенки для всех трех групп отличных от нормальных структурных признаков не обнаружено. В красной пульпе не отмечено накопления специфических пигментов, а отдельные макрофаги хорошо различимы, при этом их



**РИС. 2.** Поведенческие показатели взрослых мышей в тесте «открытое поле» на третьи сутки после однократного введения низкой или высокой дозы Hsp70.

**FIG. 2.** Behavior of adult mice in “open field” test on Day 3 after single injections of Hsp70 at low or high dose.

количество выглядит меньшим в группе Hsp70 5000 мкг/кг (рис. 3).

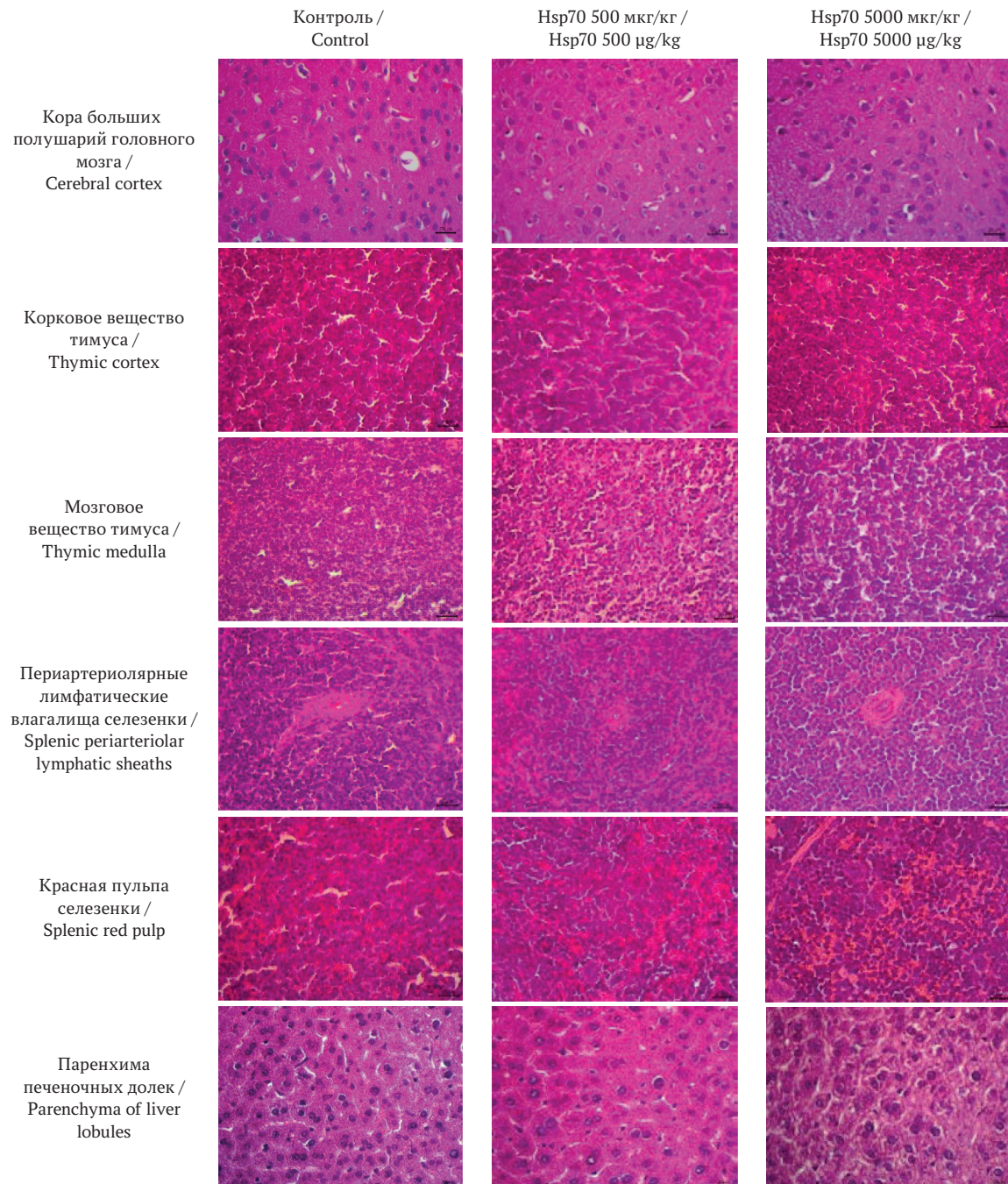
В ткани печени для всех трех групп структура органа была не нарушена. Синусоидные капилляры в группе контроля и группе Hsp70 500 мкг/кг оказались немного шире и полнокровнее по сравнению с Hsp70 5000 мкг/кг (рис. 3).

При проведении морфометрического анализа (рис. 4А) у мышей группы контроля в ганглионарном слое коры больших полушарий головного мозга в среднем определено  $34,6 \pm 1,6$  нейрона в поле зрения, группы Hsp70 500 мкг/кг –  $25,2 \pm 1,4$  клетки, группы Hsp70 5000 мкг/кг –  $27,2 \pm 1,7$  нейрона. На срезах вилочковой железы (рис. 4В) разница лимфоцитарной клеточности между корковым и мозговым веществом для группы контроля –  $398,7 \pm 30,4$  клетки, группы Hsp70 500 мкг/кг –  $274,9 \pm 36,1$  клетки, группы Hsp70 5000 мкг/кг –  $407,6 \pm 42,8$  клетки. В периадериолярных лимфатических влагалищах (рис. 4С) в селезенке у животных группы контроля выявлено  $2091,6 \pm 33,4$  лимфоцита, группы Hsp70 500 мкг/кг –  $2040,0 \pm 15,7$  клетки, группы Hsp70 5000 мкг/кг –  $1987,4 \pm 20,9$ . Хотя наблюдались отдельные пики в группах, распределение соответствовало нормальному и все три выборки

из генеральных совокупностей перекрывали друг друга. Статистически значимых различий между группами по числу нейронов, разнице лимфоцитарной клеточности между корковым и мозговым веществом и числу лимфоцитов в периадериолярных лимфатических влагалищах не выявлено.

В красной пульпе (рис. 4Д) результаты морфометрии выявили различия в группах исследования. Так, у мышей группы контроля определено  $1774,5 \pm 24,8$  макрофага, в группах Hsp70 число макрофагов уменьшалось в зависимости от введенной дозы: 500 мкг/кг –  $1623,0 \pm 26,7$  клетки, 5000 мкг/кг –  $1553,6 \pm 47,0$ . Различия между группами статистически значимы ( $p < 0,0001$ ). В апостериорном тесте Тьюки статистически значимые различия получены при сравнении группы контроля с группами Hsp70 500 мкг/кг ( $p < 0,05$ ) и 5000 мкг/кг ( $p < 0,0001$ ).

При морфометрическом анализе срезов печени (рис. 4Е) у мышей группы контроля определено  $122,5 \pm 4,2$  гепатоцита, группы Hsp70 500 мкг/кг –  $129,5 \pm 3,6$  клетки, группы Hsp70 5000 мкг/кг –  $115,7 \pm 3,6$ . Полученное значение  $p$  находилось на границе принятого уровня статистической значимости ( $p = 0,053$ ), в тесте Тьюки разница между



**РИС. 3.** Гистологические препараты органов мышей на пятые сутки после однократного введения низкой или высокой дозы Hsp70. Окраска гематоксилином и эозином, об.×40, ок.×20.

**FIG. 3.** Histological slides of murine organs on Day 5 after single injections of Hsp70 at low or high dose. Hematoxylin and eosin staining, ob.×40, oc.×20.

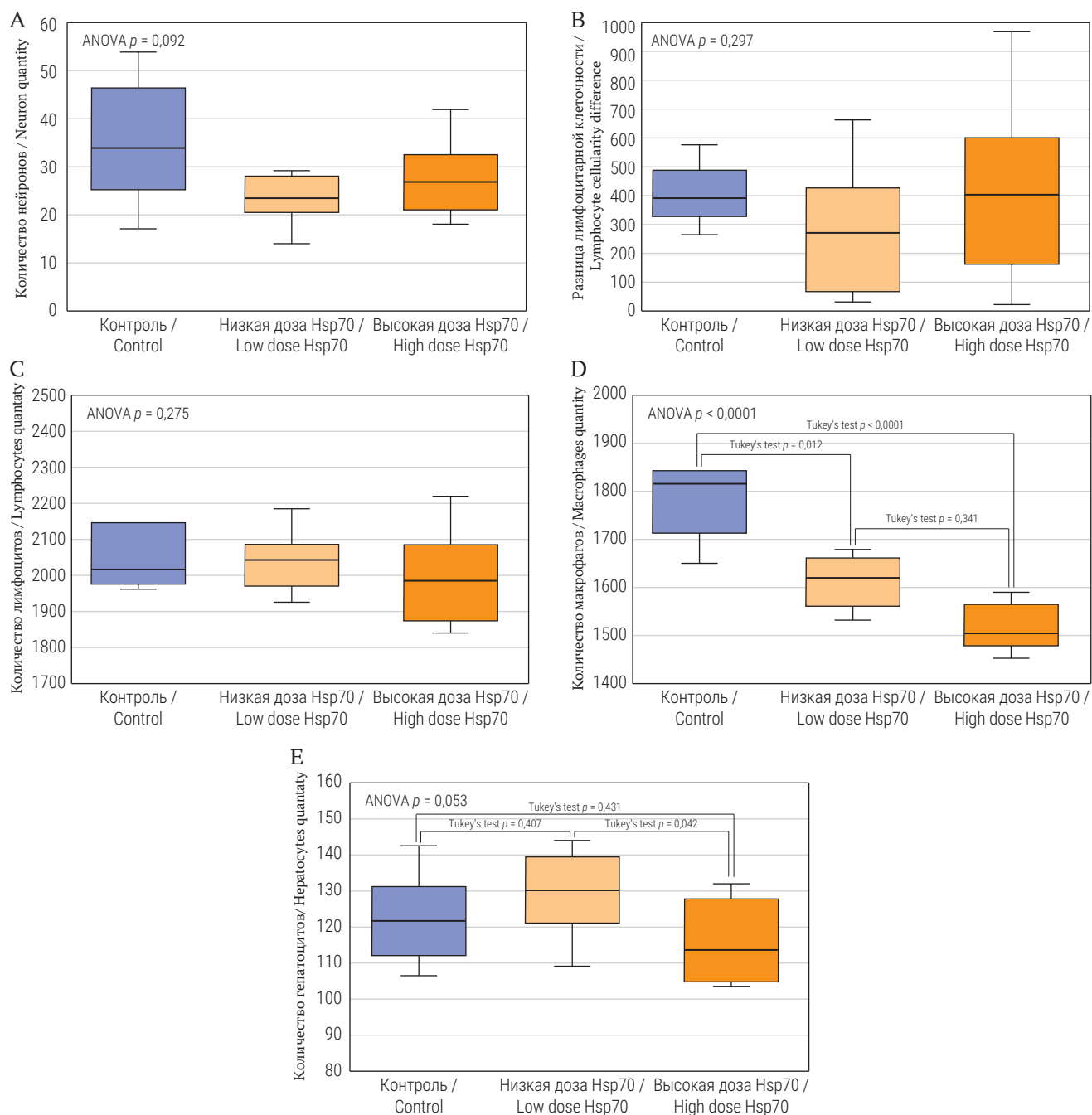
группами Hsp70 500 мкг/кг и 5000 мкг/кг статистически значима.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами результаты показали, что на фоне подкожного введения Hsp70 (рекомбинантного человеческого HspA1A) функциональные реакции у мышей не пострадали и остались в пределах значений, определенных для группы контроля,

при низкой (500 мкг/кг) и высокой дозировках (5000 мкг/кг) препарата. Также продемонстрирована толерантность нейронов ганглионарного слоя коры головного мозга к однократным высоким дозам подкожно вводимого Hsp70.

Обнаружена устойчивость тимуса к возможному повреждающему воздействию экзогенного Hsp70, несмотря на близкий к началу инволюции возраст грызунов. На фоне введения Hsp70 оказались



**РИС. 4.** Морфометрические показатели у мышей на пятые сутки после однократного введения низкой или высокой дозы Hsp70 при подсчете в 6 полях зрения. Об.×40, ок.×20.

**FIG. 4.** Morphometrics in mice on Day 5 after single injections of Hsp70 at low or high dose, 6 fields of view. Ob.×40, oc.×20.

индифферентны и медиаторные клеточные элементы иммунной системы в периартериолярных лимфатических влагиалищах. На примере ткани печени также продемонстрировано, что при введении рекомбинантного человеческого Hsp70 не произошло негативных изменений в метаболически активных органах. Интересно, что введение высоких доз Hsp70 статистически значимо приводило к некоторому уменьшению числа гепатоцитов, при этом обе выборки не имеют различий с таковой для контрольной

группы. Вероятно, высокие дозы Hsp70 имеют незначительное воздействие на печеночную паренхиму, но оно, тем не менее, не выходит за пределы нормальной вариативности.

При этом отмечена тенденция к меньшему кровенаполнению синусоидных капилляров при повышении дозы Hsp70. Возможно, такой эффект дает взаимодействие Hsp70 с фагоцитирующими клетками в красной пульпе селезенки. Наблюдаемое нами уменьшение количества макрофагов могло

способствовать изменениям в метаболизме компонентов гема, что теоретически могло сказаться на утилизации продуктов распада гема. Настоящее явление требует тщательного подробного изучения в дальнейшем.

Мы предполагаем, что наблюдаемые нами изменения в красной пульпе селезенки в виде тенденции к сокращению количества макрофагов при повышении дозы Hsp70 (при том, что при *post hoc* анализе не получено данных о дозозависимом характере таких изменений) могут служить приспособительной реакцией антиген-представляющих клеток к воздействию маркера вводимого экзогенного Hsp70 как белка стресса. При этом сами различия в моноцитарно-макрофагальном звене между группами исследования не уникальны [17]. Отметим, что в литературе есть данные и о противоположных эффектах, особенно при длительном воздействии Hsp70 и на фоне онкопатологии [18, 19].

Применение Hsp70 для настоящего исследования требовало тщательного подбора релевантного режима дозирования. Дизайн рандомизации на введение однократно подкожно 500 или 5000 мкг/кг рекомбинантного человеческого HspA1A в качестве низко- и высокодозовых режимов соответственно разработан после изучения описанных в литературе альтернатив. Так, не приводил к повреждению тканей вводимый внутрибрюшинно Hsp70 по 200 мкг/кг в течение 21 дня [17] или подкожно по 50 мкг/кг в течение 14 суток [20]. Неинъекционное применение без патологических реакций описано для интраназального введения, например по 2 мкг/кг в течение 9 месяцев [21]. Существуют разработки по таргетированной доставке рекомбинантного человеческого Hsp70 при помощи инкапсуляции, продемонстрировавшие системные провоспалительные свойства белка в виде эффективного снижения выработки активных форм кислорода и фактора некроза опухоли [22].

Мы обратили внимание на подкожный путь введения как на наименее изученный, в том числе в во-

просе проникновения экзогенного Hsp70 через гематоэнцефалический барьер. Учитывая диапазон доз Hsp70 по данным источников, мы выбрали максимально высокие дозы в 5000 мкг/кг рекомбинантного человеческого HspA1A, не приводившие к фатальным последствиям. Этим же принципом обусловлен выбор однократного воздействия, при котором возможна компенсация избытка вводимого Hsp70.

### Ограничения исследования

Разброс значений для полученных данных неизбежно велик, поскольку выборка была малой. Это необходимое ограничение пилотного эксперимента в силу этических соображений.

### Направления для дальнейших исследований

На основании полученных результатов не до конца ясно, позволяет ли гематоэнцефалический барьер экзогенному Hsp70 проникнуть в нервную ткань при подкожном введении. Это побуждает сравнивать разные способы введения для оценки состояния нервной ткани при введении данного белка.

### ВЫВОДЫ

Подкожное введение высоких и низких доз экзогенного Hsp70 трехмесячным мышам не показало статистически значимого воздействия на органы нервной (кора головного мозга) и иммунной систем (тимус, селезенка), а также печень. Полученные функциональные и гистологические результаты демонстрируют отсутствие негативного воздействия при однократном введении даже высоких (5000 мкг/кг) дозировок рекомбинантного человеческого HspA1A. Это дает возможность дальнейших разработок в области применения Hsp70 при нейродегенеративных заболеваниях с учетом минимальных нежелательных морфофункциональных проявлений. Кроме того, результаты исследования облегчают титрование предельных доз рекомбинантного человеческого Hsp70 при подкожном введении.

### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Gennadii A. Piavchenko, and Artem A. Venediktov contributed equally to this work and should be considered as co-first authors. Gennadii A. Piavchenko, Artem A. Venediktov, and Sergey L. Kuznetsov designed the study. Gennadii A. Piavchenko, Artem A. Venediktov, and Egor A. Kuzmin provided manipulations with animals and physiological testing. Egor A. Kuzmin made histological slides. Gennadii A. Piavchenko, and Artem A. Venediktov carried out morphometrics and statistical calculations for the results, and wrote the text of the article. All the authors read and approved the final version of this manuscript.

### ВКЛАД АВТОРОВ

Г.А. Пьявченко и А.А. Венедиктов в равной степени внесли вклад в работу и должны считаться первыми соавторами. Г.А. Пьявченко, А.А. Венедиктов и С.Л. Кузнецов разработали дизайн исследования. Г.А. Пьявченко, А.А. Венедиктов и Е.А. Кузьмин осуществляли подготовку животных и проводили физиологические тесты. Е.А. Кузьмин изготавливал гистологические препараты. Г.А. Пьявченко, А.А. Венедиктов выполняли морфометрию, статистическую обработку результатов и написали текст работы. Все авторы утвердили окончательную версию статьи.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Кудрявцевой В.А., Моисеевой А.В., Бойковой П.В., Гореловой М.А. – студентам ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) и Сердюк Е.А. – врачу КФ ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени С.Н. Федорова» в г. Белгороде за помощь в проведении исследования и обсуждение полученных результатов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hagymasi A.T., Dempsey J.P., Srivastava P.K. Heat-Shock proteins. *Curr Protoc.* 2022; 2(11): e592. <https://doi.org/10.1002/cpz1.592>. PMID: 36367390
2. Albakova Z., Armeev G.A., Kanevskiy L.M., et al. HSP70 multifunctionality in cancer. *Cells.* 2020 Mar 2; 9(3): 587. <https://doi.org/10.3390/cells9030587>. PMID: 32121660
3. Roodveldt C., Outeiro T.F., Braun J.E.A. Editorial: Molecular Chaperones and neurodegeneration. *Front Neurosci.* 2017; 11: 565. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00565>. PMID: 29085276
4. Магнаева А.С., Баранич Т.И., Воронков Д.Н. и др. Иммуногистохимическая оценка шаперон-индуцируемой аутофагии в различных отделах головного мозга человека при старении. *Морфологические ведомости.* 2023; 31(1): 724. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(1\).724](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(1).724) / Magnaeva A.S., Baranich T.I., Voronkov D.N., et al. Immunohistochemical evaluation of chaperon-induced autophagy in various parts of the human brain during aging. *Morfologicheskiye vedomosti – Morphological newsletter.* 2023; 31(1): 724 (In Russian). [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(1\).724](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(1).724)
5. Юринская М.М., Фуников С.Ю., Евгеньев М.Б., Винокуров М.Г. Экзогенный белок теплового шока HSP70 снижает реакцию клеток нейробластомы человека на липополисахарид. *Докл Биохим Биофизика.* Июль 2016; 469(1): 239–243. <https://doi.org/10.1134/S1607672916040025>. Epub 2016 Sep 7. PMID: 27599502 / Yurinskaya M.M., Funikov S.Y., Evgen'ev M.B., Vinokurov M.G. Exogenous heat shock protein HSP70 reduces response of human neuroblastoma cells to lipopolysaccharide. *Dokl Biochem Biophys.* 2016 Jul; 469(1): 239–243 (In Russian). <https://doi.org/10.1134/S1607672916040025>. Epub 2016 Sep 7. PMID: 27599502
6. Лазарев В.Ф., Дутышева Е.А., Утепова И.А. и др. Применение активаторов синтеза белков теплового шока в качестве нейропротекторов. III объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов. Материалы: VII съезд биохимиков России. X российский симпозиум «Белки и пептиды». VII съезд физиологов СНГ, Сочи, Дагомыс, 3–8 октября 2021 года. Том 2. М.: Издательство «Перо», 2021; 55–56. ISBN: 978-5-00189-678-4 / Lazarev V.F., Dutsheva E.A., Utepova I.A., et al. Heat shock protein synthesis activators: usage for neuroprotection. III United Scientific forum of physiologists, biochemists, and molecular biologists. Materials of VII Congress of biochemists of Russia. X Russian symposium about proteins and peptides. VII congress of CIS physiologists, Sochi, Dagomys, Oct. 3–8 2021. Vol. 2. Moscow: Pero Publ., 2021; 55–56 (In Russian). ISBN: 978-5-00189-678-4
7. Venediktov A., Bushueva O., Kudryavtseva V., et al. Closest horizons of Hsp70 engagement to manage neurodegeneration. *Front. Mol. Neurosci. Sec. Molecular Signalling and Pathways.* 2023; 16. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1230436>
8. Zatssepina O.G., Evgen'ev M.B., Garbuz D.G. Role of a Heat Shock transcription factor and the major Heat Shock protein Hsp70 in memory formation and neuroprotection. *Cells.* 2021; 10: 1638. <https://doi.org/10.3390/cells10071638>. PMID: 34210082
9. Kalmar B., Greensmith L. Cellular chaperones as therapeutic targets in ALS to restore protein homeostasis and improve cellular function. *Front Mol Neurosci.* 2017; 10(9): 251. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00251>
10. Festing M.F.W., Altman D.G. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR J.* 2002; 43(4): 244–258. <https://doi.org/10.1093/ilar.43.4.244>. Erratum in: *ILAR J.* 2005; 46(3): 320. PMID: 12391400
11. Baran-Gale J., Morgan M.D., Maio S., et al. Ageing compromises mouse thymus function and remodels epithelial cell differentiation. *Elife.* 2020; 9: e56221. <https://doi.org/10.7554/eLife.56221>. PMID: 32840480
12. Yousefzadeh M.J., Zhao J., Bukata C., et al. Tissue specificity of senescent cell accumulation during physiologic and accelerated aging of mice. *Aging Cell.* 2020 Mar; 19 (3): e13094. <https://doi.org/10.1111/acer.13094>. Epub 2020 Jan 25. PMID: 31981461
13. Rai R., Kennedy A.L., Isingizwe Z.R., et al. Similarities and differences of Hsp70, Hsc70, Grp78, and mortalin as cancer biomarkers and drug targets. *Cells.* 2021; 10(11): 2996. <https://doi.org/10.3390/cells10112996>. PMID: 34831218
14. Moody C.M., Makowska I.J., Weary D.M. Testing three measures of mouse insensibility following induction with isoflurane or carbon dioxide gas for a more humane euthanasia. *Applied Animal Behaviour Science.* 2015; 163: 183–187. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.11.010>
15. Feldman A.T., Wolfe D. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Methods Mol Biol.* 2014; 1180: 31–43. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1050-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1050-2_3). PMID: 25015141
16. Bankhead P., Loughrey M.B., Fernández J.A., et al. QuPath: Open-source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 16878. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5>. PMID: 29203879
17. Lee C.H., Su T.C., Lee M.S., et al. Heat shock protein 70 protects the lungs from hyperoxic injury in a neonatal rat model of bronchopulmonary dysplasia. *PLoS One.* 2023; 18(5): e0285944. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285944>. PMID: 37200358
18. Son H., Choi H.S., Baek S.E., et al. Shear stress induces monocyte/macrophage-mediated inflammation by upregulating cell-surface expression of heat shock proteins. *Biomed Pharmacother.* 2023; 161: 114566. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114566>. Epub 2023 Mar 22. PMID: 36963359
19. Yamaguchi-Tanaka M., Takagi K., Miki Y., et al. The pro-tumorigenic role of chemotherapy-induced extracellular HSP70 from breast cancer cells via intratumoral macrophages. *Cancers (Basel).* 2023; 15(6): 1903. <https://doi.org/10.3390/cancers15061903>. PMID: 36980788
20. Kao J.K., Hsu T.F., Lee M.S., et al. Subcutaneous injection of recombinant heat shock protein 70 ameliorates atopic dermatitis skin lesions in a mouse model. *Kaohsiung J Med Sci.* 2020; 36(3): 186–195. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12163>. Epub 2020 Jan 6. PMID: 31904187

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors express their gratitude to Kudryavtseva V.A., Moiseeva A.V., Boykova P.V., Gorelova M.A. (students of Sechenov University), and Serdyuk E.A. (doctor of the Fyodorov Eye Microsurgery, Belgorod) for assistance in conducting the study and discussing the results obtained.

21. Bobkova N.V., Evgen'ev M., Garbuz D.G., et al. Exogenous Hsp70 delays senescence and improves cognitive function in aging mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015; 112(52): 16006–16011. <https://doi.org/10.1073/pnas.1516131112>. Epub 2015 Dec 14. PMID: 26668376
22. Yurinskaya M.M., Kochetkova O.Y., Shabarchina L.I., et al.

Encapsulated Hsp70 decreases endotoxin-induced production of ROS and TNF $\alpha$  in human phagocytes. *Cell Stress Chaperones*. 2017; 22(1): 163–171. <https://doi.org/10.1007/s12192-016-0743-z>. Epub 2016 Oct 26. Erratum in: *Cell Stress Chaperones*. 2017 Mar; 22(2): 317. PMID: 27783274

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Пьявченко Геннадий Александрович**, канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7782-3468>

**Gennadii A. Piavchenko**, Cand. of Sci. (Medicine), Associate Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7782-3468>

**Венедиктов Артем Андреевич**<sup>✉</sup>, аспирант и ассистент кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5604-0461>

**Artem A. Venediktov**<sup>✉</sup>, postgraduate student and Assistant Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5604-0461>

**Кузьмин Егор Александрович**, студент, лаборант кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4098-1125>

**Egor A. Kuzmin**, student, lab assistant, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4098-1125>

**Кузнецов Сергей Львович**, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>

**Sergey L. Kuznetsov**, Corresponding Member of the RAS, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## ***In silico* предсказание взаимодействия транскрипционного фактора и энхансера как первого этапа регуляции аксонального роста**

**Д.Д. Котельников, И.А. Синякин, Е.А. Бородин<sup>✉</sup>, Т.А. Баталова**  
ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России  
ул. Горького, д. 95, г. Благовещенск, 675001, Россия

### **Аннотация**

Развитие нейродегенеративных заболеваний ассоциировано с правильным формированием нейронной цепи – аксональным наведением. Среди ключевых регуляторов аксонального наведения – рецептор DCC (deleted in colorectal cancer / colorectal cancer suppressor, супрессор колоректального рака) и белок SHH (sonic hedgehog protein, «сверхзвуковой ёжик»).

**Цель.** Предсказание взаимодействия определенных энхансерных областей генов *DCC* и *SHH* с аннотированными для них факторами транскрипции.

**Материалы и методы.** Проведено исследование *in silico*. Для оценки силы энхансерной последовательности выбраны алгоритмы iEnhancer-2L и ES-ARCNN. Анализ взаимодействия транскрипционного фактора с энхансерной последовательностью производился с использованием метода молекулярного докинга. Энхансерная последовательность генов белков DCC и SHH взята из открытой базы данных NCBI в FASTA-формате. Для картирования энхансеров использовалась база Ensembl, для отбора потенциальных энхансеров и транскрипционных факторов к ним – GeneCards. Структуры транскрипционных факторов, а также их ДНК-связывающие домены были взяты из базы данных UniProtKB/Swiss-prot. В качестве метрики оценки возможности взаимодействия транскрипционных факторов с целевой энхансерной последовательностью использована оценочная функция (score).

**Результаты.** Результаты исследования показали, что взаимодействие транскрипционного фактора NANOG с энхансерной последовательностью гена *DCC* и взаимодействие транскрипционного фактора CEBPA с энхансерной последовательностью гена *SHH*, предсказанные путем метода межмолекулярного докинга, являются потенциально возможными. Алгоритмы iEnhancer-2L и ES-ARCNN предсказали энхансерную последовательность гена *SHH* как сильную. Энхансерная последовательность гена *DCC* в алгоритме iEnhancer-2L оценена как сильная, в ES-ARCNN – как слабая. Связывание энхансерной последовательности гена *DCC* с транскрипционным фактором NANOG на промежутках 1–206 bp и 686–885 bp является наиболее вероятным, связывание энхансерной последовательности гена *SHH* с транскрипционным фактором CEBPA на промежутке 1–500 bp (ограничение HDCK в 500 bp) является возможным.

**Заключение.** Примененные методики в исследовании *in silico* продемонстрировали удовлетворительные результаты предсказания взаимодействия транскрипционного фактора с энхансерной последовательностью. Ограничением методики является отсутствие учета конкретных сайтов связывания транскрипционных факторов с дезоксирибонуклеиновой кислотой. Этот недостаток может быть устранен включением в пайплайн *ab initio* метода молекулярной динамики.

**Ключевые слова:** молекулярный докинг; *in silico*; *DCC*; *SHH*; сайт связывания; CEBPA; NANOG; SITECON

### **Рубрики MeSH:**

АКСОНЫ

ТРАНСКРИПЦИИ ФАКТОРЫ – АНАЛИЗ

ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ РЕГУЛЯЦИЯ

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

**Для цитирования:** Котельников Д.Д., Синякин И.А., Бородин Е.А., Баталова Т.А. *In silico* предсказание взаимодействия транскрипционного фактора и энхансера как первого этапа регуляции аксонального роста. Сеченовский вестник. 2023; 14(4): 42–50. Публикация онлайн 29.11.2023. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.907.12>

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

**Бородин Евгений Александрович**, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой химии ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России

**Адрес:** ул. Горького, д. 95, г. Благовещенск, 675001, Россия

**Тел.:** +7 (962) 284-06-40

**E-mail:** borodin54@mail.ru

**Соответствие принципам этики.** Утверждение протокола Локальным этическим комитетом не требовалось, так как исследование не проводилось на людях или лабораторных животных.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки (собственные ресурсы).

**Поступила:** 24.08.2023

**Принята:** 28.09.2023

**Дата публикации онлайн:** 29.11.2023

**Дата печати:** 30.11.2023

## ***In silico* prediction of the transcription factor-enhancer interaction as a first stage of axonal growth regulation**

**Danil D. Kotelnikov, Ivan A. Sinyakin, Evgeny A. Borodin✉, Tatyana A. Batalova**

*Amur State Medical Academy*

*95, Gorky str., Blagoveshchensk, 675001, Russia*

### **Abstract**

The development of neurodegenerative diseases is associated with proper neuronal circuit formation, axonal guidance. The DCC receptor (deleted in colorectal cancer / colorectal cancer suppressor) and SHH (sonic hedgehog protein) are among the key regulators of axonal guidance.

**Aim.** Interaction prediction of specific enhancer regions of *DCC* and *SHH* genes with respectively annotated transcription factors.

**Materials and methods.** An *in silico* study was performed. The iEnhancer-2L and ES-ARCNN algorithms were selected to estimate enhancer sequence strength. The interaction between transcription factor and enhancer sequence was assessed using the molecular docking method. The enhancer sequence of *DCC* and *SHH* protein genes were taken from the NCBI open-source database in FASTA format. Ensembl database was used for enhancer mapping, GeneCards was used for screening and selection of potentially appropriate enhancers and transcription factors associated with these enhancers. The structures of transcription factors as well as their DNA-binding domains were taken from the UniProtKB/Swiss-prot database. An HDock scoring function was used as a metric for assessing the possibility of interaction of the target gene transcription factor with associated enhancer sequence.

**Results.** The results showed that the interactions of transcription factor NANOG with the *DCC* gene enhancer sequence and the interaction of transcription factor CEBPA with the *SHH* gene enhancer sequence predicted by molecular docking method are potentially possible. The iEnhancer-2L and ES-ARCNN algorithms predicted the enhancer sequence of the *SHH* gene as strong one. The enhancer sequence of the *DCC* gene was estimated as strong in the iEnhancer-2L algorithm and as weak in ES-ARCNN. Binding of the *DCC* gene enhancer sequence to the transcription factor NANOG at 1–206 bp and 686–885 bp sites is the most probable, binding of the *SHH* gene enhancer sequence to the transcription factor CEBPA at 1–500 bp (HDock limitation of 500 bp) is possible.

**Conclusion.** *In silico* techniques applied in this study demonstrated satisfactory results of predicting the interaction of the transcription factor with the enhancer sequence. Limitations of the current techniques is the lack of consideration of specific transcription factor binding sites. This drawback can be eliminated by implementing an *ab initio* molecular dynamics simulations into the present pipeline.

**Keywords:** molecular docking; *in silico*; *DCC*; *SHH*; binding site; CEBPA; NANOG; SITECON

**MeSH terms:**

AXONS

TRANSCRIPTION FACTORS – ANALYSIS

GENE EXPRESSION REGULATION  
COMPUTER SIMULATION

**For citation:** Kotelnikov D.D., Sinyakin I.A., Borodin E.A., Batalova T.A. *In silico* prediction of the transcription factor-enhancer interaction as a first stage of axonal growth regulation. *Sechenov Medical Journal*. 2023; 14(4): 42–50. Epub ahead of print 29.11.2023. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.907.12>

## CONTACT INFORMATION

**Evgeny A. Borodin**, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Chemistry, Amur State Medical Academy  
**Address:** 95, Gorky str., Blagoveshchensk, 675001, Russia  
**Tel.:** +7 (962) 284-06-40  
**E-mail:** borodin54@mail.ru

**Ethics statements.** No ethical approval by the local Ethics Committee was required since the study was not conducted on humans or laboratory animals.

**Conflict of interests.** The authors declare that there is no conflict of interests.

**Financial support.** The study was not sponsored (own resources).

**Received:** 24.08.2023

**Accepted:** 28.09.2023

**Date of publication online:** 29.11.2023

**Date of publication:** 30.11.2023

## Список сокращений:

Bp – base pairs, пары оснований

DCC – deleted in colorectal cancer / colorectal cancer suppressor, супрессор колоректального рака

SHH – sonic hedgehog, «сверхзвуковой ёжик»

TFBS – transcription factor-binding site, сайт связывания транскрипционного фактора

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЭП – энхансерная последовательность

ТФ – транскрипционный фактор

Методика машинного обучения начала широко применяться в области биомедицины для поиска потенциальных лигандов, в дальнейшем используемых как фармакологические мишени [1]. Классически можно определить энхансеры как цис-действующие последовательности дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), функцией которых является увеличение транскрипции (экспрессии) гена. Как правило, они функционируют независимо от ориентации и на различных расстояниях от промотора-мишени (или промоторов) [2]. Одним из необходимых условий для функционирования энхансеров является доступность их сайта связывания транскрипционного фактора (transcription factor-binding site, TFBS), то есть сам энхансер и промотор, как и непосредственно последовательность ДНК какого-либо гена, должны находиться в деконденсированном состоянии [3]. Длина обычной энхансерной последовательности (ЭП) составляет примерно 100–1000 bp (base pairs, пары оснований).

Функционально оценить работу энхансера можно путем использования нескольких метрик, например типа предполагаемого для связывания транскрипционного фактора (ТФ), ориентацию (местоположение) энхансера, его аффинность; порядок, число и расстояние между несколькими TFBS на протяжении всего энхансера и, в конечном счете, лежащую в основе топологию ДНК, в совокупности именуемой

«энхансерной архитектурой» [4]. Возможность потенциального управления энхансерами как одними из элементов регуляции экспрессии белка является важной задачей в современной молекулярной биологии.

Центральной проблемой в понимании регуляции генов остается объяснение того, как отбираются специфические наборы генов для экспрессии во время роста клеток, дифференцировки или в ответ на сигналы окружающей среды. Основная цель: определить, как геном фиксированного размера устанавливает огромный набор различных программ развития. Вся информация, необходимая для регуляторных функций, опосредованных энхансерами и промоторами, закодирована в последовательности ДНК с помощью их уникальной комбинации модулей [5]. То есть каждый отдельный модуль связывает один или более ТФ, выполняя таким образом одну из функций всего регуляторного элемента. Кроме того, определенные модули могут служить центральными блоками переключения, соответственно реагируя на входные данные от других модулей того же элемента [5].

Структурные и функциональные исследования ТФ показали, что они представляют собой модульные белки, несущие отдельные области, предназначенные для различных функций: ДНК-связывающий домен, который направляет белок к определенному

сайту ДНК, домен мультимеризации, позволяющий собирать гомо- или гетеро-мультимеры, и эффекторный домен, который может модулировать скорость транскрипции (активацию или репрессию) [5]. Модульная природа ТФ вместе с модульной архитектурой энхансеров и промоторов обеспечивает основу для комбинаторного режима экспрессии генов, а неограниченные возможности смешивания и сопоставления энхансерных и белковых модулей позволяют предположить, что может существовать бесконечное количество уникальных программ экспрессии генов, встроенных в геномы относительно ограниченного размера. Подразумевается, что энхансеры и промоторы лежат в конечных точках путей передачи сигнала, которые модифицируют ТФ. Таким образом, определенный ген экспрессируется только в том случае, если клетка воспринимает и соответствующим образом интерпретирует специфические сигналы [5].

Аксональное наведение (axonal guidance) наряду с клеточной миграцией и синаптогенезом – один из ключевых процессов, необходимый для правильного формирования нейронной цепи. Его регулирует широкий ряд сигнальных каскадов, происходящих как в самих нейронах, так и в других клетках, включая нейроглию [6].

С техническим улучшением визуализации процессов аксонального наведения как *in vivo*, так и *in vitro* показано, что с развитием нейродегенеративных заболеваний ассоциированы дефекты аксонального транспорта. Эти дефекты обусловлены генетическими мутациями, приводящими к отсутствию связывания моторных белков (кинезин, динеин) либо нарушению функции или развитию нестабильности микротрубочек [6].

Среди регуляторов аксонального наведения можно выделить рецептор DCC (deleted in colorectal cancer / colorectal cancer suppressor, супрессор колоректального рака), который конститутивно экспрессируется на поверхности аксонов. Связывание нетрина-1 с DCC вызывает хемоаттракцию [7]. Сам нетрин-1 секретируется клетками пластинки дна спинного мозга, диффундирует во внеклеточный матрикс и создает градиент, привлекающий растущие комиссуральные аксоны к вентральной срединной линии спинного мозга. Различные направляющие сигнал рецепторы на поверхности конуса роста нейрона постоянно контактируют с окружающей средой, взаимодействуя с соответствующими сигналами, высвобождаемыми клетками-мишенями, тем самым позволяя аксону правильно перемещаться по точной траектории среди многих возможных маршрутов [8]. По некоторым данным, нарушение функции работы DCC-рецептора вместе с нетрином-1 способствует гипоплазии зрительного нерва [9].

В качестве внутриклеточного регулятора аксонального направления и роста можно выделить белок SHN (sonic hedgehog protein, «сверхзвуковой ёжик»). Он играет значимую роль в опосредованном направлении аксонов комиссуральных нейронов в развивающемся спинном мозге через неканонический транскрипционно-независимый путь, взаимодействуя с рецептором Вос и представителем семейства рецепторов, сопряженных с G-белком, – рецептором SMO (Smoothed receptor). Активация киназы семейства Src через SMO под воздействием SHN направляет аксоны комиссуральных нейронов, играя ключевую роль во всем процессе роста и направления [10, 11].

**Цель работы** – предсказание взаимодействия определенных энхансерных областей генов *DCC* и *SHN* с аннотированными для них факторами транскрипции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Подготовка данных

В качестве белков-мишеней выбраны нетриновый рецептор DCC и белок SHN, принимающий опосредованное участие в процессе направленного роста аксонов.

ЭП генов белков DCC и SHN взята из открытой базы данных NCBI (National Center for Biotechnology, Национальный центр биотехнологической информации США) в FASTA-формате<sup>1,2</sup>. Для картирования энхансеров использовалась база Ensembl, для отбора потенциальных энхансеров и ТФ к ним – GeneCards.

Структуры факторов транскрипции, а также их ДНК-связывающие домены были взяты из базы данных UniProtKB/Swiss-prot.

### Поиск энхансерных последовательностей и предсказание их силы

Для выполнения эксперимента отбирались последовательности, активность которых, по данным Ensembl, наблюдалась в клетках нейрального происхождения; для генов *DCC* и *SHN* общей клеточной популяцией стали звездчатые нейроглиальные клетки астроциты. Другими важными критериями отбора стало наличие ЭП и в базе Ensembl, и в базе GeneHancer (представлена на сайте GeneCards), близкое ее расположение относительно самого гена (высокое значение Gene Association Score по GeneHancer) и наличие желаемого гена в качестве аннотированной мишени (например, *DCC*).

### Алгоритмы для оценки силы энхансерной последовательности

Для оценки силы ЭП были выбраны два алгоритма с относительно высокой точностью предсказания, удобные в использовании.

<sup>1</sup> [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC\\_000007.14?report=fasta&from=155815219&to=155815723&strand=true](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000007.14?report=fasta&from=155815219&to=155815723&strand=true) (дата обращения: 01.06.2023).

<sup>2</sup> [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC\\_000018.10?report=fasta&from=52310401&to=52313800](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000018.10?report=fasta&from=52310401&to=52313800) (дата обращения: 01.06.2023).

Первым алгоритмом выбран iEnhancer-2L<sup>3</sup> [12]. Его входными данными является предполагаемая ЭП в FASTA-формате, а выходными – список подстрок, полученных путем фрагментации исходной последовательности рамкой считывания длиной в 200 bp (модельная длина энхансера) и шагом в 1 bp, а также сила полученной подстроки. Посредством iEnhancer-2L проанализирована сила всей последовательности и в случае, если выходные данные предсказания свидетельствовали о том, что все 200 bp-подстроки являлись сильными, то и саму последовательность считали сильной. При получении разнородных данных: перемежающихся сильных, слабых и не функциональных участков энхансера делалось предположение, что структура последовательности не полностью вовлекается в связывание с факторами транскрипции, а лишь с потенциально сильными. Вычислительные возможности iEnhancer-2L ограничены при анализе очень длинных последовательностей, поэтому ЭП для гена *DCC* (3399 bp) была разбита на несколько подстрок длиной в 500 bp, эти подстроки проанализированы через iEnhancer-2L, и в качестве выходных данных отобраны те из них, которые являются сильными. Это помогает оптимизировать время, отведенное для докинга данной ЭП с фактором транскрипции.

Вторым алгоритмом для анализа силы ЭП служил ES-ARCNN [13]; его входными данными также является ЭП в FASTA-формате, а выходными – сила всей ЭП. Согласно исследованию, проведенному T. Zhang и соавт. [13], относительные точности предсказаний iEnhancer-2L и ES-ARCNN составляют 60,5 и 65,5% соответственно.

### Молекулярный докинг

Для анализа взаимодействия ТФ с ЭП был выбран метод молекулярного докинга. Это один из современных методов в вычислительной биологии, сутью которого является предсказание оптимального взаиморасположения двух биомолекул, обеспечивающее их стабильное связывание. Сам процесс представляет собой генерацию потенциально возможных конформаций/ориентаций лиганда в сайте связывания белка [14].

В качестве докинг-алгоритма для нашей работы выбран HDOCK<sup>4</sup>. Он отличается от своих типичных аналогов, так как в качестве лиганда принимает последовательность ДНК в FASTA-формате, из которой сам выстраивает структурную модель; в качестве второго субстрата связывания выступает сам ТФ, который загружается в pdb-формате. Из дополнительных настроек были указаны аннотированные

на UniProtKB ДНК-связывающие сайты ТФ, если таковые имелись [15]. Интерпретация метрик связывания осуществлялась в соответствии с правилами, указанными на сервере HDOCK. Score (скор, оценка) представляет собой результат расчета оценочных функций ITScorePP или ITScorePR и является собственной разработкой авторов, а confidence score (оценка достоверности) служит эмпирически выведенной оценочной функцией докинга и рассчитывается по формуле:

$$\text{Confidence score} = \frac{1,0}{[1,0 + e^{0,02 * (\text{Docking Score} + 150)}]}.$$

Важно уточнить, что мы не приравнивали показатель оценки к реальной энергии связывания, поскольку первая не оптимизирована с учетом экспериментальных данных.

### Анализ энхансерной последовательности на наличие сайта связывания транскрипционного фактора

Выбранные участки ЭП были проанализированы на наличие в них соответствующих TFBS при помощи модулей Find TFBS with SITECON и Find TFBS with matrices в свободном биоинформатическом программном обеспечении Unipro UGENE<sup>5</sup> [16]. Данные модули сопоставляют последовательности ДНК с уже имеющейся библиотекой SITECON, а также с позиционными матрицами весов/частот. Отобранные ЭП были загружены в FASTA-формате в Unipro UGENE, далее производился поиск TFBS: для CEBPA (CCAAT/enhancer-binding protein alpha, CCAAT/энхансер-связывающий белок альфа) были использованы модули SITECON<sup>6</sup> и матрицы весов JASPAR ID: MA0102.2 (технически применялась позиционная матрица частоты – файл в rfm-формате), для NANOG (homeobox protein NANOG, гомеобоксный белок NANOG) использовались только позиционные матрицы весов (файл в rwm-формате), взятые из базы данных HOCOMOCO<sup>7</sup> (взяты данные с quality A) и адаптированные под структуру, используемую Unipro UGENE [17]. Используемые численные показатели рассчитаны на основе эмпирических данных SELEX (SITECON для CEBPA), а также ChIP-Seq (matrix для CEBPA и NANOG). В качестве выходных данных были получены картированные участки потенциальных TFBS, среди которых учитывались имеющие наибольшую метрику score.

Визуальная интерпретация результатов осуществлялась при помощи PyMol ver. 2.5.4 (Schrödinger, LLC, США).

<sup>3</sup> <http://bliulab.net/iEnhancer-2L/> (дата обращения: 01.06.2023).

<sup>4</sup> <http://hdock.phys.hust.edu.cn/> (дата обращения: 01.06.2023).

<sup>5</sup> <http://ugene.net/ru/> (дата обращения: 01.06.2023).

<sup>6</sup> <http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/programs/sitecon/tutorial.html> (дата обращения: 01.06.2023).

<sup>7</sup> <https://hocomoco11.autosome.org/> (дата обращения: 01.06.2023).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты TFBS представлены в таблице 1.

Использованные модели ТФ, ЭП, ее локализация, длина и предсказанная сила суммированы в таблице 2.

Исследование ЭП с помощью разных алгоритмов показало разнородные результаты: с одной стороны, и iEnhancer-2L, и ES-ARCNN предсказали ЭП гена *SHH* как сильную, с другой, ЭП гена *DCC* была оценена iEnhancer-2L как сильная, а ES-ARCNN – как слабая.

Результаты связывания ЭП генов с указанными в таблице 2 факторами транскрипции приведены в таблице 3.

В соответствии с полученными в таблице 3 данными можно утверждать, что связывание ЭП гена

*DCC* с ТФ NANOG на промежутках 1–206 bp и 686–885 bp является наиболее вероятным, связывание ЭП гена *SHH* с ТФ СЕВРА на промежутке 1–500 bp (ограничение HDOCK в 500 bp) является потенциально возможным.

На рисунке представлена визуальная интерпретация результатов.

## ОБСУЖДЕНИЕ

По нашим результатам, полученным с помощью комбинации нескольких методов *in silico*, можно утверждать, что взаимодействие NANOG с ЭП гена *DCC* и взаимодействие СЕВРА с ЭП гена *SHH* является потенциально возможным и может служить релевантным предметом для будущих исследований. Поскольку в нашей работе предложен оригинальный

**Таблица 1. Данные сайта связывания транскрипционного фактора энхансерной последовательности генов *DCC* и *SHH***  
**Table 1. Transcription factor binding site data of *DCC* and *SHH* genes with target enhancer sequence**

Параметр / Parameter	Ген / Gene		
	<i>DCC</i> (1–206 bp)	<i>DCC</i> (686–885 bp)	<i>SHH</i>
Транскрипционный фактор / Transcription factor	Homeobox protein NANOG		CCAAT/enhancer-binding protein alpha CEBPA
LOGO (ChIP-Seq based)			
Найденный TFBS / Obtained TFBS	<b>PWM:</b> GCTTTTCACATGACTGA (+) (131–147 bp)	<b>PWM:</b> GGCATAGTTATGTCATC (+) (802–818 bp)	<b>SITECON :</b> GGGGATTTCCTCAAACCGCCAAGC (+) (243–266 bp) CCGGTTGGGAAATCCCCGAGTC (–) (237–260 bp)
	GTCAGTCATGTGAAAAG (–) (132–148 bp)	GGCAGAAAGATTCTGAG (–) (824–840 bp)	<b>JASPAR:</b> TTTCCCAA (+) (248–256 bp) TTGGGAAAT (–) (247–255 bp)
Оценка / Score	<b>PWM:</b> 68,6% (+), 72,8% (–)	<b>PWM:</b> 74% (+), 68,5% (–)	<b>SITECON:</b> 75,4% (+), 73,6 (–) <b>JASPAR:</b> 81% (+), 86% (–)

**Таблица 2. Итоговые данные энхансерной последовательности генов *DCC* и *SHH***  
**Table 2. Summary of enhancer sequences of *DCC* and *SHH* genes**

Белок / Protein, UniProtKB ID	Ген / Gene, Cards ID	Локализация / Localization	Длина / Length	Сила / Power	Транскрипционный фактор / Transcription factor, UniProtKB URL
<i>SHH</i> / Q15465	<i>SHH</i> (homo sapiens)/ GC07M155799	Chromosome 7: 155815219 – 155815723	505 bp	Сильная / Strong (iEnhancer-2L, ES-ARCNN)	CCAAT/enhancer-binding protein alpha (CEBPA) <sup>8</sup>
<i>DCC</i> / P43146	<i>DCC</i> (homo sapiens)/ GC18P052340	Chromosome 18: 52310401 – 52313800	3399 bp	Слабая / Weak (ES-ARCNN)  Сильная / Strong ( <b>1–206</b> , 10–209, 14–219, 25–229, <b>686–885</b> , 689–888)	Homeobox protein NANOG <sup>9</sup>

Примечание: жирным шрифтом выделены те участки энхансерной последовательности гена *DCC*, которые использовались в данном исследовании.

Note: those regions of enhancer sequences of *DCC* gene that were used in this study are highlighted in bold.

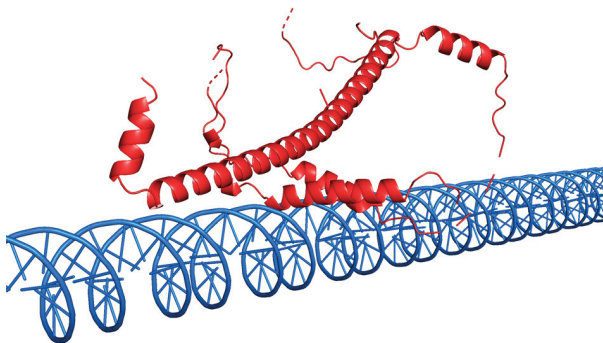
<sup>8</sup> <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P49715/entry> (дата обращения: 01.06.2023).

<sup>9</sup> <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9H9S0/entry> (дата обращения: 01.06.2023).

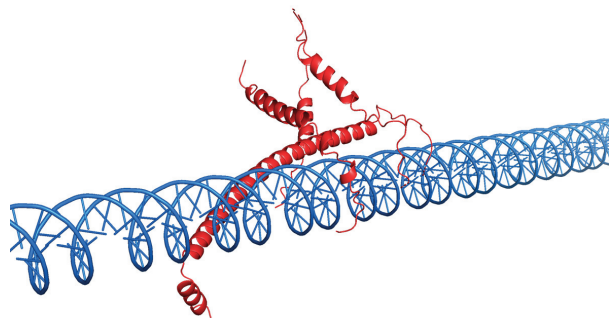
Таблица 3. Результаты докинга HDOCK  
Table 3. HDOCK docking results

Ген / Gene	Энхансерная последовательность / Enhancer sequence	Транскрипционный фактор / Transcription factor	Результаты докинга / Docking results	
			Оценка / Score	Оценка достоверности / Confidence Score
SHH	1–500 bp	CEBPA	–189,40	0,6874
DCC	1–206 bp	NANOG	–244,80	0,8694
	686–885 bp		–242,36	0,8638

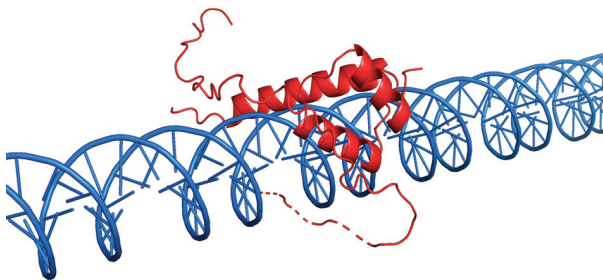
A SHH-CEBPA-complex, model 1



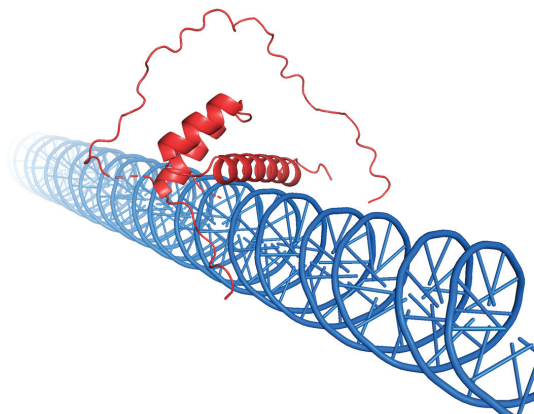
B SHH-CEBPA-complex, model 2



C DCC-NANOG-complex, 1–206 bp



D DCC-NANOG-complex, 686–885 bp



**РИС.** Визуализация успешных результатов межмолекулярного докинга.  
**FIG.** Visualization of successful docking conformations.

протокол исследования, а метрики score и confidence score привязаны к конкретному докинг-алгоритму (HDOCK), сравнение полученных данных с результатами других исследователей ограничено. Тем не менее метод молекулярного докинга уже успел зарекомендовать себя в качестве независимого. Так, в исследовании Р. Giri и соавт. [18], используя метод стыковки *in silico*, идентифицированы паттерны (AtMARK3P) у *Arabidopsis thaliana*. Из 131 изученного транскрипционного фактора лишь MYB 41 демонстрировал взаимодействие с AtMARK3P. С использованием поиска минимальной последовательности мотивов, а также с помощью метода докинга также сообщалось о нескольких новых белках, взаимодействующих с MYB, которые необходимо подтвердить киназным анализом *in vitro* [18]. Данная

работа, как и наша, демонстрирует успешное применение биоинформатического подхода на начальных этапах эксперимента в качестве хорошего прогностического моделирования.

В работе отечественных ученых А.М. Андрианова и соавт. [19] методами виртуального скрининга и молекулярного моделирования идентифицированы шесть потенциальных пептидомиметиков кросс-реактивного нейтрализующего анти-ВИЧ-1 (вирус иммунодефицита человека) антитела N6, способных имитировать фармакофорные свойства этого иммуноглобулина путем специфических и эффективных взаимодействий с CD4-связывающим сайтом белка gp120 оболочки вируса ВИЧ [19]. Показано, что ключевую роль в связывании этих соединений с белком gp120 играют ван-дер-ваальсовы взаимодействия

с консервативными остатками Phe43-полости гликопротеина, критическими для присоединения ВИЧ-1 к клеточному рецептору CD4, а также водородная связь с остатком Asp-368gp120, образование которой увеличивает химическое сродство без активации нежелательного аллостерического эффекта [19]. На основе полученных результатов авторами был сделан вывод о том, что идентифицированные соединения могут рассматриваться в качестве перспективных кандидатов для проведения детальных экспериментальных исследований с целью их дальнейшего использования в работах по созданию новых противовирусных препаратов. Таким образом, можно утверждать, что *in silico* исследование А.М. Андрианова и соавт. [19], как и наше исследование, также прошло успешно с точки зрения выявления основных доменов в качестве кандидатов на роль фармакологических молекул.

Также стоит упомянуть, что разработанный нами протокол не является совершенным по нескольким причинам: метод не учитывает конкретные сайты связывания ТФ, т.е. докинг проводился «вслепую»; сам метод межмолекулярного докинга является «статичным» по своей природе, поскольку показывает одну из возможных конформаций ДНК-белкового комплекса (которая вполне может быть неустойчива); значения score и confidence score не являются универсальными.

Указанные ранее недостатки можно исключить включением в пайплайн *ab initio* метода молекулярной динамики. Молекулярно-динамическое модели-

рование использует силовые поля, представляющие собой параметрические уравнения с описанием компонентов для различных сил (растяжения связей, Ван-дер-Ваальса и др.), действующих между атомами внутри молекул и между ними [20] и представляет собой вычислительный метод, применяемый для стабильности конформаций и динамики различных биомолекул, включая белки и нуклеиновые кислоты [21].

Преждевременное использование такого сильного метода без предварительной апробации было бы нерациональным, поскольку подобные симуляции вычислительно (задействуются GPU, или графические процессоры) и финансово затратны (аренда сервера для вычислений). На сегодня нашей группой уже ведется изучение нового метода и разработка обновленного пайплайна, который дополнит и, возможно, скорректирует результаты полученные путем докинга.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

*In silico* предсказание взаимодействия ТФ с ЭП продемонстрировало удовлетворительные результаты и достигло поставленной цели. Несмотря на тот факт, что примененные методики имеют большую неточность и не позволяют делать каких-либо точных выводов, исследование показало, что применение таких методов может служить полезным инструментом для скрининга потенциального взаимодействия ТФ с релевантной последовательностью ДНК (с энхансером, промотором и др.).

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

Danil D. Kotelnikov made a major contribution to the development of the concept and design of the study, as well as the preparation of illustrations. Ivan A. Sinyakin contributed to the search for literary sources, writing and editing the text. Evgeny A. Borodin and Tatyana A. Batalova supervised the process of statistical processing, writing and editing the text. All authors approved the final version of the article and are ready to take responsibility for all aspects of the submitted publication.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Д.Д. Котельников внес основной вклад в разработку концепции и дизайна исследования, а также подготовку иллюстраций. И.А. Сиякин внес вклад в поиск литературных источников, написание и редактирование текста. Е.А. Бородин и Т.А. Баталова руководили процессом статистической обработки, написания и редактирования статьи. Все авторы одобрили окончательный вариант статьи и готовы взять на себя ответственность за все аспекты представленной публикации.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бородин Е.А., Чупалов А.П., Тимкин П.Д. и др. Подбор потенциальных лигандов к TRPM8 с помощью глубоких нейронных сетей и межмолекулярного докинга. Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2021; (80): 26–33. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2021-80-26-33>. EDN: MUFKIQ / Borodin E.A., Chupalov A.P., Timkin P.D., et al. Selection of potential ligands for TRPM8 using deep neural networks and intermolecular docking. Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration. 2021; (80): 26–33 (In Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2021-80-26-33>. EDN: MUFKIQ
2. Jing F., Zhang S.W., Zhang S. Prediction of enhancer-promoter interactions using the cross-cell type information and domain adversarial neural network. BMC Bioinformatics. 2020; 21(1): 507. <https://doi.org/10.1186/s12859-020-03844-4>. PMID: 33160328
3. Catarino R.R., Stark A. Assessing sufficiency and necessity of enhancer activities for gene expression and the mechanisms of transcription activation. Genes Dev. 2018; 32(3–4): 202–223. <https://doi.org/10.1101/gad.310367.117>. PMID: 29491135
4. Panigrahi A., O'Malley B.W. Mechanisms of enhancer action: the known and the unknown. Genome Biol. 2021; 22(1): 108. <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02322-1>. PMID: 33858480
5. Broeders M., Herrero-Hernandez P., Ernst M.P.T., et al. Sharpening the Molecular Scissors: advances in gene-editing technology. iScience. 2020; 23(1): 100789. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.100789>. Epub 2019 Dec 19. PMID: 31901636
6. Russell S.A., Bashaw G.J. Axon guidance pathways and the control of gene expression. Dev Dyn. 2018; 247(4): 571–580. <https://doi.org/10.1002/dvdy.24609>. Epub 2018 Jan 5. PMID: 29226467
7. Leonardo E.D., Hinck L., Masu M., et al. Vertebrate homologues of C. elegans UNC-5 are candidate netrin receptors. Nature. 1997; 386(6627): 833–838. <https://doi.org/10.1038/386833a0>. PMID: 9126742

8. Finci L., Zhang Y., Meijers R., Wang J.-H. Signaling mechanism of the netrin-1 receptor DCC in axon guidance. *Prog Biophys Mol Biol.* 2015; 118(3): 153–160. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2015.04.001>. Epub 2015 Apr 14. PMID: 25881791
9. Deiner M.S., Kennedy T.E., Fazeli A., et al. Netrin-1 and DCC mediate axon guidance locally at the optic disc: loss of function leads to optic nerve hypoplasia. *Neuron.* 1997; 19(3): 575–589. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80373-6](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80373-6). PMID: 9331350
10. Yam P.T., Langlois S.D., Morin S., Charron F. Sonic hedgehog guides axons through a noncanonical, Src-family-kinase-dependent signaling pathway. *Neuron.* 2009 May 14; 62(3): 349–362. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.03.022>. PMID: 19447091
11. Lepelletier L., Langlois S.D., Kent C.B., et al. Sonic Hedgehog guides axons via Zipcode binding protein 1-mediated local translation. *J Neurosci.* 2017 Feb 15; 37(7): 1685–1695. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3016-16.2016>. Epub 2017 Jan 10. PMID: 28073938
12. Liu B., Fang L., Long R., et al. iEnhancer-2L: a two-layer predictor for identifying enhancers and their strength by pseudo k-tuple nucleotide composition. *Bioinformatics.* 2016; 32(3): 362–369. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv604>. Epub 2015 Oct 17. PMID: 26476782
13. Zhang T.H., Flores M., Huang Y. ES-ARCNN: Predicting enhancer strength by using data augmentation and residual convolutional neural network. *Anal Biochem.* 2021; 618: 114120. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2021.114120>. Epub 2021 Jan 31. PMID: 33535061
14. Salmaso V., Moro S. Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand-protein recognition process: An overview. *Front Pharmacol.* 2018 Aug 22; 9: 923. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00923>. PMID: 30186166
15. Yan Y., Zhang D., Zhou P., et al. HDock: a web server for protein-protein and protein-DNA/RNA docking based on a hybrid strategy. *Nucleic Acids Res.* 2017; 45(W1): W365–W373. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx407>. PMID: 28521030
16. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., et al. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012; 28(8): 1166–1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>. Epub 2012 Feb 24. PMID: 22368248
17. Kulakovskiy I.V., Vorontsov I.E., Yevshin I.S., et al. HOCOMOCO: towards a complete collection of transcription factor binding models for human and mouse via large-scale ChIP-Seq analysis. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(D1): D252–D259. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1106>. PMID: 29140464
18. Giri P., Kumar A., Taj G. In silico-prediction of downstream MYB interacting partners of MAPK3 in Arabidopsis. *Bioinformation.* 2014; 10(12): 721–725. <https://doi.org/10.6026/97320630010721>. PMID: 25670873
19. Андрианов А.М., Николаев Г.И., Корноушенко Ю.В. и др. In silico идентификация высокоаффинных лигандов белка gp120 ВИЧ-1 – потенциальных пептидомиметиков нейтрализующего антитела N6. *Математическая биология и биоинформатика* 2019; 14(2): 430–449. <https://doi.org/10.17537/2019.14.430>. EDN XCKXRV/ Andrianov A.M., Nikolaev G.I., Kornoushenko Y.V., et al. In silico identification of high-affinity ligands of the Hiv-1 Gp120 protein, potential peptidomimetics of neutralizing antibody N6. *Math. Biol. Bioinf.* 2019; 14(2): 430–449 (In Russian). <https://doi.org/10.17537/2019.14.430>. EDN XCKXRV
20. De Vivo M., Masetti M., Bottegoni G., Cavalli A. Role of molecular dynamics and related methods in drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry.* 2016; 59(9): 4035–4061. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01684>. PMID: 26807648
21. Yoo J. On the stability of protein-DNA complexes in molecular dynamics simulations using the CUFIX corrections. *J. Korean Phys. Soc.* 2021; 78: 461–466. <https://doi.org/10.1007/s40042-021-00063-9>

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Котельников Данил Дмитриевич**, студент ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5159-5796>

**Синякин Иван Алексеевич**, студент ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8680-2298>

**Бородин Евгений Александрович**✉, д-р. мед. наук, профессор, заведующий кафедрой химии ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0983-4541>

**Баталова Татьяна Анатольевна**, д-р биол. наук, доцент, заведующая кафедрой физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0983-4541>

**Danil D. Kotelnikov**, Student, Amur State Medical Academy.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5159-5796>

**Ivan A. Sinyakin**, Student, Amur State Medical Academy.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8680-2298>

**Evgeny A. Borodin**✉, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Chemistry, Amur State Medical Academy.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0983-4541>

**Tatyana A. Batalova**, Dr. of Sci. (Biology), Associate Professor, Head of the Department of Physiology and Pathophysiology, Amur State Medical Academy.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0983-4541>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## Хирургическое лечение пациента с интракраниальной эпителиоидной гемангиоэндотелиомой: клиническое наблюдение

А.В. Гаврюшин, Д.М. Чёлушкин✉

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко»  
Минздрава России  
ул. 4-я Тверская-Ямская, д. 16, г. Москва, 125047, Россия

СЕЧЕНОВСКИЙ

ВЕСТНИК

ГРАФИЧЕСКИЙ АБСТРАКТ



### Интракраниальная эпителиоидная гемангиоэндотелиома у мужчины 47 лет: клиническое наблюдение

#### Выводы

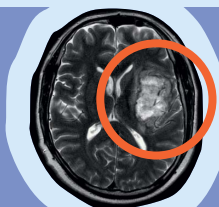
Интракраниальная гемангиоэндотелиома у взрослых — опухоль, имеющая черты злокачественности; в случае нерадикального удаления следует рассмотреть адъювантную терапию



#### Диагностика



Быстрое развитие симптомов



- Афазия
- Пирамидная недостаточность справа

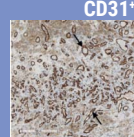
Апр 2021

#### Хирургическое лечение

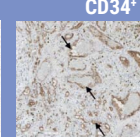


#### Нерадикальная резекция

Опухоль состоит из конгломерата патологических сосудов, с вовлечением конечных веток М2 сегмента средней мозговой артерии



CD31+



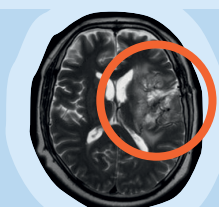
CD34+

Авг 2021

#### Исход



Продолженный рост остатков опухоли



Темозоломид

Отсутствие эффекта

Летальный исход

Ноя 2021

Май 2022

Гаврюшин А.В., Чёлушкин Д.М. Хирургическое лечение пациента с интракраниальной эпителиоидной гемангиоэндотелиомой: клиническое наблюдение. Сеченовский вестник. 2023; 14(4): 51–59. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.4.51-59>

### Аннотация

Гемангиоэндотелиома (ГЭ) – крайне редкое сосудистое новообразование с промежуточным паттерном злокачественности между доброкачественными новообразованиями и ангиосаркомами. В литературе описано всего 46 случаев интракраниальной локализации первичной ГЭ у взрослых.

**Описание случая.** У пациента 47 лет в течение 3–4 дней появились выраженные нарушения речи по типу сенсорной и амнестической афазии, правосторонняя пирамидная недостаточность. По данным магнитно-резонансной томографии выявлено отграниченное новообразование островка мозга слева с признаками кровоизлияния и небольшим перифокальным отеком. Интраоперационно новообразование было представлено конгломератом патологических сосудов с вовлечением конечных веток М2 сегмента средней мозговой артерии, что не позволило выполнить радикальную резекцию новообразования. На основании гистологического и иммуногистохимического исследования операционного материала (положительная экспрессия

CD31, CD34, индекс пролиферативной активности Ki-67 10%) установлен морфологический диагноз ГЭ. Спустя 3 месяца после оперативного вмешательства отмечен продолженный рост остаточной части новообразования. Химиотерапия темозоломидом оказалась клинически неэффективной. Через 9 месяцев пациент погиб из-за развития дислокационного синдрома.

**Обсуждение.** К злокачественным характеристикам ГЭ относится инвазивный рост, рецидивы и метастазирование, что чаще наблюдается при интракраниальной локализации новообразования. При подозрении на ГЭ следует стремиться к радикальному ее удалению при хирургическом лечении.

**Ключевые слова:** гемангиоэндотелиома; хирургическое лечение; CD31; CD34; Ki-67; темозоломид

#### Рубрики MeSH:

ГЕМАНГИОЭНДОТЕЛИОМА ЭПИТЕЛИОИДНАЯ – ДИАГНОСТИКА

ГЕМАНГИОЭНДОТЕЛИОМА ЭПИТЕЛИОИДНАЯ – ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗОБРАЖЕНИЕ

ГЕМАНГИОЭНДОТЕЛИОМА ЭПИТЕЛИОИДНАЯ – ТЕРАПИЯ

МОЗГА ГОЛОВНОГО НОВООБРАЗОВАНИЯ – ДИАГНОСТИКА

МОЗГА ГОЛОВНОГО НОВООБРАЗОВАНИЯ – ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗОБРАЖЕНИЕ

МОЗГА ГОЛОВНОГО НОВООБРАЗОВАНИЯ – ТЕРАПИЯ

**Для цитирования:** Гаврюшин А.В., Чёлушкин Д.М. Хирургическое лечение пациента с интракраниальной эпителиоидной гемангиоэндотелиомой: клиническое наблюдение. Сеченовский вестник. 2023; 14(4): 51–59. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.4.51-59>

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

**Чёлушкин Данил Михайлович**, аспирант, ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ

**Адрес:** ул. 4-я Тверская-Ямская, д. 16, г. Москва, 125047, Россия

**Тел.:** +7 (925) 837-51-12

**E-mail:** danil.chelushkin@yandex.ru

**Соблюдение этических норм.** Заявление о согласии. Родственники пациента дали согласие на публикацию представленной выше статьи «Хирургическое лечение пациента с интракраниальной эпителиоидной гемангиоэндотелиомой: клиническое наблюдение» в журнале «Сеченовский вестник».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки (собственные ресурсы).

**Поступила:** 31.08.2023

**Принята:** 09.10.2023

**Дата печати:** 30.11.2023

## Surgical treatment of intracranial epithelioid hemangioendothelioma: a case report

Andrey V. Gavrjushin, Danil M. Chelushkin 

*N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery*

*4-ya Tverskaya-Yamskaya str., 16, Moscow, 125047, Russia*

### Abstract

Epithelioid hemangioendothelioma (EHE) is an extremely rare vascular neoplasm with an intermediate pattern of malignancy between benign neoplasms and angiosarcomas. Only 46 cases of intracranial localization of primary EHE in adults have been published.

**Case report:** A 47-year-old male patient developed pronounced speech disorder of sensory and amnesic aphasia type, right-sided pyramidal hemiparesis within 3–4 days. Magnetic resonance imaging revealed a delimited left sided brain islet neoplasm with signs of hemorrhage and small perifocal edema. Intraoperatively, the neoplasm was represented by a conglomerate of pathologic vessels, with involvement of the terminal branches of the M2 segment of the middle cerebral artery, which prevented radical resection of the neoplasm. Based on histopathological and immunohistochemistry analysis of the neoplasm (positive expression of CD31, CD34, proliferative activity index Ki-67

10%) the morphologic diagnosis of EHE was established. 3 months after surgery, continued growth of the residual part of the neoplasm was noted. Temozolomide chemotherapy was clinically ineffective. The patient died due to the development of dislocation syndrome after 9 months.

**Discussion.** The malignant characteristics of EHE include invasive growth, recurrence, and metastasis, which is more common in intracranial localization of the neoplasm. If EHE is suspected, radical surgical removal of the neoplasm should be sought.

**Keywords:** hemangioendothelioma; surgery; CD31; CD34; Ki-67; temozolomide

**MeSH terms:**

HEMANGIOENDOTHELIOMA, EPITHELIOID – DIAGNOSIS  
HEMANGIOENDOTHELIOMA, EPITHELIOID – DIAGNOSTIC IMAGING  
HEMANGIOENDOTHELIOMA, EPITHELIOID – THERAPY  
BRAIN NEOPLASMS – DIAGNOSIS  
BRAIN NEOPLASMS – DIAGNOSTIC IMAGING  
BRAIN NEOPLASMS – THERAPY

**For citation:** Gavryushin A.V., Chelushkin D.M. Surgical treatment of intracranial epithelioid hemangioendothelioma: a case report. Sechenov Medical Journal. 2023; 14(4): 51–59. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.4.51-59>

**CONTACT INFORMATION:**

**Danil M. Chelushkin**, postgraduate student, N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery

**Address:** 16, 4-ya Tverskaya-Yamskaya str., Moscow, 125047, Russia

**Tel.:** +7 (925) 837-51-12

**E-mail:** danil.chelushkin@yandex.ru

**Compliance with ethical standards.** Consent statement. The patient's relatives consented to the publication of the article "Surgical treatment of intracranial epithelioid hemangioendothelioma: a case report" in the "Sechenov Medical Journal".

**Conflict of interests.** The authors declare that there is no conflict of interests.

**Financial support.** The study was not sponsored (own resources).

**Received:** 31.08.2023

**Accepted:** 09.10.2023

**Date of publication:** 30.11.2023

**Список сокращений:**

ГЭ – гемангиоэндотелиома

КТ – компьютерная томография

МРТ – магнитно-резонансная томография

Гемангиоэндотелиома (ГЭ) или, как она называлась ранее, внутрисосудистая бронхиолоальвеолярная опухоль – это редко встречающееся новообразование, происходящее из предшественников эндотелиоцитов и занимающее пограничное положение между доброкачественной гемангиомой, с одной стороны, и ангиосаркомой – с другой. Относясь к группе мезенхимальных новообразований, ГЭ может поражать практически любые органы и ткани, как изолированно, так и системно, но наиболее часто она локализуется в трубчатых костях конечностей, печени и легких. В центральной нервной системе ГЭ наблюдается крайне редко, составляя менее 0,02% от всех первичных интракраниальных образований [1–3]. В литературе на сегодня опубликованы единичные наблюдения и несколько небольших серий (не более 5–7 пациентов), что указывает на малую

изученность вопроса диагностики и тактики лечения пациентов данной группы.

Мы приводим собственное клиническое наблюдение ГЭ головного мозга, позволяющее расширить представление об этой патологии.

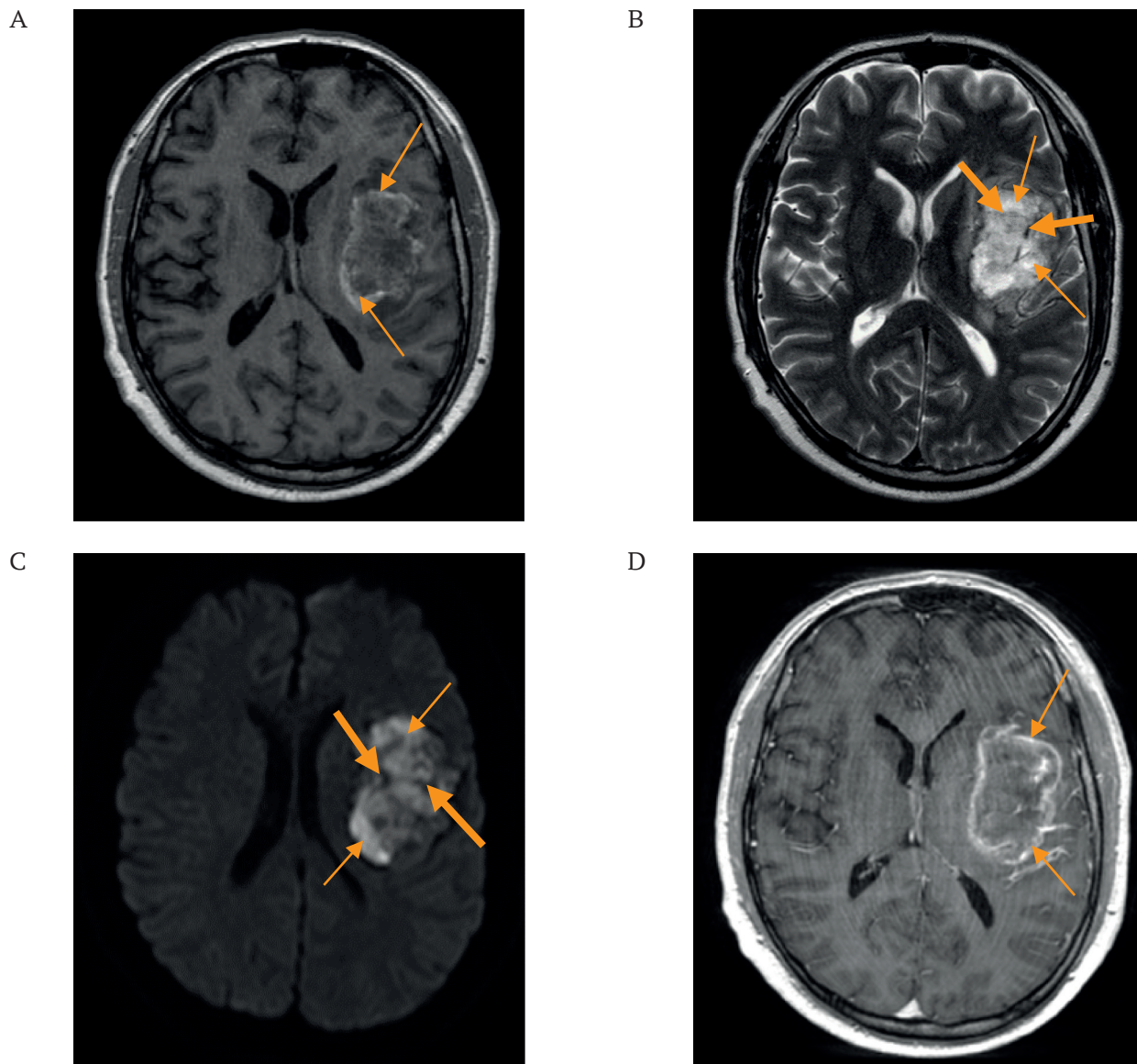
**ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ**

У пациента 47 лет в конце апреля 2021 года заболевание манифестировало быстрым развитием симптоматики поражения глубинных отделов доминантного полушария головного мозга: в течение 3–4 дней развились выраженные нарушения речи по типу сенсорной и амнестической афазии, а также правосторонняя пирамидная недостаточность (до 4 баллов). Госпитализирован в стационар по месту жительства.

18.05.2021 при проведении магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга визуализировано

отграниченное новообразование изо-/гипоинтенсивного сигнала в режиме T1 с участком повышенного сигнала по периферии в виде «неполного кольца» (рис. 1A). В режимах T2 и DWI образование характеризовалось гипер-/изоинтенсивным сигналом

с минимально выраженным перифокальным отеком и участками выпадения сигнала от сосудов (рис. 1B, C). Контрастное вещество накапливалось преимущественно по периферии образования, усиливая эффект «кольца» (рис. 1D).



**РИС. 1.** Дооперационные данные (18.05.2021) магнитно-резонансной томографии пациента 47 лет с гемангиоэндотелиомой островка мозга слева.

A. T1, аксиальная проекция: зона изо-/гипоинтенсивного сигнала с участком повышенного сигнала по периферии в виде «неполного кольца» (стрелки).

B, C. T2, DWI, аксиальные проекции: зона гипер-/изоинтенсивного сигнала с минимально выраженным перитуморальным отеком (толстые стрелки) и участками выпадения сигнала от сосудов (тонкие стрелки).

D. T1 с контрастным усилением, аксиальная проекция: накопление контрастного вещества по периферии образования (стрелки).

**FIG. 1.** Pre-operative (18.05.2021) magnetic resonance imaging of hemangioendothelioma of the left side of cerebral insula in 47-year-old male patient.

A. T1, axial plane: zone of iso-/hypointense signal, with an area of increased signal along the periphery in the form of an “incomplete ring” (arrows).

B, C. T2, DWI, axial planes: zone of hyper-/isointense signal with minimal peritumoral edema (thick arrows) and areas of signal loss from the vessels (thin arrows).

D. T1 with contrast enhancement, axial plane: contrast accumulation at the periphery of the neoplasm (arrows).

На данном этапе установлен диагноз новообразования левой островковой доли головного мозга. Пациент направлен на консультацию нейрохирурга в специализированный центр. С целью облегчения клинической симптоматики назначена гормональная терапия дексаметазоном в суточной дозе 8 мг, на фоне применения которой в течение 2 недель удалось достичь полного клинического разрешения неврологического дефицита.

09.08.2021 пациент в плановом порядке поступил в НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко. В неврологическом статусе: признаки выраженной сенсорной и амнестической афазии с элементами тахилалии, снижение памяти и внимания. В остальном неврологический статус без выраженной неврологической симптоматики, ECOG 1 балл, шкала Карновского 70 баллов. При поступлении консультирован офтальмологом: нейроофтальмологической симптоматики не выявлено. Дополнительное нейрофизиологическое обследование не проводилось.

Установлен предварительный диагноз: D43.0 «Внутричерепное новообразование левой островковой доли». Консилиумом врачей-нейрохирургов в составе заведующего отделением, лечащего врача и сотрудников клинического отделения «Глиальные опухоли» было принято решение о проведении планового хирургического лечения.

### Ход операции

Оперативное вмешательство проведено 11.08.2021 из небольшой краниотомии, выполненной в левой лобно-височной области с использованием хирургического микроскопа и микрохирургической техники. Из-за выраженного напряжения мозгового вещества не удалось подойти к новообразованию через средние отделы латеральной борозды головного мозга, в связи с чем на небольшом участке (не более 1 сантиметра) была рассечена покрышечная часть нижней лобной извилины.

Удаление новообразования, которое представляло собой конгломерат патологических сосудов, сгустков крови и ткани серо-розового цвета с кровоизлияниями различного срока давности, осуществлялось с использованием вакуумного аспиратора, ультразвукового деструктора и биполярной коагуляции. Достичь радикальной резекции не удалось ввиду того, что в состав новообразования были включены конечные ветки М2 сегмента средней мозговой артерии (участки, наиболее плотно спаянные со средней мозговой артерией, остались неудаленными). Тем не менее получилось удалить большую часть новообразования, что позволило достичь хорошего уровня декомпрессии и релаксации мозга.

В ходе оперативного вмешательства проводилось картирование моторных вызванных потенциалов и регистрация транскраниальных моторных вызванных потенциалов. Были зарегистрированы фоновые

отчетливые М-ответы от всех отведений, снижения амплитуды М-ответов не отмечалось. При прямой электрической субкортикальной стимуляции монополярным стимулятором, подсоединенным к аспиратору, на силе тока 10–12 мА М-ответы не были зарегистрированы.

Оперативное вмешательство проводилось без интраоперационного пробуждения для картирования речевых центров по причине выраженной сенсорной и амнестической афазии. Кровопотеря составила около 500 мл.

### Морфологическое исследование операционного материала

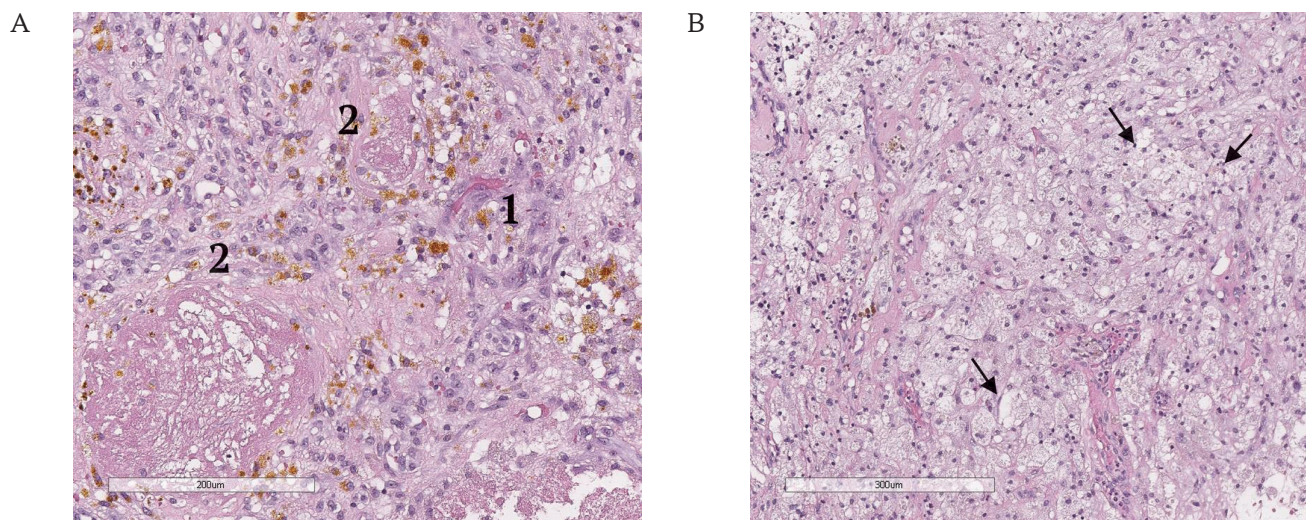
На основании исследования операционного материала был выставлен морфологический диагноз: гемангиоэндотелиома.

При окраске гематоксилином и эозином в микропрепарате были визуализированы фрагменты мозговой ткани с глиальной гиперплазией и очаговыми скоплениями атипических сосудов. Эти беспорядочно анастомозирующие сосуды были выстланы двумя слоями эндотелиальных клеток и частично тромбированы, также наблюдались периваскулярные некрозы сосудистого генеза (рис. 2А). Отмечалось присутствие отложений гранул гемосидерина, гематоидина и скоплений ксантомных клеток (рис. 2В).

Проведенное иммуногистохимическое исследование выявило в сосудах положительную экспрессию CD31, CD34, очагово позитивную экспрессию в опухоли EMA (epithelial membrane antigen, эпителиальный мембранный антиген), позитивную экспрессию в стенках крупных сосудов Actin (актин), позитивную экспрессию в ксантомных клетках CD68, D2-40, позитивную экспрессию в глиальной ткани GFAP (glial fibrillary acidic protein, глиальный фибриллярный кислый протеин), отсутствие экспрессии в опухоли цитокератина (CK) AE1/3 (Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin, Clone AE1/AE3, антитела моноклональные мышиные к человеческим Цитокератин, клон AE1/AE3). Индекс пролиферативной активности Ki-67 составил до 10% (рис. 3). В целом морфологическая картина и иммунофенотип в большей степени соответствовали сосудистому пороку развития с фокусами сосудистой опухоли с выраженной экспрессией CD31 и повышенным индексом митотической активности Ki-67, что в большей мере соответствовало эпителиоидной ГЭ низкой степени злокачественности.

### Послеоперационное наблюдение и лечение

По данным послеоперационной КТ от 12.08.2021 интракраниальных осложнений не выявлялось (рис. 4А). К моменту выписки из стационара на 7-е сутки наблюдался существенный регресс имевших место до операции речевых нарушений. После операции нарастания неврологической симптоматики не отмечено.



**РИС. 2.** Морфологическое исследование операционного материала пациента 47 лет с гемангиоэндотелиомой островка мозга слева. Окраска гематоксилином и эозином.

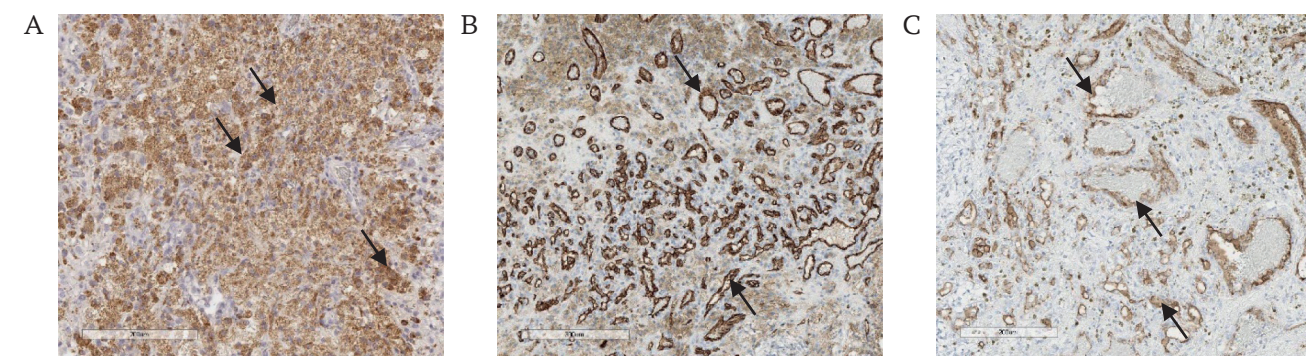
A. Скопления атипичных сосудов, выстланных двумя слоями эндотелиальных клеток (1), тромбированные сосуды с периваскулярными некрозами сосудистого генеза (2), ув. 200.

B. Скопления ксантомных клеток (стрелки), ув. 300.

**FIG. 2.** Histologic slides of hemangioendothelioma of the left side of cerebral insula in 47-year-old male patient. Hematoxylin and eosin staining.

A. Clusters of atypical vessels lined with two layers of endothelial cells (1), vascular thrombosis with perivascular necrosis of vascular origin (2), magnification 200.

B. Clusters of foam cells (arrows), magnification 300.



**РИС. 3.** Иммуногистохимическое исследование операционного материала пациента 47 лет с гемангиоэндотелиомой островка мозга слева.

A. Позитивное окрашивание ксантомных клеток иммуногистохимическим маркером CD68 в коричневый цвет (стрелки), ув. 300.

B. Позитивная экспрессия сосудистого маркера CD31 (стрелки), ув. 300.

C. Позитивная экспрессия сосудистого маркера CD34 (стрелки), ув. 200.

**FIG. 3.** Immunohistochemical staining of hemangioendothelioma of the left side of cerebral insula in 47-year-old male patient.

A. Positive brown staining of foam cells with the immunohistochemical marker CD68 (arrows), magnification 300.

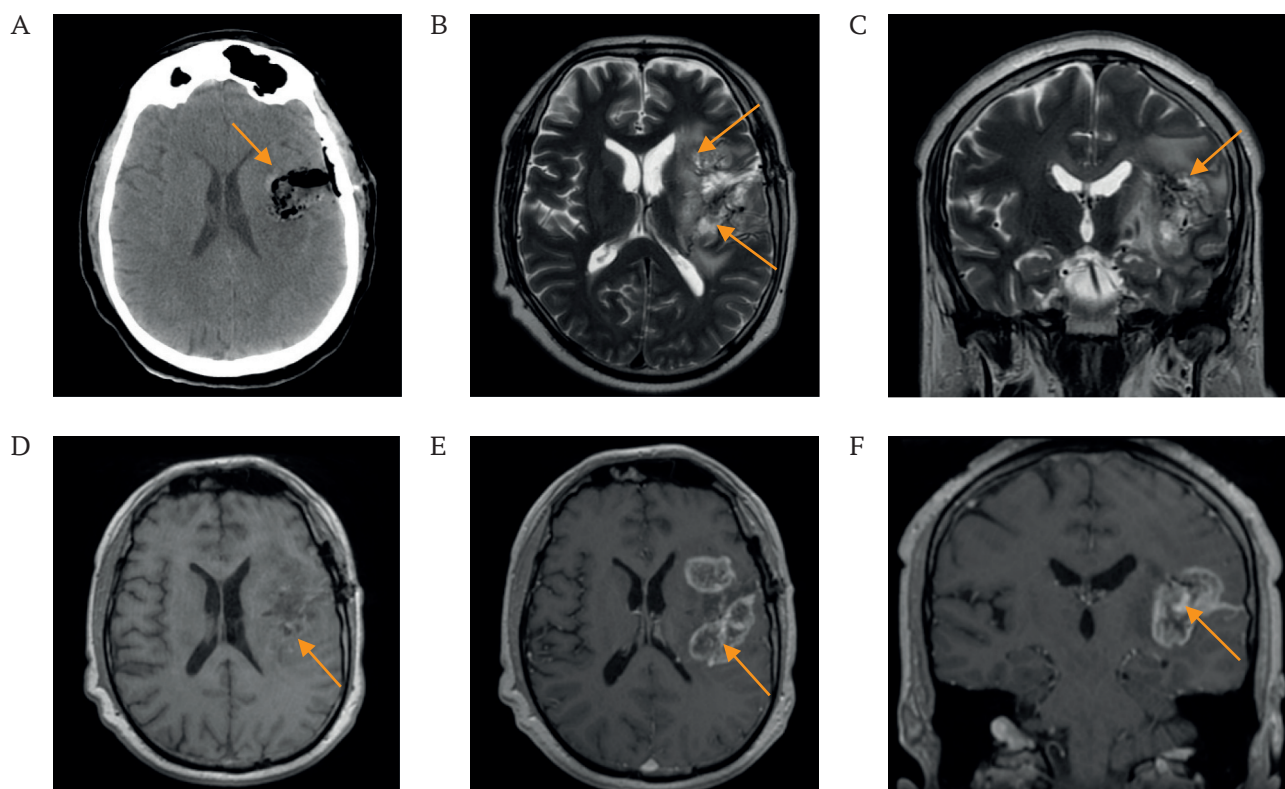
B. Positive expression of the vascular marker CD31 (arrows), magnification 300.

C. Positive expression of the vascular marker CD34 (arrows), magnification 200.

В дальнейшем, с учетом гистологически подтвержденного диагноза ГЭ и доброкачественного характера течения данного заболевания, на онкологическом консилиуме было принято решение о динамическом наблюдении за пациентом.

Спустя 3 месяца после хирургического лечения, при отсутствии изменений в клинической картине заболевания, был отмечен продолженный рост остатков опухоли при проведении контрольного

нейровизуализационного исследования головного мозга (рис. 4В–F). Назначена монокимиотерапия темозоломидом, на фоне которой стабилизации процесса не удалось достичь. В связи с высокими рисками появления грубого неврологического дефицита повторное хирургическое лечение не проводилось. Из-за прогрессии заболевания в виде продолженного роста новообразования с развитием дислокационного синдрома пациент погиб спустя 9 месяцев



**РИС. 4.** Послеоперационные данные компьютерной томографии через сутки после операции (А) и магнитно-резонансной томографии через 3 месяца после операции (В–F) пациента 47 лет с гемангиоэндотелиомой островка мозга слева.

А. КТ, аксиальная проекция: послеоперационные изменения с небольшими остаточными фрагментами опухоли (стрелка). В. T2, аксиальная проекция: зоны продолженного роста остаточной части опухоли, накапливающие контрастный препарат (стрелки).

С. T2, фронтальная проекция: зоны продолженного роста остаточной части опухоли, накапливающие контрастный препарат (стрелка).

Д. T1 без контрастного усиления, аксиальная проекция: зоны продолженного роста остаточной части опухоли (стрелка).

Е. T1 с контрастным усилением, аксиальная проекция: зоны продолженного роста остаточной части опухоли, накапливающие контрастный препарат (стрелка).

Ф. T1 с контрастным усилением, фронтальная проекция: зоны продолженного роста остаточной части опухоли, накапливающие контрастный препарат (стрелка).

**FIG. 4.** Postoperative computed tomography scans one day after surgery (A) and magnetic resonance imaging 3 months after surgery (B–F) of a 47-year-old patient with hemangioendothelioma of the left part of cerebral insula (examination dates).

А. CT scan, axial plane: postoperative changes with small residual tumor fragments (arrow).

В. T2, axial plane: areas of continued growth of the residual part of the tumor, accumulating contrast agent (arrows).

С. T2, frontal plane: areas of continued growth of the residual part of the tumor, accumulating contrast agent (arrow).

Д. T1 without contrast enhancement, axial plane: areas of continued growth of the residual part of the tumor (arrow).

Е. T1 with contrast enhancement, axial plane: areas of continued growth of the residual part of the tumor, accumulating contrast agent (arrow).

Ф. T1 with contrast enhancement, frontal plane: areas of continued growth of the residual part of the tumor, accumulating contrast agent (arrow).

после хирургического лечения. С учетом всех данных клинический диагноз может быть представлен следующим образом: «Эпителиоидная гемангиоэндотелиома левой островковой доли головного мозга. Состояние после микрохирургического удаления опухоли от 11.08.2021. Продолженный рост».

## ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые ГЭ была описана D.H. Dail и соавт. в 1975 году [4]. Изначально считалось, что это одна из агрессивных форм бронхиолоальвеолярного рака,

и только в 1979 г. Weiss и Enzinger, используя методику иммуногистохимического исследования, доказали происхождение этого новообразования из клеток предшественников эндотелиальной клеточной линии и ввели ее современное название [5]. Эндотелиальная природа была подтверждена положительной экспрессией таких маркеров, как CD34 и CD31. В 1995 г. эти же авторы разделили ГЭ на 4 морфологических типа: эпителиоидная, ретиформная (англ. «spindle cell»), капошиформная и эндолимфатическая папиллярная ангиоэндотелиома [6]. При интракраниальной

локализации чаще встречаются именно эпителиоидные ГЭ, а ретиформная и капиоформная формы – значительно реже [6].

На сегодня выделяют две степени злокачественности ГЭ: низкая и умеренная. Последняя встречается наиболее часто (71%), в связи с чем в классификации Всемирной организации здравоохранения опухолей центральной нервной системы эти новообразования были отнесены к мезенхимальным опухолям Grade III, тогда как ранее они относились к образованиям Grade II<sup>1</sup> [3]. Основными характеристиками, определяющими злокачественность ГЭ, являются инфильтративный рост, склонность к рецидивам и метастазированию, что наиболее характерно при интракраниальной ее локализации [3].

Являясь мезенхимальным новообразованием, ГЭ может развиваться из костей основания черепа, из твердой мозговой оболочки либо из самой паренхимы головного мозга. В связи с этим ГЭ может локализоваться в различных долях полушарий головного мозга, хиазмально-селлярной области [6], в кавернозном синусе [1], в области ската [2] и петроклиальной зоне [2, 7], а также в намете [1] и черве мозжечка [3]. Данные литературы позволяют говорить лишь о том, что локализация ГЭ в задней черепной ямке является более редкой, чем ее супратенториальное расположение [3]. Из-за такой вариабельной локализации ГЭ часто расценивают как менингиому, гемангиому, метастаз, хондросаркому или глиобластому [1, 2, 7, 8]. Заподозрить ГЭ можно на основании медленно-го развития неврологической симптоматики у пациентов среднего (20–50 лет) возраста [9] и таких неспецифических рентгенологических признаков, как: дольчатость строения, кровоизлияния в структуре новообразования с выраженной сосудистой сетью, и небольшого перифокального отека [1].

В нашем наблюдении на основании нейровизуализационных данных можно было еще на дооперационном этапе заподозрить у пациента ГЭ, но быстрое развитие неврологической симптоматики (выраженные нарушения речи по типу сенсорной и амнестической афазии и правосторонняя пирамидная недостаточность, развившиеся в течение 3–4 дней) склоняло наше предположение в сторону глиального новообразования высокой степени злокачественности, и лишь гистологическое исследование операционного материала, выявившее картину новообразования с беспорядочной сосудистой сетью и повышенной экспрессией эндотелиальных маркеров, позволило подтвердить диагноз ГЭ.

Принятых стандартов лечения ГЭ при ее интракраниальной локализации на сегодня нет по причине редкой встречаемости данной формы патологии. Основным методом является хирургическое лечение,

по возможности радикальное [1, 2, 6, 10, 11], так как, по мнению ряда авторов, это связано с лучшим прогнозом [1]. Но достичь полного удаления не всегда удается из-за повышенной кровоточивости ткани новообразования и его инфильтративного роста. Для снижения кровопотери во время оперативного вмешательства некоторые авторы рекомендуют проводить предоперационную эмболизацию сосудов [2]. В нашем наблюдении предоперационная эмболизация сосудов новообразования не проводилась.

Эффективность адьювантной терапии на сегодня не доказана [2, 6, 10]. Считается, что дистанционная гамма-терапия может способствовать склерозированию сосудов внутри ГЭ [10], в связи с чем некоторые авторы рекомендуют ее в качестве дополнительной терапии после хирургического лечения [7] или даже самостоятельного метода лечения. На сегодня из всех 35 наблюдений, которые были описаны в литературе, лучевая терапия была применена лишь в 6 случаях, а химиотерапия – в 5, что не позволяет однозначно оценивать их эффективность [10]. Среди химиопрепаратов приоритет отдавался использованию препаратов с антиангиогенным эффектом: интерферона альфа [2, 6] и лена-лидомида [9].

В нашем наблюдении, с учетом пограничного характера новообразования и отсутствия стандартов его лечения, первоначально было решено воздержаться от дополнительной терапии после хирургического лечения. Но прогрессия заболевания развилась достаточно быстро, и в качестве адьювантной терапии была использована химиотерапия, так как проведение лучевой терапии было сопряжено с высоким риском ухудшения состояния пациента из-за вероятности развития отека мозгового вещества на фоне остатков новообразования. Применение первой линии химиотерапии (темозоломид), используемой в лечении высокозлокачественных глиальных новообразований головного мозга, оказалось неэффективным.

Очевидно, что для дифференциальной диагностики, например с глиобластомой или ангиосаркомой, требовалось проведение дополнительного спектра молекулярно-генетических (IDH1, IDH2, TERT, EGFR, амплификации MYC, FLT4) и иммуногистохимических (к антителам ERG, factor VIII, VEGF, FLI-1) анализов, однако выполнение подобных исследований на сегодня все еще остается затруднительным ввиду малой доступности и высокой экономической нагрузки.

Мы считаем, что в таких случаях, как наше наблюдение, когда клинико-рентгенологическая картина нетипична для ГЭ, а диагноз основывается на морфологическом анализе и иммуногистохимическом исследовании, следует проводить расширенные

<sup>1</sup> WHO Classification of Tumours Editorial Board. WHO classification of tumours. Central nervous system tumours. 5th ed., vol. 6. France, Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2021. <https://tumourclassification.iarc.who.int> (дата обращения: 17.07.2023).

молекулярно-генетические и иммуногистохимические исследования, а при невозможности их выполнения и частичном удалении опухоли обязательно дополнять лечение адъювантной терапией.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ГЭ – редко встречающееся мезенхимальное новообразование с признаками злокачественности в виде инвазивного роста и склонности к рецидивированию. При интракраниальной локализации ГЭ может иметь схожую нейровизуализационную картину

## ВКЛАД АВТОРОВ

А.В. Гаврюшин внес основной вклад в разработку концепции статьи, подготовил текст и согласен принять на себя ответственность за все аспекты клинического наблюдения. Д.М. Чёлушкин участвовал в разработке концепции статьи и подготовке текста. А.В. Гаврюшин, Д.М. Чёлушкин принимали активное участие в лечении пациента. Все авторы утвердили окончательную версию статьи.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tian W.Z., Yu X.R., Wang W.W., et al. Computed tomography and magnetic resonance features of intracranial hemangioendothelioma: A study of 7 cases. *Oncol Lett.* 2016 May; 11(5): 3105–3110. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4356>. Epub 2016 Mar 21. PMID: 27123072
2. Zheng J., Liu L., Wang J., et al. Primary intracranial epithelioid hemangioendothelioma: a low-proliferation tumor exhibiting clinically malignant behavior. *J Neurooncol.* 2012 Oct; 110(1): 119–127. <https://doi.org/10.1007/s11060-012-0945-x>. Epub 2012 Aug 11. PMID: 22886511
3. Omerhodžić I., Bilalović N., Rovčanin B., et al. Primary epithelioid hemangioendothelioma in the cerebellum: case report with reference to drastic change in the WHO classification. *Acta Clin Croat.* 2018 Sep; 57(3): 570–576. <https://doi.org/10.20471/acc.2018.57.03.21>. PMID: 31168191
4. Dail D.H., Liebow A.A., Gmelich J.T., et al. Intravascular, bronchiolar, and alveolar tumor of the lung (IVBAT). An analysis of twenty cases of a peculiar sclerosing endothelial tumor. *Cancer.* 1983 Feb 1; 51(3): 452–464. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19830201\)51:3<452::aid-cnrcr2820510317>3.0.co;2-m](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19830201)51:3<452::aid-cnrcr2820510317>3.0.co;2-m). PMID: 6295602
5. Weiss S.W., Enzinger F.M. Epithelioid hemangioendothelioma: a vascular tumor often mistaken for a carcinoma. *Cancer.* 1982 Sep 1; 50(5): 970–981. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19820901\)50:5<970::aid-cnrcr2820500527>3.0.co;2-z](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19820901)50:5<970::aid-cnrcr2820500527>3.0.co;2-z). PMID: 7093931
6. Hamlat A., Casallo-Quilliano C., Saikali S., et al. Epithelioid hemangioendothelioma of the infundibular-hypothalamic region:

с высокозлокачественными глиальными новообразованиями головного мозга.

При подозрении на ГЭ следует стремиться, по возможности, к ее радикальной резекции, так как это улучшает прогноз заболевания. В случаях, когда радикальной резекции новообразования при хирургическом лечении по каким-либо причинам достичь не удалось, может быть рассмотрена возможность лечения адъювантной дистанционной гамма-терапией. Применение темозоломида в нашем наблюдении оказалось неэффективным.

## AUTHORS CONTRIBUTIONS

Andrey V. Gavryushin developed the main concept of the article, wrote the text, approved the final version, and agreed to take responsibility for all aspects of the case report. Danil M. Chelushkin participated in the development of the concept of the article and the preparation of the text. Andrey V. Gavryushin, Danil M. Chelushkin took an active part in the treatment of the patient. All authors approved the final version of the article.

- case report and literature review. *J Neurooncol.* 2004 May; 67(3): 361–366. <https://doi.org/10.1023/b:neon.0000024240.97378.d0>. PMID: 15164993
7. Watanabe T., Saito N., Shimaguchi H., et al. Primary epithelioid hemangioendothelioma originating in the lower petroclival region: case report. *Surg Neurol.* 2003 May; 59(5): 429–433; discussion 434. [https://doi.org/10.1016/s0090-3019\(03\)00068-5](https://doi.org/10.1016/s0090-3019(03)00068-5). PMID: 12765826
  8. Davis J.L., Tihan T., Kilpatrick S.E. 14 – Mesenchymal tumors of the central nervous system, Editor(s): Arie Perry, Daniel J. Brat, Practical surgical neuropathology: A diagnostic approach (Second Edition), Elsevier, 2018: 299–322. ISBN 9780323449410. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-44941-0.00014-X>
  9. Sumrall A., Fredericks R., Berthold A., Shumaker G. Lenalidomide stops progression of multifocal epithelioid hemangioendothelioma including intracranial disease. *J Neurooncol.* 2010 Apr; 97(2): 275–277. <https://doi.org/10.1007/s11060-009-0017-z>. Epub 2009 Nov 7. PMID: 19898746
  10. Parajón A., Vaquero J. Meningeal intracranial epithelioid hemangioendothelioma: case report and literature review. *J Neurooncol.* 2008 Jun; 88(2): 169–173. <https://doi.org/10.1007/s11060-008-9543-3>. PMID: 18278439
  11. Stacchiotti S., Miah A.B., Frezza A.M., et al. Epithelioid hemangioendothelioma, an ultra-rare cancer: a consensus paper from the community of experts. *ESMO Open.* 2021 Jun; 6(3): 100170. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2021.100170>. Epub 2021 Jun 2. PMID: 34090171

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Гаврюшин Андрей Владимирович**, канд. мед. наук, врач-нейрохирург 7-го клинического отделения ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8732-3114>

**Чёлушкин Данил Михайлович**✉, аспирант ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3599-7237>

**Andrey V. Gavryushin**, Cand. of Sci. (Medicine), neurosurgeon, 7<sup>th</sup> clinical department, N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8732-3114>

**Danil M. Chelushkin**✉, postgraduate student, N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3599-7237>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## Letter to the Editor Regarding “DRESS syndrome on the background of adding meropenem to carbamazepine therapy: a clinical case”

Vitorino M. dos Santos<sup>1</sup>, Taciana A. M. Sugai<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Catholic University and Armed Forces Hospital, Brasília-DF, Brazil

<sup>2</sup> American Society of Neurophysiology and Dermatologist, Brasília-DF, Brazil

### To the editor

Drug-induced reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) is a severe condition with diagnostic criteria established by international Registry of Severe Cutaneous Adverse Reactions (RegiSCAR)<sup>1</sup> considering a score system based on clinical and laboratory findings [1–5].

We appreciated the report by Ilinia Y.V. et al. published in this Journal [3] about the DRESS syndrome that developed in a 29-year-old woman following the postoperative association of meropenem with carbamazepine to the management of focal epileptic seizures and postictal right hemiparesis [3].

The manifestations of the DRESS syndrome appeared 8 days after starting the antibiotic, and carbamazepine was suspended, but the diagnosis was only confirmed by the RegiSCAR criteria about a month later. Her treatment schedule with methylprednisolone was then modified by 1 mg/kg body weight, which resulted in clinical and laboratory improvement, and five days later she was discharged to home [3]. Less than a month later, she presented mucosal HSV type 6 and CMV lesions on the nose and lips, that were controlled by administration of valacyclovir and a reduced dosage of methylprednisolone. The authors highlighted the increased diagnostic challenges due to association of administered drugs; the misdiagnosis with diverse similar entities; the longstanding time to appear the first symptoms; and the main role of the prompt interruption of the possible causal agent of the DRESS syndrome [3]. In this setting, the objective of the present letter is to comment on two other recent reviews on the DRESS syndrome, [1, 2] besides some Brazilian case studies of this challenging condition [4, 5].

Alotaibi M. reviewed the pathogenesis and treatment of this ominous disturbance, that may affect 2.18 per 100,000 people, 55% females, related to antibiotics (74%) or antiepileptics (20%), with almost 95% of hospital admissions, 3% of mortality rate, and high burden on health costs [1]. His comments on recent pathophysiology advances included human leucocyte antigen haplotypes, interleukin-5, thymus- and activation-regulated chemokine, macrophage-derived chemokine, besides and the activation of the Janus kinases-signal transducer and activator of transcription proteins; and cyclosporine was considered a useful tool to get good outcomes of the DRESS syndrome control [1].

Calle A.M. et al. very recently reviewed the main findings associated with the epidemiology, pathophysiology, clinical and laboratory diagnosis, and management of the DRESS syndrome [2]. Phenytoin, carbamazepine, phenobarbital, sulfonamides, dapsone, piroxicam, ibuprofen, diclofenac, beta-lactam antibiotics, vancomycin, allopurinol, minocycline and antiretrovirals are the most common etiologic factors, although in up to 20% of cases, the causative agent is not determined [2]. The diagnosis is frequently late; hepatic failure is a major cause of death; and hyper eosinophilia, thrombocytopenia, pancytopenia, leukocytosis, and coagulopathy are signs of the poor prognosis [2].

Brazilian authors reported two cases of DRESS syndrome. An 18-year-old woman taking phenytoin had fulminant hepatitis and refractory shock [4]; and a 49-year-old man using allopurinol plus diclofenac who had heart involvement but improved with the corticosteroid immunosuppression [5].

**For citation:** dos Santos V.M., Sugai T.A.M. Letter to the Editor Regarding “DRESS syndrome on the background of adding meropenem to carbamazepine therapy: a clinical case”. Sechenov Medical Journal. 2023; 14(4): 60–61. Epub ahead of print 24.10.2023. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.960.11>

<sup>1</sup> RegiSCAR. European Registry of Severe Cutaneous Adverse Reactions (SCAR) to Drugs and Collection of Biological Samples. <http://www.regiscar.org/> (Date of access: 02.10.2023).

## CONTACT INFORMATION:

**Vitorino Modesto dos Santos**, MD, PhD, Department of Medicine, Catholic University; Armed Forces Hospital. <https://orcid.org/0000-0002-7033-6074>

**Address:** Estrada do Contorno do Bosque S/N, Cruzeiro Novo. CEP 70658-900, Brasília-DF, Brazil

**E-mail:** [vitorinomodesto@gmail.com](mailto:vitorinomodesto@gmail.com)

**Conflict of interests.** The authors declare that there is no conflict of interests.

**Received:** 02.10.2023

**Accepted:** 06.10.2023

**Date of publication online:** 24.10.2023

**Date of publication:** 30.11.2023

## REFERENCES

1. *Alotaibi M.* Drug-induced reaction with eosinophilia and systemic symptoms: a review. *Cureus*. 2023 Mar 2; 15(3): e35701. <https://doi.org/10.7759/cureus.35701>. PMID: 37012934
2. *Calle A.M., Aguirre N., Ardila J.C., et al.* DRESS syndrome: A literature review and treatment algorithm. *World Allergy Organ J.* 2023 Apr 8; 16(3): 100673. <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2022.100673>. PMID: 37082745
3. *Ilina Y.V., Fedorova T.A., Tazina S.Y., et al.* DRESS syndrome on the background of adding meropenem to carbamazepine therapy: a clinical case. *Sechenov Medical Journal*. Epub ahead of print 20.06.2022. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2022.407.09>. Erratum in: *Sechenov Medical Journal*. 2022; 13(1): 58–59. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2022.13.1.58-59>
4. *Mikhael B.M., Carvalho M.R.M., Santos V.M., et al.* Evolution of DRESS syndrome related to phenytoin in a young woman. *Brasília Med.* 2022; 59(Annual): 1–5. <https://doi.org/10.5935/2236-5117.2022v59a284>
5. *Santos V.M., Soares A.M.R., Daameche L.N.A., et al.* Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms syndrome: a case report. *Brasília Med.* 2018; 55(Annual): 32–37. <https://doi.org/10.5935/2236-5117.2018v55a04>

## Благодарность за рецензирование и помощь в подготовке рукописей к публикации

Редакция журнала «Сеченовский вестник» благодарит наших уважаемых рецензентов за помощь в отборе рукописей для публикации в 2023 году:

- Алексеев Александр Геннадьевич (Москва, Россия)
- Андреева Елена Ромуальдовна (Москва, Россия)
- Ачкасов Евгений Евгеньевич (Москва, Россия)
- Ашихмин Ярослав Игоревич (Москва, Россия)
- Баирова Татьяна Ананьевна (Иркутск, Россия)
- Байтяков Владимир Викторович (Саранск, Россия)
- Балашова Анастасия Владимировна (Москва, Россия)
- Банин Виктор Васильевич (Москва, Россия)
- Бирулина Юлия Георгиевна (Томск, Россия)
- Благоднаров Михаил Львович (Москва, Россия)
- Боронихина Татьяна Владимировна (Москва, Россия)
- Бублик Евгения Викторовна (Москва, Россия)
- Буеверова Елена Леонидовна (Москва, Россия)
- Буланова Екатерина Львовна (Москва, Россия)
- Бушуева Ольга Юрьевна (Курск, Россия)
- Быков Игорь Игоревич (Москва, Россия)
- Варенцов Вячеслав Евгеньевич (Москва, Россия)
- Виллерт Алиса Борисовна (Томск, Россия)
- Воробьева Ольга Владимировна (Москва, Россия)
- Горбунова Марина Вячеславовна (Орел, Россия)
- Грднева Галина Игоревна (Москва, Россия)
- Дерябин Дмитрий Геннадьевич (Москва, Россия)
- Дробот Наталья Викторовна (Ростов-на-Дону, Россия)
- Дубровина Светлана Олеговна (Ростов-на-Дону, Россия)
- Ершов Артем Владимирович (Красноярск, Россия)
- Захарова Наталья Борисовна (Саратов, Россия)
- Зверева Светлана Дмитриевна (Москва, Россия)
- Зорькина Ангелина Владимировна (Саранск, Россия)
- Иващенко Марина Николаевна (Нижний Новгород, Россия)
- Иртюга Ольга Борисовна (Санкт-Петербург, Россия)
- Канев Антон Игоревич (Москва, Россия)
- Костюшев Дмитрий Сергеевич (Москва, Россия)
- Кузнецов Сергей Львович (Москва, Россия)
- Куликов Александр Анатольевич (Москва, Россия)
- Курмуков Анвар Илдарович (Москва, Россия)
- Кустов Владимир Валерьевич (Тюмень, Россия)
- Мартынов Сергей Владиславович (Москва, Россия)
- Масленников Роман Вячеславович (Москва, Россия)
- Маэстриони Лука (Италия)
- Минеев Валерий Николаевич (Санкт-Петербург, Россия)
- Морозов Андрей Олегович (Москва, Россия)
- Морозова Ольга Леонидовна (Москва, Россия)
- Немцова Марина Вячеславовна (Москва, Россия)
- Никитин Андрей Викторович (Минск, Беларусь)
- Николаев Николай Станиславович (Чебоксары, Россия)
- Нетёсов Сергей Викторович (Новосибирск, Россия)
- Паршин Владимир Дмитриевич (Москва, Россия)
- Перетягин Сергей Петрович (Нижний Новгород, Россия)
- Пирожков Сергей Викторович (Москва, Россия)
- Писарев Владимир Митрофанович (Москва, Россия)
- Поляков Андрей Павлович (Москва, Россия)
- Пьявченко Геннадий Александрович (Москва, Россия)
- Раджабова Замира Ахмед-Гаджиевна (Санкт-Петербург, Россия)
- Редина Ольга Евгеньевна (Новосибирск, Россия)
- Решетов Игорь Владимирович (Москва, Россия)
- Ризванов Альберт Анатольевич (Казань, Россия)
- Розенберг Юлий Маркович (Москва, Россия)
- Рустамов Рахмонжон Равшанович (Тюмень, Россия)
- Секачева Марина Игоревна (Москва, Россия)
- Семенов Алексей Владимирович (Москва, Россия)
- Смирнов Александр Александрович (Санкт-Петербург, Россия)
- Суворова Галина Николаевна (Самара, Россия)
- Тараткин Марк Сергеевич (Москва, Россия)
- Таширева Любовь Александровна (Томск, Россия)
- Федоров Игорь Владимирович (Москва, Россия)
- Чельшев Юрий Александрович (Казань, Россия)
- Чумаков Петр Михайлович (Москва, Россия)
- Шевченко Юлия Александровна (Новосибирск, Россия)
- Шевчук Алексей Сергеевич (Москва, Россия)
- Шендер Виктория Олеговна (Москва, Россия)
- Шершевер Александр Сергеевич (Екатеринбург, Россия)
- Шестакова Екатерина Алексеевна (Москва, Россия)
- Шубин Виталий Павлович (Москва, Россия)
- Шульпекова Юлия Олеговна (Москва, Россия)
- Щанова Наталья Олеговна (Екатеринбург, Россия)
- Эктов Владимир Николаевич (Воронеж, Россия)
- Якимов Юрий Алексеевич (Тюмень, Россия)

За научное редактирование текстов выражаем признательность Люсиной Екатерине Олеговне.

За помощь в техническом редактировании текстов и проверке списков литературы редакция выражает огромную благодарность аспиранту Сеченовского Университета Гуляевой Ксении Александровне и студентам: Привалову Максиму Александровичу, Волкову Денису Павловичу, Трашкун Эвелине Максимовне, Дадунц Диане Армановне, Бойковой Полине Витальевне, Грендо Екатерине Юрьевне, Прокофьеву Сергею Геннадьевичу, Федорову Владиславу Романовичу, Текаевой Амине Хусаиновне, Козловой Полине Эдуардовне.

Редакция благодарит Коряшкину Татьяну Георгиевну за создание замечательных иллюстраций.

## Acknowledgements for peer review and assistance in preparing manuscripts for publication

The editors of the Sechenov Medical Journal express deep and warm gratitude to the following experts for reviewing manuscripts submitted to the Journal in 2023:

- Alexander G. Alekseev (Moscow, Russia)
- Elena R. Andreeva (Moscow, Russia)
- Evgeniy E. Achkasov (Moscow, Russia)
- Yaroslav I. Ashikhmin (Moscow, Russia)
- Tatyana A. Bairova (Irkutsk, Russia)
- Vladimir V. Baytyakov (Saransk, Russia)
- Anastasia V. Balashova (Moscow, Russia)
- Viktor V. Banin (Moscow, Russia)
- Yulia G. Birulina (Tomsk, Russia)
- Mikhail L. Blagonravov (Moscow, Russia)
- Tatyana V. Boronikhina (Moscow, Russia)
- Evgeniya V. Bublik (Moscow, Russia)
- Elena L. Bueverova (Moscow, Russia)
- Ekaterina L. Bulanova (Moscow, Russia)
- Olga Yu. Bushueva (Kursk, Russia)
- Igor I. Bykov (Moscow, Russia)
- Vyacheslav E. Varentsov (Moscow, Russia)
- Alisa B. Villert (Tomsk, Russia)
- Olga V. Vorobyeva (Moscow, Russia)
- Marina V. Gorbunova (Orel, Russia)
- Galina I. Gridneva (Moscow, Russia)
- Dmitriy G. Deryabin (Moscow, Russia)
- Natalia V. Drobotya (Rostov-on-Don, Russia)
- Svetlana O. Dubrovina (Rostov-on-Don, Russia)
- Artem V. Ershov (Krasnoyarsk, Russia)
- Natalia B. Zakharova (Saratov, Russia)
- Svetlana D. Zvereva (Moscow, Russia)
- Angelina V. Zorkina (Saransk, Russia)
- Marina N. Ivashchenko (Nizhny Novgorod, Russia)
- Olga B. Irtyuga (St. Petersburg, Russia)
- Anton I. Kanev (Moscow, Russia)
- Dmitriy S. Kostyushev (Moscow, Russia)
- Sergey L. Kuznetsov (Moscow, Russia)
- Alexander A. Kulikov (Moscow, Russia)
- Anvar I. Kurmukov (Moscow, Russia)
- Vladimir V. Kustov (Tyumen, Russia)
- Sergey V. Martyanov (Moscow, Russia)
- Roman V. Maslennikov (Moscow, Russia)
- Luca Maestroni (Italy)
- Valery N. Mineev (St. Petersburg, Russia)
- Andrey O. Morozov (Moscow, Russia)
- Olga L. Morozova (Moscow, Russia)
- Marina V. Nemtsova (Moscow, Russia)
- Andrey V. Nikitin (Minsk, Belarus)
- Nikolay S. Nikolaev (Cheboksary, Russia)
- Sergey V. Netesov (Novosibirsk, Russia)
- Vladimir D. Parshin (Moscow, Russia)
- Sergey P. Peretyagin (Nizhny Novgorod, Russia)
- Sergey V. Pirozhkov (Moscow, Russia)
- Vladimir M. Pisarev (Moscow, Russia)
- Andrey P. Polyakov (Moscow, Russia)
- Gennady A. Pyavchenko (Moscow, Russia)
- Zamira A.-G. Radjabova (St. Petersburg, Russia)
- Olga E. Redina (Novosibirsk, Russia)
- Igor V. Reshetov (Moscow, Russia)
- Albert A. Rizvanov (Kazan, Russia)
- Yuliy M. Rozenberg (Moscow, Russia)
- Rakhmonjon R. Rustamov (Tyumen, Russia)
- Marina I. Sekacheva (Moscow, Russia)
- Aleksey V. Semenov (Moscow, Russia)
- Alexander A. Smirnov (St. Petersburg, Russia)
- Galina N. Suvorova (Samara, Russia)
- Mark S. Taratkin (Moscow, Russia)
- Lyubov A. Tashireva (Tomsk, Russia)
- Igor V. Fedorov (Moscow, Russia)
- Yuriy A. Chelyshev (Kazan, Russia)
- Petr M. Chumakov (Moscow, Russia)
- Yulia A. Shevchenko (Novosibirsk, Russia)
- Aleksey S. Shevchuk (Moscow, Russia)
- Victoria O. Shender (Moscow, Russia)
- Alexander S. Shershever (Ekaterinburg, Russia)
- Ekaterina A. Shestakova (Moscow, Russia)
- Vitaliy P. Shubin (Moscow, Russia)
- Yulia O. Shulpekova (Moscow, Russia)
- Natalia O. Shchanova (Ekaterinburg, Russia)
- Vladimir N. Ektov (Voronezh, Russia)
- Yuriy A. Yakimov (Tyumen, Russia)

For scientific editing of the manuscripts, we express our warm gratitude to Ekaterina O. Lyusina.

The editors of the Sechenov Medical Journal express their deep gratitude for the assistance with the technical editing of the texts and checking the bibliography to postgraduate student Kseniya A. Gulyaeva and to the students of Sechenov University: Maxim A. Privalov, Denis P. Volkov, Evelina M. Trashkun, Diana A. Daduns, Polina V. Boykova, Ekaterina U. Grendo, Sergei G. Prokofev, Vladislav R. Fedorov, Amina Kh. Tekaeva, Polina E. Kozlova.

The editorial team would like to thank Tatiana G. Koryashkina for creating wonderful illustrations.



Area with horizontal dashed lines for notes.



ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России  
(Сеченовский Университет)