



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-1-0-9

УДК 616.12

# Молекулярный профиль людей разного возраста в «норме» и при дилатационной кардиомиопатии

К.П. Кравченко<sup>1</sup> , В.О. Полякова<sup>2</sup> , Д.С. Медведев<sup>1</sup> , Д.В. Троцюк<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Автономная научная некоммерческая организация высшего образования научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», пр. Динамо, д. 3, г. Санкт-Петербург, 197110, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии», Лиговский пр., д. 2-4, г. Санкт-Петербург, 191036, Российская Федерация

<sup>3</sup> Частное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Кондратьевский пр., д. 72А, г. Санкт-Петербург, 195271, Российская Федерация  
*Автор для переписки: Д.В. Троцюк (dinatrotsyuk@yandex.ru)*

## Резюме

**Актуальность:** Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) является сердечно-сосудистой патологией, перспективной для рассмотрения в качестве клинической модели преждевременного старения организма. Клиническое значение для оценки преждевременного старения организма на модели ДКМП, согласно данным литературы, могут иметь сиртуины-1, 2, 3, 6; мелатонин и рецепторы к нему (MT-1 и MT-2); маркеры клеточного старения (белки p16, p21) и апоптоза (BAX). Сравнительного изучения экспрессии указанных молекул у людей разного возраста в зависимости от наличия ДКМП ранее не проводилось. **Цель исследования:** Выявить и сравнить молекулярные профили у людей разного возраста с отсутствием сердечно-сосудистых заболеваний и наличием ДКМП по уровню экспрессии изучаемых сигнальных молекул в буккальном эпителии и аутопсийном материале миокарда. **Материалы и методы:** Проведено исследование буккального эпителия (174 человека) и аутопсийного материала миокарда (175 человек) у пациентов 45-89 лет на предмет экспрессии сигнальных молекул: сиртуины 1, 2, 3, 6, белки p16, p21 и BAX. Использовались методы иммуноцитохимического и иммуногистохимического исследования. Выделены группы среднего, пожилого и старческого возраста с ДКМП и без сердечно-сосудистой патологии в анамнезе. **Результаты:** Выявлены характерные изменения молекулярного профиля (уровень исследуемых сигнальных молекул) в буккальном эпителии, ассоциированные с возрастом и наличием ДКМП: у пациентов среднего возраста – снижение уровня экспрессии сиртуинов 3 и 6 в 2,2-2,3 раза, мелатонина в 1,8 раза и его рецепторов в 1,4-2,5 раза; у пациентов пожилого возраста – снижение экспрессии сиртуинов 1 и 3 в 2,5 раза; сиртуина 2 в 2,3 раза; мелатонина и рецепторов к нему 1,4-1,8 раза; у пациентов старческого возраста – снижение экспрессии сиртуинов 3 и 6 в 3,0-4,7 раза; сиртуинов 1 и 2 в 6,7-7,3 раза; мелатонина в 2,8 раза; MT-1 – в 4,1 раза и MT-2 – в 23,7 раза. Дополнительную диагностическую информативность в диагностике ДКМП у лиц различных возрастных групп имеет повышение экспрессии белков p16 и BAX в 0,6-0,8 раза в буккальном эпителии. Наблюдается взаимосвязь изменений экспрессии данных молекул в буккальном

эпителии и аутопсийном материале миокарда. **Заключение:** Молекулярные профили у людей различных возрастных групп, определяемые по уровню экспрессии изученных сигнальных молекул достоверно различаются в зависимости от наличия ДКМП. Характерно, что направленность изменений в буккальном эпителии носит сходный характер с соответствующим молекулярным профилем в аутопсийном материале миокарда.

**Ключевые слова:** дилатационная кардиомиопатия; сиртуины; мелатонин и рецепторы к нему; BAX; молекулярный профиль; возрастные изменения; преждевременное старение

**Для цитирования:** Кравченко КП, Полякова ВО, Медведев ДС, и др. Молекулярный профиль людей разного возраста в «норме» и при дилатационной кардиомиопатии. Научные результаты биомедицинских исследований. 2024;10(1):143-155. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-1-0-9

# The molecular profile people of different ages in «normal» and with dilated cardiomyopathy

Kirill P. Kravchenko<sup>1</sup> , Victoria O. Polyakova<sup>2</sup> , Dmitrii S. Medvedev<sup>1</sup> ,  
Dina V. Trotsyuk<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology,  
3 Dinamo Ave., Saint-Petersburg, 197110, Russia

<sup>2</sup> Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology,  
2-4 Ligovskii Ave., Saint-Petersburg, 191036, Russia

<sup>3</sup> Saint-Petersburg Medico-Social Institute,  
72A Kondratievskii Ave., Saint-Petersburg, 195271, Russia

Corresponding author: Dina V. Trotsyuk (dinatrosyuk@yandex.ru)

## Abstract

**Background:** Dilated cardiomyopathy (DCMP) is a cardiovascular pathology promising for consideration as a clinical model of premature aging of the body. According to the literature, sirtuins-1, 2, 3, 6; melatonin and its receptors (MT-1 and MT-2); markers of cellular aging (proteins p16, p21) and apoptosis (BAX) may have clinical significance for assessing premature aging of the body on the DCMP model. A comparative study of the expression of these molecules in people of different ages, depending on the presence of DCMP, has not been conducted before. **The aim of the study:** To identify and compare molecular profiles by the level of expression of the studied signaling molecules in the buccal epithelium and autopsy material of the myocardium in people of different ages with the absence of cardiovascular diseases and the presence of dilated cardiomyopathy. **Materials and methods:** A study of buccal epithelium (174 people) and autopsy material of myocardium (175 people) in patients aged 45-89 years for the expression of signaling molecules: sirtuins 1, 2, 3, 6, proteins p16, p21 and BAX, was conducted. Methods of immunocytochemical and immunohistochemical studies were used. Groups of middle, elderly and senile age with DCMP and without a history of cardiovascular pathology were identified. **Results:** Characteristic changes in the molecular profile (the level of the studied signaling molecules) in the buccal epithelium associated with age and the presence of DCMP were revealed: in middle-aged patients – a decrease in the expression of sirtuins 3 and 6 by 2,2-2,3 times, melatonin by 1,8 times and its receptors by 1,4-2,5 times; in elderly patients – a decrease in the expression of sirtuins 1 and 3 by 2,5 times; sirtuin 2 by 2,3 times; melatonin and its receptors by 1,4-1,8 times; in elderly patients – a decrease in the expression of sirtuins 3 and 6 by 3,0-4,7 times; sirtuins 1 and 2 by 6,7-7,3 times; melatonin by 2,8 times; MT-1 – 4,1 times and MT-2 – 23,7 times. An increase in the expression of p16 and BAX proteins by 0,6-0,8 times in the buccal

epithelium has additional diagnostic information in the diagnosis of DCMР in individuals of different age groups. There is a correlation between changes in the expression of these molecules in the buccal epithelium and the autopsy material of the myocardium. **Conclusion:** Molecular profiles in people of different age groups, determined by the level of expression of the studied signaling molecules, significantly differ depending on the presence of DCMР. It is characteristic that the direction of changes in the buccal epithelium is similar to the corresponding molecular profile in the autopsy material of the myocardium.

**Keywords:** dilated cardiomyopathy; sirtuin; melatonin; BAX; age-related changes; premature aging

**For citation:** Kravchenko KP, Polyakova VO, Medvedev DS, et al. The molecular profile people of different ages in «normal» and with dilated cardiomyopathy. Research Results in Biomedicine. 2024;10(1):143-155. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-1-0-9

**Введение.** Изменения, затрагивающие сердечно-сосудистую систему и наступающие с возрастом, приводят к ухудшению функционирования миокарда (очаговая атрофия мышечных волокон, эндомиокардиальный фиброз, ухудшение распространения импульсов по проводящей системе, дисфункция активности пейсмейкеров и др.) и сосудистого русла (повышение жесткости и общего периферического сопротивления сосудов, атеросклеротические изменения, снижение количества функционирующих капилляров на единицу площади) [1]. Указанные процессы ассоциированы с развитием ишемической болезни сердца, клапанной дисфункции, артериальной гипертензии, кардиомиопатий, хронической сердечной недостаточности. Развитие данных патологических состояний в свою очередь ускоряет течение возрастных изменений, и обуславливает в конечном счете развитие старения по патологическому типу.

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) является, по нашему мнению, перспективной для рассмотрения в качестве клинической модели преждевременного старения организма с современных позиций. Для этого заболевания характерно развитие процесса старения по патологическому типу. В основе ДКМП лежит дилатация камер сердца, преимущественно левого желудочка, что приводит к появлению систолической дисфункции [2]. Порядка 30% всех случаев ДКМП обусловлено мутациями на генном уровне, приводящими к нарушению образования белков, формиру-

ющих мышечный цитоскелет кардиомиоцитов (в первую очередь, дистрофины, ламинин). При их дефиците развивается дистрофия миокарда, снижается передача возбуждения, происходит медленное «ослабление» насосной функции сердца. Если несколько десятилетий назад ДКМП встречалась преимущественно у людей молодого возраста, то благодаря развитию социально-медицинских технологий сегодня ДКМП составляет значительную долю у лиц старше 60 лет [3].

Уточнение клеточно-молекулярных механизмов патогенеза заболеваний, вызывающих преждевременное старение, позволяет разрабатывать новые подходы к диагностике и лечению пациентов старших возрастных групп. Одним из направлений для решения этой задачи является изучение молекулярного профиля при старении в норме и при ДКМП, а также выявление диагностических маркеров преждевременного старения организма. Среди сигнальных молекул, которые по данным литературы могут иметь диагностическую ценность и клинически значимое прогностическое значение для оценки преждевременного старения организма на модели ДКМП, выделяют сиртуины (SIRT)-1, 2, 3, 6; мелатонин (MT) и рецепторы к нему (MT-1, MT-2); маркеры клеточного старения (белки p16, p21) и апоптоза (Bcl-2-ассоциированный X-белок, BAX) [4-9]. Сравнительного изучения экспрессии указанных молекул у людей разного возраста, имеющих ДКМП и не имеющих верифицированных сердечно-сосудистых заболеваний, до сих пор не проводилось.

**Цель исследования.** Выявление и сравнение молекулярных профилей у людей разного возраста с отсутствием сердечно-сосудистых заболеваний («норма») и наличием ДКМП по уровню экспрессии изучаемых сигнальных молекул в буккальном эпителии и аутопсийном материале миокарда.

**Материалы и методы исследования.** У пациентов 45-89 лет было проведено исследование буккального эпителия (БЭ) (174 человека) и аутопсийного материала миокарда (АММ) (175 человек). Обследуемые были разделены на две группы: с наличием ДКМП, верифицированной согласно современным рекомендациям, и с отсутствием сердечно-сосудистой патологии. Материалы для исследования были получены в СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2» (г. Санкт-Петербург). В полученных материалах оценива-

лась площадь экспрессии сигнальных молекул SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6; мелатонина и рецепторов к нему MT-1, MT-2; белков p16, p21 и BAX при помощи иммуноцитохимического, иммуногистохимического методов и компьютерного анализа микроскопических изображений.

Взятие материала слизистой оболочки щеки (буккальный эпителий) проводилось после полоскания полости рта 0,9% раствором хлорида натрия, через 4 и более часа после приема пищи. Для забора БЭ использовались одноразовые стерильные зонды с синтетическим ворсом, использовались стерильные одноразовые пробирки «эпшендорф» с транспортной средой. Цитологические мазки были подготовлены при помощи метода (автоматизированная система Novoprep, Франция). В таблице 1 представлена характеристика пациентов, у которых было проведено исследование БЭ.

Таблица 1

**Характеристика пациентов, у которых было проведено исследование буккального эпителия**

Table 1

**Characteristics of patients in whom the buccal epithelium was examined**

Характеристика выборки	Возраст, лет					
	Средний возраст (45-59 лет)		Пожилой возраст (60-74 лет)		Старческий возраст (75-89 лет)	
	Норма	ДКМП	Норма	ДКМП	Норма	ДКМП
Количество пациентов	22	37	23	34	19	39
Количество мужчин	13	29	15	29	12	32
Количество женщин	9	8	8	5	7	7
Средний возраст, лет	51,4±1,3	54,2±1,9	65,8±2,3	71,3±2,1	82,5±2,5	86,2±1,9

Аутопсийный материал был получен от пациентов с верифицированной ДКМП, в качестве группы сравнения использовался АММ, забранный от людей с отсутствием кар-

диоваскулярной патологии в анамнезе («нормальный» АММ). В таблице 2 представлена характеристика групп пациентов, от которых был получен аутопсийный материал.

Таблица 2

**Характеристика групп пациентов, от которых был получен аутопсийный материал**

Table 2

**Characteristics of the groups of patients from whom autopsy material was obtained**

Характеристика выборки	Возраст, лет					
	Средний возраст (45-59 лет)		Пожилой возраст (60-74 лет)		Старческий возраст (75-89 лет)	
	Норма	ДКМП	Норма	ДКМП	Норма	ДКМП
Количество пациентов	20	35	25	35	18	42
Количество мужчин	13	28	16	30	12	35
Количество женщин	7	7	9	5	6	7
Средний возраст, лет	54,7±1,8	49,1±2,1	68,3±2,4	69,2±1,7	78,3±1,5	81,1±2,3

Для иммуноцитохимического исследования БЭ и иммуногистохимического исследования АММ использовали первичные

моноклональные антитела, представленные в таблице 3.

Таблица 3

**Первичные моноклональные антитела, использованные для исследования  
буккального эпителия и аутопсийного материала миокарда**

Table 3

**Primary monoclonal antibodies used for the study of the buccal epithelium  
and myocardium autopsy material**

Антитела	Фирма	Разведение
Сиртуин-1	Dako	1:75
Сиртуин-2	Dako	1:100
Сиртуин-3	Dako	1:50
Сиртуин-6	Dako	1:100
Мелатонин	Abcam	1:120
Рецептор к мелатонину MT1	Abcam	1:50
Рецептор к мелатонину MT2	Abcam	1:100
p16	Abcam	1:100
p21	Abcam	1:50
BAH	Abcam	1:100

В качестве вторичных антител для проведения иммунофлуоресцентной реакции использовали антитела, конъюгированные с флуорохромом Alexa Fluor 647 (Abcam, Англия, 1:1000). Материал инкубировали 30 мин при комнатной температуре в темноте. Ядра клеток докрашивали Hoechst 33258 (Sigma, США). Визуализацию результатов иммунофлуоресцентного окрашивания осуществляли с помощью конфокального микроскопа Zeiss LSM 980. Для оценки результатов иммунофлуоресцентного окрашивания было проведено морфометрическое исследование с помощью системы компьютерного анализа микроскопических изображений Image J. В каждом случае анализировали 5 полей зрения при x200. Проводилось измерение площади экспрессии. Площадь экспрессии рассчитывалась как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения и выражалась в процентах для маркеров с цитоплазматическим окрашиванием и как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными ядрами к общей площади ядер в поле зрения для маркеров с ядерной экспрессией.

Для статистической обработки полученных результатов использовалось про-

граммное обеспечение Statistica 7.0. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы по критерию Стьюдента (об отсутствии различий) принимали равным 0,01.

**Результаты и их обсуждение.** В зависимости от уровня исследуемых сигнальных молекул были выявлены характерные изменения молекулярного профиля, ассоциированные с возрастом и наличием ДКМП.

*Молекулярный профиль людей среднего возраста в «норме» и при ДКМП.* У пациентов среднего возраста с дилатационной кардиомиопатией в БЭ было установлено достоверное уменьшение площади экспрессии SIRT3 в 2,2-2,3 раза ( $p=0,004$ ); SIRT1, SIRT2 в 1,7-2 раза ( $p=0,000$  и  $p=0,002$  соответственно). Отмечена тенденция к снижению экспрессии SIRT6 в 2,2-2,3 раза ( $p=0,021$ ); мелатонина в 1,8 раза ( $p=0,052$ ). Экспрессия рецепторов к мелатонину MT-2 достоверно уменьшалась в 1,4-2,5 раза ( $p=0,002$ ) при сравнении с группой пациентов соответствующего возраста, не имевших ДКМП. В АММ у пациентов с ДКМП отмечено достоверное уменьшение площади экспрессии SIRT3, SIRT6 в 1,3-1,6 раза ( $p=0,000$  в обоих случаях); SIRT1, SIRT2 в 2-2,2 раза ( $p=0,000$  и  $p=0,001$  соответственно); мелатонина в 1,7 раза



( $p=0,000$ ). Площадь экспрессии рецепторов к мелатонину МТ-2 уменьшалась в 1,2-1,3 раза ( $p=0,002$ ), увеличивалась площадь экспрессии белка р16 в 1,2 раза ( $p=0,010$ ) при сравнении с соответствующим возрастом в норме.

Была также отмечена тенденция к снижению экспрессии МТ-1 в 1,4-2,5 раза, повышению экспрессии маркеров старения

р16, р21 и ВАХ в 0,6 раза в буккальном эпителии, увеличению площади экспрессии р21 в 1,2 раза и маркера апоптоза ВАХ в 1,7 раза в аутопсийном материале миокарда, однако различия не были статистически значимы.

Данные, иллюстрирующие площадь экспрессии исследуемых сигнальных молекул, представлены на рисунке 1.

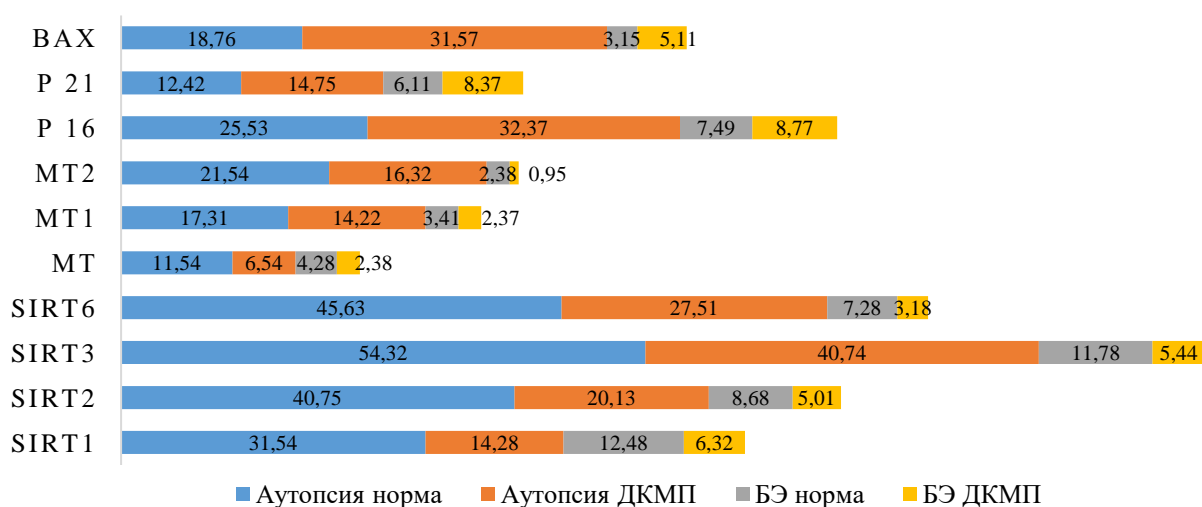


Рис.1. Площадь экспрессии SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6, мелатонина и рецепторов к нему МТ-1, МТ-2, р16, р21 и ВАХ в норме и при ДКМП в БЭ и аутопсийном материале миокарда людей среднего возраста (%).

Fig. 1. The expression area of SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6, melatonin and its receptors МТ-1, МТ-2, р16, р21 and ВАХ in normal and DCMP in the buccal epithelium and autopsy material of the myocardium of middle-aged people (%).

*Молекулярный профиль людей пожилого возраста в «норме» и при ДКМП.* Выявлено, что уровень экспрессии сигнальных молекул SIRT1 ( $p=0,000$ ), SIRT2 ( $p=0,003$ ), SIRT3 ( $p=0,007$ ), SIRT6 ( $p=0,004$ ) в БЭ у людей пожилого возраста без сердечно-сосудистой патологии достоверно уменьшился в 1,7-2,2 раза. У группы лиц пожилого возраста выявлено достоверное уменьшение площади экспрессии в аутопсийном материале миокарда сигнальных молекул: SIRT1, SIRT2, SIRT6 в 1,3-1,4 раза ( $p=0,003$ ;  $p=0,000$  и  $p=0,001$  соответственно); SIRT3, мелатонина и рецепторов к нему МТ-1 и МТ-2 – в 1,5-1,6 раза ( $p=0,000$  во всех случаях) и увеличение площади экспрессии маркеров старения р16, р21 и маркера апоптоза ВАХ в 1,3-1,5 раза

при сравнении с материалом группы лиц среднего возраста ( $p=0,000$ ;  $p=0,002$  и  $p=0,000$  соответственно).

При дилатационной кардиомиопатии у пациентов пожилого возраста в аутопсийном материале миокарда установлено: достоверное уменьшение площади экспрессии SIRT6 в 1,6 раза; SIRT1, SIRT3 в 2,5 раза; SIRT2 в 2,3 раза; мелатонина и рецепторов к нему МТ-2 в 1,4-1,8 раза и увеличение площади экспрессии маркера апоптоза ВАХ в 1,4 раза ( $p=0,000$  во всех случаях). Уровень р21 остался практически без изменений при сравнении с соответствующей возрастной группой в норме. У пациентов пожилого возраста при дилатационной кардиомиопатии в БЭ установлено уменьшение площади экспрессии SIRT6 в 2 раза

( $p=0,011$ ); достоверное снижение экспрессии SIRT1, SIRT3 в 2 раза; SIRT2 в 2,7 раза ( $p=0,001$  во всех случаях). Отмечено снижение мелатонина и рецепторов к нему MT-2 в 1,9-3,4 раза ( $p=0,017$  и  $p=0,000$  соответственно) и увеличение площади экспрессии маркера старения p21 в 0,7 раза ( $p=0,034$ ).

Дополнительно отмечена тенденция к уменьшению экспрессии мелатонина и

рецепторов к нему MT-1 и MT-2 – в 1,3-1,8 раза и увеличению площади экспрессии маркеров p16, p21 и BAX в 0,63-0,8 раза при сравнении с материалом группы лиц среднего возраста в буккальном эпителии и увеличению площади экспрессии p16 в 1,1 раза и BAX в 1,4 раза в АММ.

Полученные данные представлены на рисунке 2.

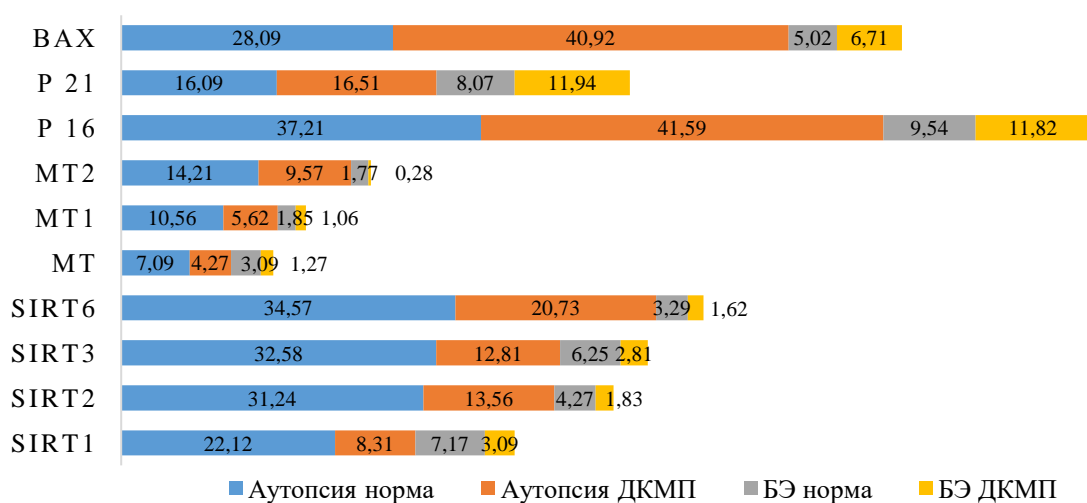


Рис. 2. Площадь экспрессии SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6, мелатонина и рецепторов к нему MT-1, MT-2, p16, p21 и BAX в норме и при ДКМП в БЭ и аутопсийном материале миокарда у людей пожилого возраста (%).

Fig. 2. The expression area of SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6, melatonin and its receptors MT-1, MT-2, p16, p21 and BAX in normal and DCMP in the buccal epithelium and autopsy material of the myocardium in elderly people (%).

*Молекулярный профиль людей старческого возраста в «норме» и при ДКМП.* Отмечено достоверное уменьшение площади экспрессии SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6 в БЭ в группе лиц старческого возраста в 2,6-4,1 раза ( $p=0,000$  во всех случаях); мелатонина и рецепторов к нему MT-1, MT-2 – в 2,5-6 раз ( $p=0,007$ ;  $p=0,000$  и  $p=0,000$  соответственно). Установлено достоверное уменьшение площади экспрессии в АММ в группе лиц старческого возраста: SIRT2, SIRT6 в 1,7-1,8 раза; SIRT1, SIRT3 – в 2,3-3 раза, мелатонина и рецепторов к нему MT-1, MT-2 – в 3,3-4 раза ( $p=0,000$  во всех случаях) и достоверное увеличение площади экспрессии маркеров старения p16, p21 и маркера апоптоза BAX

в 1,4-1,8 раза ( $p=0,000$ ;  $p=0,006$  и  $p=0,000$  соответственно), по сравнению с материалом группы лиц среднего возраста.

В старческом возрасте у пациентов с ДКМП в аутопсийном материале миокарда отмечено достоверное уменьшение площади экспрессии: SIRT1, SIRT2, SIRT6 в 2-2,3 раза; SIRT3 в 5,6 раза; мелатонина в 3,2 раза; MT-1 – в 2 раза и MT-2 – в 4 раза, при увеличении площади экспрессии маркеров p16, BAX в 1,3-1,4 раза ( $p=0,000$  во всех случаях). Уровень p21 остался практически без изменений при сравнении с соответствующей возрастной группой в норме. В БЭ у пациентов данной возрастной группы выявлено достоверное уменьшение площади экспрессии: SIRT3, SIRT6 в 3-4,7

раза; SIRT1, SIRT2 в 6,7-7,3 раза ( $p=0,000$  во всех случаях). Отмечена тенденция к снижению экспрессии мелатонина в 2,8 раза ( $p=0,013$ ) и МТ-2 – в 23,7 раза ( $p=0,000$ ), Уровень экспрессии p16, p21 и

ВАХ в буккальном эпителии был сопоставим с таковым у лиц старческого возраста, не имевших ДКМП. Данные представлены на рисунке 3.

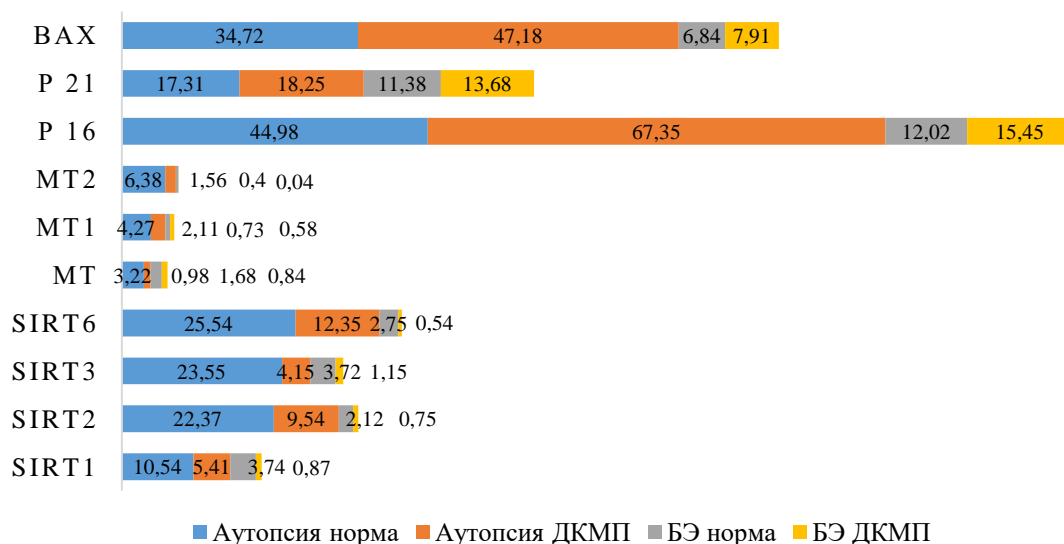


Рис. 3. Площадь экспрессии SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6, мелатонина и рецепторов к нему МТ-1, МТ-2, p16, p21 и ВАХ в норме и при ДКМП в БЭ и аутопсийном материале миокарда у людей старческого возраста (%).

Fig. 3. The expression area of SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6, melatonin and its receptors МТ-1, МТ-2, p16, p21 and ВАХ in normal and DCMP in the buccal epithelium and autopsy material of the myocardium in senile people (%).

Согласно литературным данным, уровень сиртуинов снижается при гипертрофии миокарда, хронической сердечной недостаточности [10, 11]. Кроме этого, отмечается снижение экспрессии мелатонина и рецепторов к нему МТ-1 и МТ-2, участвующих в регуляции ответа при повреждении миокарда, воспалении, окислительном стрессе, метаболических нарушениях и старении [12, 13]. В ряде исследований отмечено, что экспрессия маркеров клеточного старения p16, p21 и апоптоза ВАХ при старении и сердечно-сосудистых заболеваниях увеличивается [14, 15].

Уровень важнейших агентов, участвующих в регуляции функционирования миокарда - сиртуинов-1, 2, 3 и 6, а также мелатонина и его рецепторов (МТ-1, МТ-2) снижается с возрастом как в буккальном эпителии, так и в кардиомиоцитах, наблюдается увеличение маркеров клеточного старения

и апоптоза – белков p16, p21 и ВАХ. При отсутствии сердечно-сосудистой патологии в буккальном эпителии, клетках миокарда и культурах кардиомиоцитов этот процесс выражен умеренно, тогда как при ускоренном старении, ассоциированным с дилатационной кардиомиопатией, эта тенденция значительно нарастает. Полученные данные свидетельствуют о том, что при сердечно-сосудистой патологии повышается активность воспаления, окислительного стресса и клеточной гибели и согласуются с результатами проведенных ранее исследований в отношении экспрессии указанных сигнальных молекул. [4, 8, 10, 15, 16, 17]. Более низкая экспрессия рассматриваемых сиртуинов и мелатонина и его рецепторов, а также больший уровень белков p16, p 21 и ВАХ выявлены у лиц, имеющих ДКМП, вне зависимости от возраста как в буккальном эпителии, так и в аутопсийном



материале миокарда. Полученные данные свидетельствуют об участии этих молекул в патогенезе дилатационной кардиомиопатии.

По результатам проведенного исследования выявлено, что молекулярные профили у людей различных возрастных групп, определяемые по уровню экспрессии сигнальных молекул SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6, мелатонина и рецепторов к нему MT-1, MT-2, а также молекул p16, p21 и BAX в БЭ, достоверно различаются в зависимости от наличия ДКМП, что имеет важное значение для дифференциальной диагностики данного заболевания. Характерно, что направленность изменений в буккальном эпителии носит сходный характер с соответствующим молекулярным профилем в аутопсийном материале миокарда. Соответственно, уменьшение площади экспрессии сиртуина 1 в 1,7-2,5 раза, сиртуина 2 в 1,7-2,3 раза, сиртуина 3 в 2,2-2,5 раза, сиртуина 4 в 2,2-2,3 раза, сиртуина 6 в 1,6-2,3 раза может расцениваться как маркер формирования ДКМП для лиц средней и пожилой возрастных групп; для лиц старческого возраста таковыми являются снижение сиртуинов 1 и 2 в 6,7-7,3 раза, сиртуина 6 в 5,6 раза. Выявленные изменения экспрессии сиртуинов объясняются тем, что данные молекулы играют важную роль в патогенезе воспаления, старения сосудов и патологии сердца [4]. Сиртуины-1 и 2 обладают кардио- и вазопротекторным действием, которое реализуется в том числе за счет подавления воспаления, поддержания липидного баланса, уменьшения выраженности атеросклеротических изменений сосудистой стенки. [5, 16]. По результатам проведенных ранее исследований, снижение уровня их экспрессии в сердце и сосудистой сети отмечается при гипертрофии миокарда, сахарном диабете 2 типа, сердечной недостаточности [18-21]. Снижение сиртуина-3, выявленное у пациентов с ДКМП, взаимосвязано с повышенным повреждением кардиомиоцитов, ускорением процессов ремоделирования миокарда [6]. Сиртуин-6 регулирует различные клеточ-

ные процессы при старении клеток, его экспрессия изменяется при ряде хронических сердечно-сосудистых заболеваний [22].

В качестве маркера преждевременного старения миокарда и формирования ДКМП может использоваться оценка экспрессии мелатонина и его рецепторов MT-1 и MT-2 в буккальном эпителии. Диагностически значимым, на основе полученных результатов, может считаться снижение в 1,4-3,4 раза в среднем и пожилом возрасте; для лиц старческой возрастной группы информативным следует считать снижение экспрессии MT-1 в 2 раза, MT-2 в 4 раза. Данные изменения коррелируют со снижением экспрессии указанных сигнальных молекул в миокарде. Снижение экспрессии мелатонина и его рецепторов у пациентов, имеющих ДКМП, объясняется тем, что мелатонин является регулятором обмена глюкозы и энергетического метаболизма [12], его ключевые эффекты опосредованы через мембранные рецепторы MT-1 и MT-2 [7, 23]. MT-1 выполняет защитную роль при окислительном стрессе и воспалительных процессах [18, 24]. MT-2 является эндогенным защитным агентом против повреждения миокарда при ишемии/реперфузии [17].

Рассматривая процессы клеточного старения и апоптоза, нельзя не отметить и роль других сигнальных молекул – белков p16, p21 и BAX [14]. Длительная экспрессия p16 «подталкивает» клетки к старению, необратимой остановке клеточного цикла, которая предотвращает рост потенциальных раковых клеток, но также способствует клеточному старению. Белок p21 участвует в регуляции воспалительного и окислительного стресса [8]. Bcl-2-ассоциированный X-белок является регулятором внутреннего, так называемого «митохондриально регулируемого» пути клеточной гибели, участвуя в ключевых этапах апоптоза [9]. Физиологическая функция BAX обеспечивает тканевую гомеостаз, нарушение регуляции данного белка приводит к аберрантной гибели клеток [15]. При ДКМП наиболее выраженные изменения экспрессии данных молекул отмечены в кардиомиоцитах в

виде увеличения экспрессии ВАХ в 1,4 раза в среднем возрасте и в 1,3-1,4 раза в пожилом возрасте. Статистически значимое увеличение экспрессии рассматриваемых маркеров старения p16 и p21 наблюдалось у лиц среднего возраста при ДКМП, в то время как в старших возрастных группах информативным было увеличение экспрессии только белка p16.

В связи с тем, что высокий уровень экспрессии сиртуинов способствует предотвращению развития дилатационной кардиомиопатии, инфаркта миокарда и эндотелиальной дисфункции, снижение уровня данной молекулы может рассматриваться в качестве одного из предикторов развития дисфункции миокарда и развития заболеваний сердца. Повышение экспрессии маркеров старения p16, p21 и апоптоза ВАХ, определяемое в биопсийном материале миокарда и культурах клеток миокарда, полученных от пациентов с ДКМП, может указывать на ускоренное старение сердечно-сосудистой системы.

**Заключение.** Молекулярные профили у лиц разного возраста с дилатационной кардиомиопатией, определяемые по уровню экспрессии сиртуинов 1, 2, 3, 6; мелатонина и рецепторов к нему MT-1, MT-2; а также белков p16, p21 и ВАХ в буккальном эпителии, достоверно различаются с соответствующими возрастными профилями при отсутствии сердечно-сосудистой патологии. При этом наблюдается взаимосвязь изменений экспрессии данных молекул в буккальном эпителии и аутопсийном материале миокарда. Полученные данные согласуются с результатами современных исследований, направленными на уточнение роли и значения оцениваемых в нашей работе сигнальных молекул в окислительном стрессе, воспалении и других патологических процессах, связанных с возрастзависимыми состояниями.

Наибольшую информативность для оценки изменений миокарда, ассоциированных с ДКМП, имеет оценка площади следующих сигнальных молекул в буккальном эпителии: у пациентов среднего возраста – снижение уровня экспрессии SIRT3

и SIRT6 в 2,2-2,3 раза, мелатонина в 1,8 раза и его рецепторов MT-1, MT-2 – в 1,4-2,5 раза; у пациентов пожилого возраста – снижение экспрессии SIRT1, SIRT3 в 2,5 раза; SIRT2 в 2,3 раза; мелатонина и рецепторов к нему 1,4-1,8 раза; у пациентов старческого возраста – снижение экспрессии SIRT3, SIRT6 в 3,0-4,7 раза; SIRT1, SIRT2 в 6,7-7,3 раза; мелатонина в 2,8 раза; MT-1 – в 4,1 раза и MT-2 – в 23,7 раза. Дополнительную диагностическую информативность в диагностике ДКМП у лиц различных возрастных групп имеет повышение экспрессии белков p16 и ВАХ в 0,6-0,8 раза в буккальном эпителии.

### **Информация о финансировании**

*Финансирование данной работы не проводилось.*

### **Financial support**

*No financial support has been provided for this work.*

### **Конфликт интересов**

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

### **Conflict of interests**

*The authors have no conflict of interest to declare.*

### **Список литературы**

1. Guo J, Huang X, Dou L, et al. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7:391. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01251-0>
2. Orphanou N, Papatheodorou E, Anastasakis A. Dilated cardiomyopathy in the era of precision medicine: latest concepts and developments. *Heart Failure Reviews*. 2022;27(4):1173-1191. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10741-021-10139-0>
3. Алаева ЕН, Нарусов ОЮ, Терещенко СН, и др. Диагностика и лечение дилатационной кардиомиопатии в повседневной клинической практике (данные первого российского регистра по дилатационной кардиомиопатии). *Кардиологический вестник*. 2014;2:54-61.
4. D'Onofrio N, Servillo L, Balestrieri ML. SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2018;28(8):711-732. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7178>

5. Wang Y, Yang J, Hong T, et al. SIRT2: Controversy and multiple roles in disease and physiology. *Ageing Research Reviews*. 2019;55:100961. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100961>
6. Sun W, Liu C, Chen Q, et al. SIRT3: A New Regulator of Cardiovascular Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018;2018:7293861. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/7293861>
7. Oishi A, Cecon E, Jockers R. Melatonin Receptor Signaling: Impact of Receptor Oligomerization on Receptor Function. *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2018;338:59-77. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2018.02.002>
8. Huang S, Xu M, Liu L, et al. Autophagy is involved in the protective effect of p21 on LPS-induced cardiac dysfunction. *Cell Death and Disease*. 2020;11(7):554. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02765-7>
9. Peña-Blanco A, García-Sáez AJ. Bax, Bak and beyond - mitochondrial performance in apoptosis. *The FEBS journal*. 2018;285(3):416-431. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.14186>
10. Sarikhani M, Maity S, Mishra S, et al. SIRT2 deacetylase represses NFAT transcription factor to maintain cardiac homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*. 2018;293(14):5281-5294. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.000915>
11. Grootaert MOJ, Finigan A, Figg NL, et al. SIRT6 Protects Smooth Muscle Cells From Senescence and Reduces Atherosclerosis. *Circulation Research*. 2021;128(4):474-491. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.318353>
12. Mohammadi-Sartang M, Ghorbani M, Mazloom Z. Effects of melatonin supplementation on blood lipid concentrations: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical Nutrition*. 2018;37(6 Pt A):1943-1954. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.11.003>
13. Kurhaluk N, Tkachenko H. Melatonin and alcohol-related disorders. *Chronobiology International*. 2020;37(6):781-803. DOI: <https://doi.org/10.1080/07420528.2020.1761372>
14. Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, et al. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *Journal of Clinical Investigation*. 2004;114(9):1299-1307. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI22475>
15. Spitz AZ, Gavathiotis E. Physiological and pharmacological modulation of BAX. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2022;43(3):206-220. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.11.001>
16. Taneja A, Ravi V, Hong JY, et al. Emerging roles of Sirtuin 2 in cardiovascular diseases. *FASEB Journal*. 2021;35(10):e21841. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.202100490R>
17. Han D, Wang Y, Chen J, et al. Activation of melatonin receptor 2 but not melatonin receptor 1 mediates melatonin-conferred cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Journal of Pineal Research*. 2019;67(1):e12571. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpi.12571>
18. Gu W, Cheng Y, Wang S, et al. PHD Finger Protein 19 Promotes Cardiac Hypertrophy via Epigenetically Regulating SIRT2. *Cardiovascular Toxicology*. 2021;21(6):451-461. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12012-021-09639-0>
19. Wu B, You S, Qian H, et al. The role of SIRT2 in vascular-related and heart-related diseases: A review. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2021;25(14):6470-6478. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.16618>
20. Zhao L, Tao X, Qi Y, et al. Protective effect of dioscin against doxorubicin-induced cardiotoxicity via adjusting microRNA-140-5p-mediated myocardial oxidative stress. *Redox Biology*. 2018;16:189-198. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.02.026>
21. Caporizzo MA, Prosser BL. The microtubule cytoskeleton in cardiac mechanics and heart failure. *Nature Reviews Cardiology*. 2022;19(6):364-378. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41569-022-00692-y>
22. Li Z, Zhang Z, Ren Y, et al. Aging and age-related diseases: from mechanisms to therapeutic strategies. *Biogerontology*. 2021;22(2):165-187. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10522-021-09910-5>
23. Tobeiha M, Jafari A, Fadaei S, et al. Evidence for the Benefits of Melatonin in Cardiovascular Disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;9:888319. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.888319>
24. Yan G, Yu L, Jiang S, et al. Melatonin antagonizes oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction in retinal pigmented epithelium cells via melatonin receptor 1 (MT1). *Journal of Toxicological Sciences*. 2018;43(11):659-669. DOI: <https://doi.org/10.2131/jts.43.659>

## References

1. Guo J, Huang X, Dou L, et al. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7:391. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01251-0>

2. Orphanou N, Papatheodorou E, Anastakis A. Dilated cardiomyopathy in the era of precision medicine: latest concepts and developments. *Heart Failure Reviews*. 2022;27(4):1173-1191. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10741-021-10139-0>
3. Alaeva EN, Narusov OYu, Tereshchenko SN, et al. Diagnosis and treatment of dilated cardiomyopathy in everyday clinical practice (data from the first Russian registry for dilated cardiomyopathy). *Cardiological Bulletin*. 2014;2:54-61. Russian.
4. D'Onofrio N, Servillo L, Balestrieri ML. SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection. Antioxidants and Redox Signaling. 2018;28(8):711-732. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7178>
5. Wang Y, Yang J, Hong T, et al. SIRT2: Controversy and multiple roles in disease and physiology. *Ageing Research Reviews*. 2019;55:100961. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100961>
6. Sun W, Liu C, Chen Q, et al. SIRT3: A New Regulator of Cardiovascular Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018;2018:7293861. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/7293861>
7. Oishi A, Cecon E, Jockers R. Melatonin Receptor Signaling: Impact of Receptor Oligomerization on Receptor Function. *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2018;338:59-77. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2018.02.002>
8. Huang S, Xu M, Liu L, et al. Autophagy is involved in the protective effect of p21 on LPS-induced cardiac dysfunction. *Cell Death and Disease*. 2020;11(7):554. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02765-7>
9. Peña-Blanco A, García-Sáez AJ. Bax, Bak and beyond - mitochondrial performance in apoptosis. *The FEBS journal*. 2018;285(3):416-431. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.14186>
10. Sarikhani M, Maity S, Mishra S, et al. SIRT2 deacetylase represses NFAT transcription factor to maintain cardiac homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*. 2018;293(14):5281-5294. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.000915>
11. Grootaert MOJ, Finigan A, Figg NL, et al. SIRT6 Protects Smooth Muscle Cells From Senescence and Reduces Atherosclerosis. *Circulation Research*. 2021;128(4):474-491. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.318353>
12. Mohammadi-Sartang M, Ghorbani M, Mazloom Z. Effects of melatonin supplementation on blood lipid concentrations: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical Nutrition*. 2018;37(6 Pt A):1943-1954. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.11.003>
13. Kurhaluk N, Tkachenko H. Melatonin and alcohol-related disorders. *Chronobiology International*. 2020;37(6):781-803. DOI: <https://doi.org/10.1080/07420528.2020.1761372>
14. Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, et al. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *Journal of Clinical Investigation*. 2004;114(9):1299-1307. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI22475>
15. Spitz AZ, Gavathiotis E. Physiological and pharmacological modulation of BAX. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2022;43(3):206-220. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.11.001>
16. Taneja A, Ravi V, Hong JY, et al. Emerging roles of Sirtuin 2 in cardiovascular diseases. *FASEB Journal*. 2021;35(10):e21841. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.202100490R>
17. Han D, Wang Y, Chen J, et al. Activation of melatonin receptor 2 but not melatonin receptor 1 mediates melatonin-conferred cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Journal of Pineal Research*. 2019;67(1):e12571. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpi.12571>
18. Gu W, Cheng Y, Wang S, et al. PHD Finger Protein 19 Promotes Cardiac Hypertrophy via Epigenetically Regulating SIRT2. *Cardiovascular Toxicology*. 2021;21(6):451-461. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12012-021-09639-0>
19. Wu B, You S, Qian H, et al. The role of SIRT2 in vascular-related and heart-related diseases: A review. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2021;25(14):6470-6478. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.16618>
20. Zhao L, Tao X, Qi Y, et al. Protective effect of dioscin against doxorubicin-induced cardiotoxicity via adjusting microRNA-140-5p-mediated myocardial oxidative stress. *Redox Biology*. 2018;16:189-198. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.02.026>
21. Caporizzo MA, Prosser BL. The microtubule cytoskeleton in cardiac mechanics and heart failure. *Nature Reviews Cardiology*. 2022;19(6):364-378. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41569-022-00692-y>
22. Li Z, Zhang Z, Ren Y, et al. Aging and age-related diseases: from mechanisms to therapeutic strategies. *Biogerontology*. 2021;22(2):165-187. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10522-021-09910-5>
23. Tobeiha M, Jafari A, Fadaei S, et al. Evidence for the Benefits of Melatonin in Cardiovas-



cular Disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;9:888319. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.888319>

24. Yan G, Yu L, Jiang S, et al. Melatonin antagonizes oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction in retinal pigmented epithelium cells via melatonin receptor 1 (MT1). *Journal of Toxicological Sciences*. 2018;43(11):659-669. DOI: <https://doi.org/10.2131/jts.43.659>

Статья поступила в редакцию 7 февраля 2023 г.  
Поступила после доработки 2 июня 2023 г.  
Принята к печати 15 июня 2023 г.

Received 7 February 2023

Revised 2 June 2023

Accepted 15 June 2023

#### Информация об авторах

**Кирилл Павлович Кравченко**, научный сотрудник отдела клинической геронтологии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [kirill.kravchenko.spb@yandex.ru](mailto:kirill.kravchenko.spb@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8824-1543>.

**Виктория Олеговна Полякова**, доктор биологических наук, профессор, профессор РАН, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [vopol@yandex.ru](mailto:vopol@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8682-9909>.

**Дмитрий Станиславович Медведев**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией восстановительного лечения

и реабилитации АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [mds@dsmedvedev.ru](mailto:mds@dsmedvedev.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7401-258X>.

**Дина Витальевна Троцюк**, старший преподаватель кафедры внутренних болезней им. проф. Б.И. Шулуток ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [dinatrotsyuk@yandex.ru](mailto:dinatrotsyuk@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0833-4385>.

#### Information about the authors

**Kirill P. Kravchenko**, Researcher at the Department of Clinical Gerontology, Saint-Petersburg Institute of bioregulation and gerontology, Saint-Petersburg, Russia, E-mail: [kirill.kravchenko.spb@yandex.ru](mailto:kirill.kravchenko.spb@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8824-1543>.

**Victoria O. Polyakova**, Doct. Sci. (Biology), Professor, Professor of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Research, Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, Saint-Petersburg, Russia, E-mail: [vopol@yandex.ru](mailto:vopol@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8682-9909>.

**Dmitrii S. Medvedev**, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Restorative Treatment and Rehabilitation, Saint-Petersburg Institute of bioregulation and gerontology, Saint-Petersburg, Russia, E-mail: [mds@dsmedvedev.ru](mailto:mds@dsmedvedev.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7401-258X>.

**Dina V. Trotsyuk**, Senior Lecturer at the Prof. B.I. Shulutko Department of Internal Medicine, Saint-Petersburg Medico-Social Institute, Saint-Petersburg, Russia, E-mail: [dinatrotsyuk@yandex.ru](mailto:dinatrotsyuk@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0833-4385>.