

**УСПЕХИ ГЕРОНТОЛОГИИ
ADVANCES IN GERONTOLOGY**



«ЭСКУЛАП» • САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2017

Russian Academy of Sciences
Division of Physiological Sciences
Scientific Council on Physiological Sciences
Gerontological Society

ADVANCES in GERONTOLOGY

V o l u m e 3 0, N^o 3

Editorial Board:

V. N. Anisimov (St. Petersburg) — Editor-in-Chief
V. Kh. Khavinson (St. Petersburg) — Deputy Editor-in-Chief
G. A. Ryzhak (St. Petersburg) — Executive Secretary
V. S. Baranov (St. Petersburg)
Yu. P. Nikitin (Novosibirsk)
A. D. Nozdrachev (St. Petersburg)
A. M. Olovnikov (Moscow)
I. G. Popovich (St. Petersburg)

Editorial Advisory Board:

| | | | |
|-------------------|----------------------|-------------------|--------------------|
| A. L. Azin | (Yoshkar-Ola) | I. M. Kvetnoy | (St. Petersburg) |
| A. V. Arutjunyan | (St. Petersburg) | A. V. Lysenko | (Rostov-on-Don) |
| A. L. Arieu | (St. Petersburg) | A. I. Martynov | (Moscow) |
| V. V. Bezrukov | (Kiev, Ukraine) | O. N. Mikhailova | (St. Petersburg) |
| V. V. Benberin | (Astana, Kazakhstan) | V. S. Myakotnikh | (Ekaterinburg) |
| M. Davidovich | (Beograd, Serbia) | M. A. Paltsev | (Moscow) |
| I. I. Eliseeva | (St. Petersburg) | K. I. Prashchayev | (Belgorod) |
| C. Francheschi | (Bologna, Italy) | S. I. S. Rattan | (Aarhus, Denmark) |
| E. Yu. Golubeva | (Arkhangelsk) | G. S. Roth | (Baltimore, USA) |
| N. D. Goncharova | (Sochi—Adler) | A. V. Sidorenko | (Vienna, Austria) |
| N. K. Gorshunova | (Kursk) | V. P. Skulachev | (Moscow) |
| A. N. Il'tnitsky | (Polotsk, Blarus) | G. A. Sofronov | (St. Petersburg) |
| E. N. Imyanitov | (St. Petersburg) | A. G. Soloviev | (Arkhangelsk) |
| V. T. Ivanov | (Moscow) | O. V. Tatarinova | (Yakutsk) |
| A. N. Khokhlov | (Moscow) | J. Vijg | (San Antonio, USA) |
| T. B. L. Kirkwood | (Newcastle, U. K.) | I. A. Vinogradova | (Petrozavodsk) |
| N. G. Kolosova | (Novosibirsk) | P. A. Vorobiev | (Moscow) |
| V. K. Koltover | (Chernogolovka) | R. Weindruch | (Madison, USA) |
| O. V. Korkushko | (Kiev, Ukraine) | T. von Zglinicki | (Newcastle, U. K.) |
| E. A. Korneva | (St. Petersburg) | E. G. Zotkin | (St. Petersburg) |
| G. P. Kotelnikov | (Samara) | A. I. Yashin | (Durham, USA) |
| A. V. Kulikov | (Pushchino) | | |

Published since 1997

Indexed in Index Medicus/MEDLINE; Index Copernicus; PubMed; Russian Science Citation Index (RSCI) at the Web of Science base; SCOPUS; included in Academic Journal Catalogue (AJC)

St. PETERSBURG • 2017

УСПЕХИ ГЕРОНТОЛОГИИ

Т о м 3 0, № 3

Редакционная коллегия:

| | | |
|-----------------|-------------------|-------------------------------------|
| В. Н. Анисимов | (Санкт-Петербург) | — главный редактор |
| В. Х. Хавинсон | (Санкт-Петербург) | — заместитель главного редактора |
| Г. А. Рыжак | (Санкт-Петербург) | — ответственный секретарь |
| В. С. Баранов | (Санкт-Петербург) | |
| Ю. П. Никитин | (Новосибирск) | |
| А. Д. Ноздрачёв | (Санкт-Петербург) | |
| А. М. Оловников | (Москва) | |
| И. Г. Попович | (Санкт-Петербург) | |

Редакционный совет:

| | | | |
|-------------------|---------------------------|-------------------|--------------------------|
| А. Л. Азин | (Йошкар-Ола) | В. К. Кольтовер | (Черноголовка) |
| А. В. Арутюнян | (Санкт-Петербург) | О. В. Коркушко | (Киев, Украина) |
| А. Л. Арьев | (Санкт-Петербург) | Е. А. Корнева | (Санкт-Петербург) |
| В. В. Безруков | (Киев, Украина) | Г. П. Котельников | (Самара) |
| В. В. Бенберин | (Астана, Казахстан) | А. В. Куликов | (Пушино) |
| Р. Вейндрук | (Мэдисон, США) | А. В. Лысенко | (Ростов-на-Дону) |
| Я. Вийг | (Сан-Антонио, США) | А. И. Мартынов | (Москва) |
| И. А. Виноградова | (Петрозаводск) | О. Н. Михайлова | (Санкт-Петербург) |
| П. А. Воробьёв | (Москва) | В. С. Мякотных | (Екатеринбург) |
| Е. Ю. Голубева | (Архангельск) | М. А. Пальцев | (Москва) |
| Н. Д. Гончарова | (Сочи—Адлер) | К. И. Прощаев | (Белгород) |
| Н. К. Горшунова | (Курск) | С. И. С. Раттан | (Орхус, Дания) |
| М. Давидович | (Белград, Сербия) | Дж. С. Рот | (Балтимор, США) |
| И. И. Елисеева | (Санкт-Петербург) | А. В. Сидоренко | (Вена, Австрия) |
| Т. фон Зглиницкий | (Ньюкасл, Великобритания) | В. П. Скулачёв | (Москва) |
| Е. Г. Зоткин | (Санкт-Петербург) | А. Г. Соловьёв | (Архангельск) |
| В. Т. Иванов | (Москва) | Г. А. Софронов | (Санкт-Петербург) |
| А. Н. Ильницкий | (Полоцк, Белоруссия) | О. В. Татаринова | (Якутск) |
| Е. Н. Имянитов | (Санкт-Петербург) | К. Франчески | (Болонья, Италия) |
| И. М. Кветной | (Санкт-Петербург) | А. Н. Хохлов | (Москва) |
| Т. Б. Л. Кирквуд | (Ньюкасл, Великобритания) | А. И. Яшин | (Северная Каролина, США) |
| Н. Г. Колосова | (Новосибирск) | | |

Выходит с 1997 г.

Индексируется Российским индексом научного цитирования (РИНЦ), Index Medicus/MEDLINE, Index Copernicus, PubMed, Russian Science Citation Index (RSCI) на базе Web of Science, SCOPUS, включён в Academic Journal Catalogue (AJC)

Успехи геронтологии. Санкт-Петербург: Эскулап, 2017. Т. 30. № 3. 158 с., ил.

Издается при поддержке Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова и Научно-исследовательского института онкологии им. Н. Н. Петрова Минздрава России

С 2011 г. издательство PLEIADES PUBLISHING (МАИК «НАУКА/INTERPERIODICA») публикует журнал «ADVANCES IN GERONTOLOGY» (English Translations of «Uspekhi Gerontologii»), ISSN 2079-0570. Издание распространяет издательство SPRINGER

Журнал входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук

Журнал зарегистрирован Министерством Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. ПИ № 77-12995 от 19 июня 2002 г.

Главный редактор В.Н. Анисимов

Редакционная обработка М.В. Миткевич, Н.Ю. Крамер

Адрес редакции: 197758 Санкт-Петербург, Песочный-2, ул. Ленинградская, 68,
НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, чл.-кор. РАН В.Н. Анисимову.
Тел. (812) 439 9534; факс (812) 436 9567
e-mail: aging@mail.ru, anisimov2000@mail.ru

197110 Санкт-Петербург, Левашовский пр., 12, издательство «Эскулап»
Лицензия ИД № 04402 от 29.03.2001 г.

Подписано в печать 10.07.2017 г. Формат бумаги 60×90^{1/8}. Печать офсетная. Печ. л. 19,75.

Отпечатано с готовых диапозитивов в типографии издательства «Левша. Санкт-Петербург».
197376 Санкт-Петербург, Аптекарский пр., 6.

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

| | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><i>Редакционный комментарий</i></p> <p>Единственная полная и имеющая смысл теория химических основ старения</p> | 320 | <p><i>Editorial review</i></p> <p>It is the only theory of the chemical basis of aging that is comprehensive and makes sense</p> |
| <p><i>Бычковская И.Б., Мыльников С.В., Опарина Т.И.</i></p> <p>О дискретности кривых дожития у <i>Drosophila melanogaster</i> линии Canton-S. Сообщение 4. Воздействие пониженной температурой на раннем этапе имагинального развития</p> | 323 | <p><i>Bychkovskaya I.B., Mylnikov S.V., Oparina T.I.</i></p> <p>On the discontinuity of the annuity curves in <i>Drosophila melanogaster</i> Canton-S strain. IV. Effect of low temperature on the early imaginal stage</p> |
| <p><i>Ким Л.Б., Белишева Н.К., Путятина А.Н., Русских Г.С., Кожин П.М., Цыпышева О.Б.</i></p> <p>Возрастная динамика основных компонентов внеклеточного матрикса у жителей российской Арктики</p> | 332 | <p><i>Kim L.B., Belisheva N.K., Putyatina A.N., Russkih G.S., Kozhin P.M., Tsyypsheva O.B.</i></p> <p>Age-related dynamics of the main extracellular matrix components in residents of the Russian Arctic</p> |
| <p><i>Кабалык М.А.</i></p> <p>Возрастные аспекты участия белков теплового шока в патогенезе остеоартроза</p> | 341 | <p><i>Kabalyk M.A.</i></p> <p>Age-related aspects of the involvement of heat shock proteins in the pathogenesis of osteoarthritis</p> |
| <p><i>Маслюков П.М., Будник А.Ф., Ноздрачев А.Д.</i></p> <p>Нейрохимические особенности узлов метасимпатической системы в онтогенезе</p> | 347 | <p><i>Masliukov P.M., Budnik A.F., Nozdrachev A.D.</i></p> <p>Developmental changes of neurotransmitter properties in sympathetic neurons</p> |
| <p><i>Викторов А.А., Жаринов Г.М., Некласова Н.Ю., Морозова Е.Е.</i></p> <p>Прогнозирование продолжительности жизни больных раком предстательной железы на основе кинетической теории старения</p> | 356 | <p><i>Viktorov A.A., Zharinov G.M., Neklasova N.Ju., Morozova E.E.</i></p> <p>Prediction of life expectancy for prostate cancer patients based on the kinetic theory of aging of living systems</p> |
| <p><i>Армашевская О.В., Иванова М.А., Чучалина Л.Ю.</i></p> <p>Возрастные особенности здоровья женщин во время пери- и постменопаузы</p> | 363 | <p><i>Armashevskaya O.V., Ivanova M.A., Chuchalina L.U.</i></p> <p>Age women health specialities in peri- and postmenopausal period</p> |
| <p><i>Голубцова Н.Н., Филиппов Ф.Н., Гунин А.Г.</i></p> <p>Возрастные изменения экспрессии рецептора ламина В в фибробластах дермы человека</p> | 368 | <p><i>Golubtsova N.N., Filippov F.N., Gunin A.G.</i></p> <p>Age-related changes in the expression of lamin B receptors in fibroblasts of human dermis</p> |
| <p><i>Голубцова Н.Н., Филиппов Ф.Н., Гунин А.Г.</i></p> <p>Возрастные изменения содержания сиртуина 1 в фибробластах дермы человека</p> | 375 | <p><i>Golubtsova N.N., Filippov F.N., Gunin A.G.</i></p> <p>Age-related changes in the content of sirtuin 1 in fibroblasts of human dermis</p> |
| <p><i>Золотовская И.А., Давыдкин И.Л.</i></p> <p>Когнитивно-цитокиновый эффект нестероидных противовоспалительных препаратов в терапии больных пожилого возраста с остеоартрозом</p> | 381 | <p><i>Zolotovskaia I.A., Davydkin I.L.</i></p> <p>Cognitive-cytokine effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs in the therapy of elderly patients with osteoarthritis</p> |
| <p><i>Петрова Т.Г., Зверева Т.В., Бородина Н.Б., Покатова Е.Е.</i></p> <p>Стоматологический статус и показатели качества жизни у лиц пожилого и старческого возраста</p> | 390 | <p><i>Petrova T.G., Zvereva T.V., Borodina N.B., Pokatova E.E.</i></p> <p>Stomatological status and quality of life of elderly and senile people</p> |
| <p><i>Фатенков О.В., Кузьмина Т.М., Рубаненко О.А., Светлова Г.Н., Дзюбайло А.В.</i></p> <p>Течение внебольничной бактериальной пневмонии при коморбидной патологии у пожилых пациентов</p> | 394 | <p><i>Fatenkov O.V., Kuzmina T.M., Rubanenko O.A., Svetlova G.N., Djubailo A.V.</i></p> <p>Community acquired bacterial pneumonia and comorbidity in elderly patients</p> |
| <p><i>Владимирова О.Н., Башкирѳва А.С., Коробов М.В., Хорькова О.В., Ломоносова О.В.</i></p> <p>Инвалидность как медико-социальный индикатор состояния здоровья и постарения населения в Российской Федерации</p> | 398 | <p><i>Vladimirova O.N., Bashkireva A.S., Korobov M.V., Khorokova O.V., Lomonosova O.V.</i></p> <p>Disability as a medical and social indicator of health status and aging among Russian Population</p> |

| | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><i>Мякотных В.С., Третьяков В.В., Бальберт А.А.</i> Возрастные аспекты мышечно-тонических и урологических синдромов у мужчин с расстройствами тазовых функций: особенности клинической картины, диагностики, лечения</p> | 403 | <p><i>Myakotnykh V.S., Tretyakov V.V., Balbert A.A.</i> Age aspects of the muscular-tonic and urological syndromes in men with disorders of the pelvic functions: the features of clinic, diagnostics, treatment</p> |
| <p><i>Петров В.В., Теплый Д.Л.</i> Возрастная динамика секреторной, всасывательной, буферной и калориферной способностей слизистой оболочки полости носа человека</p> | 410 | <p><i>Petrov V.V., Teplyy D.L.</i> Age dynamics of secretory, absorptive, buffer ability of the mucosa inside the human nose</p> |
| <p><i>Шевченко О.И., Лахман О.Л., Катаманова Е.В.</i> Взаимосвязь темпов биологического старения с нейрофизиологическими особенностями у пациентов с профессиональными нейроинтоксикациями</p> | 415 | <p><i>Shevchenko O.I., Lakhman O.L., Katamanova E.V.</i> Interrelation of rates of a biological aging with neurophysiological features at patients with professional neurointoxications</p> |
| <p><i>Трофимова С.В., Линькова Н.С., Клименко А.А., Кветная Т.В., Хавинсон В.Х.</i> Пинеамин повышает синтез мелатонина в эпифизе у лиц пожилого возраста</p> | 422 | <p><i>Trofimova S.V., Linkova N.S., Klimenko A.A., Kvetnaia T.V., Khavinson V.Kh.</i> Pineamin increased pineal melatonin synthesis in elderly people</p> |
| <p><i>Srivastava I., Hasija Y.</i> Преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3 (STAT3) как новый таргетный препарат для различных возраст-ассоциированных заболеваний: стыковочный и моделирующий анализ</p> | 427 | <p><i>Srivastava I., Hasija Y.</i> STAT3 as novel drug target for multiple age-related disorders: docking and simulation analysis</p> |
| <p><i>Гашимова У.Ф., Камилова Н.М., Бабаев Х.Ф., Шукурова П.А., Гасанова С.И., Аббасов Р.Ю.</i> Влияние шафрана (<i>Crocus sativus</i> L. <i>Iridaceae</i>) на уровень фолликулостимулирующего гормона в крови у самок крыс, количество потомства и динамику массы тела у крысят</p> | 436 | <p><i>Hashimova U.F., Kamilova N.K., Babaev Kh.F., Shukurova P.A., Hasanova S.I., Abbasov R.Y.</i> Effects of saffron (<i>Crocus sativus</i> L. <i>iridaceae</i>) on blood level of follicle-stimulating hormone, and number and dynamics of body weight of offspring in female rats</p> |
| <p><i>Новикова И.А., Соловьев А.Г., Попов В.В.</i> Алгоритм диагностики когнитивных и эмоциональных расстройств у лиц пожилого и старческого возраста</p> | 442 | <p><i>Novikova I.A., Soloviev A.G., Popov V.V.</i> Cognitive and affective disorders in the elderly</p> |
| <p><i>Захаров В.В., Савушкина И.Ю., Мхитарян Э.А., Коберская Н.Н., Локшина А.Б., Гришина Д.А., Посохов С.И., Тараповская А.В., Яхно Н.Н.</i> Возрастная динамика когнитивных функций у лиц 50–85 лет</p> | 450 | <p><i>Zakharov V.V., Savushkina I.Yu., Mkhitaryan E.A., Koberskaya N.N., Lokshina A.B., Grishina D.A., Posokhov C.I., Tarapovskaya A.V., Yakhno N.N.</i> Age dynamics of cognitive functions in persons 50–85 years</p> |
| <p><i>Божков А.И., Огиенко С.Л., Кузнецова Ю.А., Бондарь А.Ю., Марченко В.П., Гуменная М.С.</i> Возраст донора влияет на «поведение» и чувствительность клеток костного мозга к ионам меди в первичной культуре</p> | 457 | <p><i>Bozhkov A.I., Ohienko S.L., Kuznetsova Yu.A., Bondar' A.Yu., Marchenko V.P., Gumennaya M.S.</i> Donor age affects on the «behavior» and the sensibility bone marrow cells in on copper ion of the primary culture</p> |

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

В журнале публикуются обзоры и оригинальные статьи по основным разделам современной геронтологии: биологии старения, клинической геронтологии, социальным и психологическим аспектам, а также истории геронтологии.

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила.

1. Статья должна быть напечатана на одной стороне листа, одновременно необходимо представлять статью на CD-R/CD-RW, набранную в любом текстовом редакторе. В имени файла желательно указывать фамилию автора/первого автора. Статью можно выслать почтовым отправлением либо по электронной почте.
2. Размер статьи не должен превышать 12 стр., включая список литературы и резюме, обзора — 20 стр. Объем обзорных и общетеоретических статей согласовывается с редакцией журнала. Формат текста: шрифт Times New Roman, кегль 12, интервал 1,5, поля обычные (верхнее и нижнее 2 см, правое 3, левое 1,5 см). Список литературы к статье не должен превышать $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{10}$ объема статьи. В передовых статьях и обзорах цитируется не более 70 источников.
3. В статье и списке литературы не должны упоминаться неопубликованные работы, учебники, авторефераты диссертаций и тезисы конференций местного значения. Библиография, как правило, должна содержать литературу преимущественно за последние 5–7 лет.
4. На первой странице должны быть: 1) инициалы и фамилии авторов; 2) название статьи; 3) название учреждения, которое представляет автор(ы); 4) почтовый адрес учреждения. В конце статьи — обязательно собственноручная подпись каждого автора и полностью фамилия, имя, отчество, точный почтовый адрес, телефон, адрес электронной почты.
5. Изложение должно быть ясным, сжатым, без длинных исторических введений и повторений. При представлении в печать научных экспериментальных работ авторы должны, руководствуясь «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», указывать вид, число использованных животных, применявшиеся методы обезболивания и умерщвления. Работы, в которых вышеупомянутые данные не приводятся, а также работы, при выполнении которых болезненные процедуры проводились без анестезии, к публикации не принимаются.
6. Статья должна быть тщательным образом проверена автором: химические формулы, таблицы, дозировки, цитаты. В сноске указывают источник цитаты: наименование публикации, издание, год, том, выпуск, страница. Корректур авторам не высылаются, а вся дальнейшая сверка проводится по авторскому оригиналу.
7. Количество иллюстративного материала (фотографии, рисунки, чертежи, диаграммы) должно быть минимальным. Фотографии должны быть контрастными, рисунки — четкими. Рисунки предоставляются отдельными файлами (**рисунки, диаграммы и схемы не внедряют в файл Word, а сохраняют в формате исходной программы**). В подписях к микрофотографиям указывают увеличение, метод окраски (или импрегнации) препарата. Если рисунок дан в виде монтажа, фрагменты которого обозначены буквами, обязательно должна быть общая подпись к нему и пояснения к отдельным фрагментам.
8. Таблицы должны быть построены наглядно, озаглавлены и пронумерованы. Заголовки таблиц и их номера должны точно соответствовать ссылкам в тексте.
9. Сокращения слов, имен, названий (кроме общепринятых сокращений, мер, физических, химических и математических величин и терминов) не допускаются. Меры даются по системе СИ.
10. Фамилии отечественных авторов в тексте пишут обязательно с инициалами, фамилии иностранных авторов в тексте должны быть написаны только в иностранной транскрипции, в квадратных скобках должны стоять не фамилии цитируемых авторов и год публикации, а соответствующие номера по списку литературы.
11. В соответствии с ГОСТ 7.0.5-2008, список литературы должен быть оформлен следующим образом:
 - а) источники располагают в алфавитном порядке авторов (на первом месте фамилия, затем инициалы); сначала работы отечественных авторов, затем — иностранных; работы отечественных авторов, опубликованные на иностранных языках, помещают среди работ иностранных авторов, а работы иностранных авторов, опубликованные на русском языке, — среди работ отечественных авторов;
 - б) если цитируется несколько работ одного автора, их нужно располагать в хронологическом порядке;
 - в) в статьях, написанных более чем четырьмя авторами, указывают фамилии первых трех из них, а далее ставится «и др.»; при четырех авторах указывают всех;
 - г) для периодических и продолжающихся изданий необходимо указать: автора(-ов), полное название статьи, две косые линейки (//), источник в стандартном сокращении, место издания, год, том (при необходимости), номер (выпуск), страницы (обозначаются буквой С.) от и до; все элементы выходных данных отделяют друг от друга точкой;
 - д) при ссылке на монографию или сборники необходимо указать название публикации, номер издания (если он есть), место и год издания;
 - е) в монографиях иностранных авторов, изданных на русском языке, после названия книги через двоеточие указывают, с какого языка сделан перевод;
 - ж) если заглавие источника состоит из нескольких предложений, все они разделяются двоеточием;
 - з) в монографиях и сборниках при наличии двух мест издания приводят оба и отделяют друг от друга точкой с запятой (М.; Л.);
 - и) общее число страниц не указывают;
 - к) если ресурс электронный, необходимо указать его и дату обращения либо индикатор цифрового объекта (*doi*).
12. К статье должно быть приложено краткое резюме, отражающее основное содержание работы, размером не более половины страницы на русском и английском языках. Фамилии авторов, название статьи и учреждений с адресами даются также на двух языках. Резюме статьи на русском языке с выносом ключевых слов должно быть помещено непосредственно перед текстом статьи после указания учреждения, которое представляют авторы; соответствующий текст на английском языке — после списка литературы.
13. Редакция оставляет за собой право сокращения и редактирования присланных статей, а также, с согласия автора, помещения статей в виде рефератов или аннотаций; **для связи с авторами редакция использует электронную почту.**
14. Направление в редакцию работ, которые уже напечатаны или посланы для публикации в других изданиях, не допускается.
15. Рукописи, оформленные не в соответствии с указанными правилами, не рассматриваются; оттиски высылаются авторам по электронной почте в формате pdf.
16. Примеры оформления статей — на сайте Геронтологического общества при РАН (www.gersociety.ru), где размещены полные электронные версии журнала в свободном доступе.

**Статьи направлять главному редактору по адресу:
197758 Санкт-Петербург, Песочный-2, НИИ онкологии
им. Н. Н. Петрова, проф. В.Н. Анисимову**

Невыполнение этих требований удлинит допечатную подготовку текста и ухудшает качество издания.

СОКРАЩЕНИЯ И УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ ТЕРМИНОВ

| | | | | | |
|-------|---|---------------------------------------------------------------|------------|---|-----------------------------------------------------------------------------|
| АД | — | артериальное давление | ОНМК | — | острое нарушение мозгового кровообращения |
| АДФ | — | аденозиндифосфорная кислота (аденозиндифосфат) | ОРВИ | — | острая респираторно-вирусная инфекция |
| АКТГ | — | адренокортикотропный гормон | ПОЛ | — | перекисное окисление липидов |
| АЛТ | — | аланинаминотрансфераза | ПТГ | — | паратиреоидный гормон (паратгормон) |
| АМФ | — | аденозинмонофосфорная кислота (аденозинмонофосфат) | ПЦР | — | полимеразная цепная реакция |
| АПФ | — | ангиотензинпревращающий фермент | РНК | — | рибонуклеиновая кислота |
| АСТ | — | аспартатаминотрансфераза | САД | — | систолическое артериальное давление |
| АТФ | — | аденозинтрифосфорная кислота (аденозинтрифосфат) | СОД | — | супероксиддисмутаза |
| АФК | — | активные формы кислорода | СОЭ | — | скорость оседания эритроцитов |
| ГАМК | — | гамма-аминомасляная кислота | С-РБ | — | С-реактивный белок |
| ГТФ | — | гуанозинтрифосфорная кислота | ТТГ | — | тиреотропный гормон |
| ДАД | — | диастолическое артериальное давление | УЗДГ | — | ультразвуковое доплеро-сонографическое исследование сосудов головного мозга |
| ДВС | — | диссеминированное внутрисосудистое свертывание | УЗИ | — | ультразвуковое исследование |
| ДНК | — | дезоксирибонуклеиновая кислота | ФВ | — | фракция выброса |
| ЕД | — | единица действия антибиотиков, гормонов, ферментов, витаминов | ФК | — | функциональный класс (по классификации <i>NYHA</i>) |
| ЖЁЛ | — | жизненная ёмкость лёгких | ХОБЛ | — | хроническая обструктивная болезнь лёгких |
| ЖКТ | — | желудочно-кишечный тракт | ХПН | — | хроническая почечная недостаточность |
| ИБС | — | ишемическая болезнь сердца | ХСН | — | хроническая сердечная недостаточность |
| ИВЛ | — | искусственная вентиляция лёгких | ЦИК | — | циркулирующие иммунные комплексы |
| ИМТ | — | индекс массы тела | ЦНС | — | центральная нервная система |
| ИФА | — | иммуноферментный анализ | ЧСС | — | частота сердечных сокращений |
| КТ | — | компьютерная томография | ЭКГ | — | электрокардиограмма |
| ЛЖ | — | левый желудочек | эхо-КГ | — | эхокардиографическое исследование |
| ЛДГ | — | лактатдегидрогеназа | ЭЭГ | — | электроэнцефалография |
| ЛПВП | — | липопротеиды высокой плотности | | | |
| ЛПНП | — | липопротеиды низкой плотности | | | |
| ЛПОНП | — | липопротеиды очень низкой плотности | | | |
| МДА | — | малоновый диальдегид | | | |
| МЕ | — | международная единица (вакцины, сыворотки) | | | |
| МНО | — | международное нормализованное отношение | | | |
| МРТ | — | магнитно-резонансная томография | | | |
| | | | мес | — | месяц |
| | | | мин | — | минута |
| | | | млн | — | миллион |
| | | | млрд | — | миллиард |
| | | | мм рт. ст. | — | миллиметр ртутного столба |
| | | | нед | — | неделя |

СОКРАЩЕНИЯ И УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ ТЕРМИНОВ

| | | |
|--------------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| с | — | секунда |
| с. | — | страница |
| сут | — | сутки |
| тыс. | — | тысяча |
| уд/мин | — | ударов в минуту |
| ч | — | час |
| <hr/> | | |
| <i>Ig</i> | — | иммуноглобулины [5 классов: <i>IgA, IgD, IgE, IgG, IgM</i>] |
| <i>IL</i> | — | интерлейкин |
| <i>M±n</i> | — | доверительный интервал |
| <i>NYHA</i> | — | Нью-Йоркская ассоциация кардиологов |
| <i>pH</i> | — | водородный показатель |
| <i>PCNA</i> | — | ядерный антиген пролиферирующих клеток |
| <i>TNF-α</i> | — | фактор некроза опухоли α |
| <i>TNM</i> | — | Международная онкологическая классификация (при обозна- чении стадий цифры пишутся на уровне строки: <i>T3N1M0</i>) |

**Обычные аминокислоты,
входящие в состав белков:**

| | | |
|-----------------------|---|------------|
| аланин | — | <i>Ala</i> |
| аргинин | — | <i>Arg</i> |
| аспарагин | — | <i>Asn</i> |
| аспарагиновая кислота | — | <i>Asp</i> |
| валин | — | <i>Val</i> |
| гистидин | — | <i>His</i> |
| глицин | — | <i>Gly</i> |
| глутамин | — | <i>Gln</i> |
| глутаминовая кислота | — | <i>Glu</i> |
| изолейцин | — | <i>Ile</i> |
| лейцин | — | <i>Leu</i> |
| лизин | — | <i>Lys</i> |
| метионин | — | <i>Met</i> |
| пролин | — | <i>Pro</i> |
| серин | — | <i>Ser</i> |
| тирозин | — | <i>Tyr</i> |
| треонин | — | <i>Thr</i> |
| триптофан | — | <i>Trp</i> |
| фенилаланин | — | <i>Phe</i> |
| цистеин | — | <i>Cys</i> |

Редакционный комментарий

ЕДИНСТВЕННАЯ ПОЛНАЯ И ИМЕЮЩАЯ СМЫСЛ ТЕОРИЯ ХИМИЧЕСКИХ ОСНОВ СТАРЕНИЯ

Так охарактеризовано содержание статьи А. Г. Голубева, А. Д. Хансона (A. D. Hanson) и В. Н. Гладышева, опубликованной в начале апреля текущего года в самом, наверное, авторитетном биохимическом журнале «Journal of Biological Chemistry» [6]. Это мнение выразил Ирвин Фридович (I. Fridovich), известный тем, что почти полвека назад опубликовал в соавторстве с Джо МакКордом (J. McCord) в том же журнале статью [13] о СОД-активности, найденной у широко распространенных металлопротеинов, функции которых до тех пор были неизвестными. Это открытие (статья процитирована без малого 13 тыс. раз) легло в основу всех современных вариантов свободнорадикальной теории старения, которую еще за 10 лет до того предложил Денхэм Харман (D. Harman) [8] и предметом которой являются, в сущности, те же химические основы старения. Вот слова самого Д. Хармана в одном из интервью [10]: *«Итак, я решил заняться проблемой старения... Я чувствовал, во-первых, что должна существовать какая-то базовая общая причина, которая приводит к гибели все... какой-то химический процесс, коль скоро мы все имеем дело с молекулами, химическими соединениями... это и есть простая основа существования всех нас...»*.

В обсуждаемой здесь статье «Неферментативное повреждение молекул как прототипическая движущая сила старения» обобщены накопившиеся к настоящему времени данные, свидетельствующие о том, что химические основы старения не ограничены ни АФК, ни свободнорадикальными процессами. На самом деле, очень многие, если не все, молекулы, участвующие в метаболических процессах, обладают химическими свойствами, не задействованными в тех биохимических реакциях, которые нужны организму, и поэтому катализируются и/или регулируются ферментами в соответствии с его состоянием. «Избыточные» свойства метаболитов реализуются спонтанно без участия ферментов и имеют последствия, не обязательно отвечающие потребностям организма.

Интересно, что многие реакции такого рода хорошо известны в органической химии и настолько типичны, что стали именными: присоединение Михаэля, реакция Пикте — Шпенглера, реакция Манниха... Подобные реакции происходят в мягких условиях, и при наличии исходных веществ они неизбежны. А веществ таких в живой клетке великое множество. Достаточно посмотреть на любую карту метаболических путей. Представленные на таких картах соединения, между которыми стоят стрелки, обозначающие ферментативные реакции, могут находиться тем дальше друг от друга на карте, чем больше этапов включает метаболический путь от одного до другого. Но в клетке они могут находиться в общей среде, и если два таких метаболита, пусть даже разнесенные по разным концам метаболической карты, способны вступать в прямое взаимодействие, то они и вступят. Им ничто не может помешать это сделать. Если это, например, нейромедиатор дофамин и интермедиат гликолиза пировиноградная кислота, то в результате происходящей между ними реакции Пикте—Шпенглера образуются соединения, обладающие нейротоксическими свойствами и принимающие участие в селективном вымирании дофаминергических нейронов — факторе развития возрастного паркинсонизма. Это только один пример.

Такие реакции и их продукты давно привлекают к себе внимание исследователей, но лишь время от времени, и соответствующие наблюдения можно найти во многих, но разрозненных статьях. Первым «увидел лес за деревьями» и обратил внимание на неизбежность и общее значение таких «коротких замыканий и утечек» в метаболических путях один из соавторов обсуждаемой статьи Алексей Голубев. Результатом стала его работа «Изнанка метаболизма», опубликованная в журнале «Биохимия» 20 лет назад [4]. Термин «параметаболитические процессы», предложенный в этой статье, в какой-то степени привился в русскоязычной научной среде, но остался совершенно проигнорированным в англоязычной. Свою «параметаболитическую» теорию старения А. Г. Голубев

изложил в «Успехах геронтологии» [1], но не вполне уместная в научных публикациях шутовскость в названии и подзаголовках, возможно, скорее оттолкнула, чем привлекла внимание специалистов. Бóльший резонанс получила его статья в «Journal of Theoretical Biology» [5].

Цитата из этой статьи «Ничто из химии не исчезает в биологии» была вынесена в заглавие работы [12], которую опубликовал второй соавтор статьи [6] Эндрю Хансон (A. N. Hanson), профессор Университета Флориды (США). В работе речь идет о базе данных продуктов неферментативных реакций. Правда, основным предметом интереса Э. Хансона являются растения и микроорганизмы, где им описан феномен, получивший название «повреждение метаболитов» [7]. Разрабатываемая Э. Хансоном и соавт. база данных интересна тем, что в ней содержатся не только сами продукты неферментативных реакций, происходящих в живых системах, но также и формализованные правила спонтанных взаимодействий метаболитов, что позволяет делать предсказания. Одно из них состоит в том, что разнообразие неферментативных продуктов в клетке может в несколько раз превышать разнообразие «законных» метаболитов. Даже если концентрация каждого конкретного «незаконного» продукта ничтожна, все вместе они создают силу, с которой клеткам приходится считаться.

Мировую известность третьему соавтору статьи [6] — выпускнику химического факультета МГУ, ныне профессору Гарвардского университета в Бостоне (США) Вадиму Гладышеву, принесли исследования селенсодержащих белков и их роли во внутриклеточных сигнальных путях, опосредованных свободнорадикальными реакциями [9]. Расширение сферы таких интересов на старение было вполне естественным. Но результатом стал растущий скепсис В. Гладышева по отношению к главенствующей роли свободнорадикальной теории в представлениях о биохимических механизмах старения [2, 3].

Как видно, в статье [6] сошлись взгляды на старение, в основе которых лежали разные исходные позиции. Основной вывод из пересечения этих взглядов: избыточная химическая реакционная способность метаболитов достаточна для того, чтобы вызывать старение живых систем, содержащих медленно обновляемые компоненты, имеющиеся в ЦНС и во внеклеточном матриксе. Любые другие факторы только «оформляют» эту движущую силу старения в фенотипические

проявления, зависящие от устройства организма. Будучи проявлением метаболизма — того, что отличает живые системы от неживых, — накопление последствий параметаболических процессов отличает старение живых систем от износа неживых. Поскольку метаболиты являются продуктами действия ферментов, которые, в свою очередь, являются продуктами экспрессии генов, — те гены, которые, в конечном счете, ответственны за образование метаболитов, имеющих избыточные реакционные потенциалы, можно считать антагонистически плейотропными. Их полезные для организма плейотропные эффекты реализуются участием конечных продуктов таких реакций в метаболизме, а вредные — избыточными реакционными потенциалами этих же продуктов. Причем эти вредные эффекты являются кумулятивными, а не поздними или отсроченными, как принято считать в теориях эволюционного происхождения старения (теории мутаций с поздними проявлениями, антагонистической плейотропии и «одноразовой сомы» — см. [11, 14]).

Таким образом, сформулированные в рассматриваемой статье [6] взгляды могут стать общей основой для функциональных теорий старения (как мы стареем?) и эволюционных теорий (почему мы стареем?) или, иными словами, для общей теории старения, если она окажется востребованной. Что касается практической значимости статьи [6], то здесь уместно привести еще одну цитату, взятую из основополагающей работы автора теории антагонистической плейотропии Джорджа Вильямса (G. Williams) [15]: «Такие выводы всегда разочаровывают, но имеют желательные следствия, поскольку направляют исследования туда, где они могут оказаться полезными».

Литература

1. Голубев А. Г. Проблемы обсуждения вопроса о возможности подходов к построению общей теории старения. II. Параметаболическая теория старения // Успехи геронтол. 2009. Т. 22. № 2. С. 205–222.
2. Gladyshev V. N. The free radical theory of aging is dead. long live the damage theory! // Antioxid. redox signal. 2014. Vol. 20. № 4. P. 727–731.
3. Gladyshev V. N. Aging: progressive decline in fitness due to the rising deleteriome adjusted by genetic, environmental, and stochastic processes // Aging Cell. 2016. Vol. 15. № 4. P. 594–602.
4. Golubev A. G. The other side of metabolism: A review // Biochemistry (Moscow). 1996. Vol. 61. № 11. P. 1443–1460.
5. Golubev A. (2009). How could the Gompertz-Makeham law evolve // J. Theor. Biol. Vol. 258. № 1. P. 1–17.
6. Golubev A. G., Hanson A. D., Gladyshev V. N. Non-enzymatic molecular damage as a prototypic driver of aging // J. Biol. Chem. 2017. Vol. 292. P. 6029–6038.

7. *Hanson A. D., Henry C.S., Fiehn O., de Crécy-Lagard V.* Metabolite damage and metabolite damage control in plants // *Ann. Rev. Plant Biol.* 2016. Vol. 67. P. 131–153.

8. *Harman D.* Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry // *J. Geront.* 1956. Vol. 11. № 3. P. 298–300.

9. *Hatfield D.L.* Redox Pioneer: Professor Vadim N. Gladyshev // *Antioxid. Redox Signal.* 2016. Vol. 25. № 1. P. 1–9.

10. *Kitani K., Ivy G.O.* «I thought, thought, thought for four months in vain and suddenly the idea came» — an interview with Denham and Helen Harman // *Biogerontology.* 2003. Vol. 4. № 6. P. 401–412.

11. *Kowald A., Kirkwood T.B.L.* Can aging be programmed? A critical literature review // *Aging Cell.* 2016. Vol. 15. № 6. P. 986–998.

12. *Lerma-Ortiz C., Jeffryes J.G., Cooper A.J.L. et al.* «Nothing of chemistry disappears in biology»: the Top 30 damage-prone endogenous metabolites // *Biochem. Soc. Transact.* 2016. Vol. 44. № 3. P. 961–971.

13. *McCord J.M., Fridovich I.* Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein) // *J. Biol. Chem.* 1969. Vol. 244. № 22. P. 6049–6055.

14. *Rodríguez J.A., Marigorta U.M., Hughes D.A. et al.* Antagonistic pleiotropy and mutation accumulation influence human senescence and disease // *Nature Ecology & Evolution* 2017. № 1. Article number: 0055.

15. *Williams G.C.* Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence // *Evolution.* 1957. Vol. 11. P. 398–411.

И. Б. Бычковская¹, С. В. Мыльников², Т. И. Опарина³

О ДИСКРЕТНОСТИ КРИВЫХ ДОЖИТИЯ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЛИНИИ CANTON-S. СООБЩЕНИЕ 4. ВОЗДЕЙСТВИЕ ПОНИЖЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРОЙ НА РАННЕМ ЭТАПЕ ИМАГИНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ*

¹ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС России, 194044, Санкт-Петербург, ул. Лебедева, 4/2; e-mail: i.b.bychkovskaya@gmail.com; ² Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9; ³ Институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта, 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3

Понижение окружающей температуры на 5–7 °С ниже стандартной, завершённое на 13–22-е сутки имагинального периода, обеспечивает увеличение индивидуальной продолжительности жизни дрозофил. При наибольшей экспозиции позитивное влияние охватывает все возрастные группы. Оно обусловлено продлением стартового периода жизни особей и последующей задержкой наступления более поздних возрастных этапов. Указанная ситуация может приводить к отсрочке развития возрастной патологии, к значимому увеличению максимальной продолжительности жизни объекта. Обнаруженный эффект не зависит от объёма выборки (1 200–100 мух) и интервала между опытами. Предполагается, что явление обеспечено участием всех особей в когорте.

Ключевые слова: дрозофила, кривые дожития, дискретность, дисперсия, понижение температуры, стартовый период, продолжительность жизни

В предыдущих работах получены экспериментальные данные о высоко дискретной, пятифазной структуре кривых дожития дрозофил и о существовании двух форм изменчивости продолжительности их жизни (ИПЖ) [4, 5, 8].

Первая из форм (ИПЖ1), найденная в многократных последовательных наблюдениях, проявляется в систематическом (от опыта к опыту) непредсказуемом изменении длительности фаз, что коррелирует с размером площадей под кривыми и жизнеспособностью особей [4, 5, 8].

Вторая форма изменчивости продолжительности жизни (ИПЖ2) имеет вторичный характер по сравнению с ИПЖ1. Она состоит в дисперсии выживаемости когорт относительно малой численности, существенно не влияющей на длительность

фаз. Максимальная величина дисперсии не изменяется от опыта к опыту [4, 5].

В методическом отношении важно, что ИПЖ2, в отличие от ИПЖ1, выявляется уже в одной повторности.

Ранее мы постулировали, что пятифазный характер кривых дожития дрозофил может быть обусловлен последовательной возрастной деградацией как минимум двух эволюционно сложившихся биологических систем, которые неодинаково подвержены старению [5].

Предположительно, при спонтанном старении, по аналогии с лучевым, в каждой из «ответственных» систем первоначально идёт накопление дефектов, а затем (как переход количества в качество) — выраженная депопуляция тканей и интенсивная гибель организмов [3]. Так или иначе, сложная конструкция кривых дожития дрозофил призывает к адекватной оценке эффективности геропротекторных средств, оценке, основанной на необходимости «пофазных» исследований.

В настоящей работе в качестве геропротекторного средства использовали понижение температуры окружающей среды, применённое на протяжении начального возрастного этапа. Позитивный эффект снижения температуры найден на объектах разной организации, в том числе дрозофиле [9]. При этом «холодовое» воздействие применяли на протяжении всей жизни когорт. Пофазное действие агента ранее не изучали, что и было предпринято в данной работе.

* Поддержано грантом Президента РФ по поддержке ведущих научных школ НШ-9513.2016.4.

Материалы и методы

Объектом исследований служили дрозофилы линии дикого типа *Canton-S*. Мух культивировали на стандартной среде, содержащей сахар, дрожжи, манную крупу и изюм. Собирали виргинных мух, вылупившихся из куколок в течение суток, затем их перемещали в новые пробирки, где содержали 2 сут самок и самцов отдельно. От этих родителей получали суточные кладки яиц. Вылетевших в течение суток мух рассаживали в пробирки диаметром 1 см с питательной средой, содержащей агар-агар и сахар, смазанной свежеприготовленным раствором дрожжей в дистиллированной воде. В каждую пробирку помещали 10 самцов. Это давало возможность вести параллельные наблюдения над выживаемостью когорты разной численности.

Питательную среду заменяли 1 раз в неделю. После гибели последней особи в когорте строили кривые дожития.

В период между экспериментами насекомых содержали в размножающихся культурах. Мух культивировали либо при температуре 25 °С, либо в условиях температуры, сниженной до 18–20 °С («тепловые» и «холодовые» опыты). Опыты

завершали либо в 13-суточном, либо в 22-суточном возрасте мух.

Основные результаты «тепловых» опытов описаны в [4, 5, 8]. За время наблюдений в этих опытах сменилось около 60 поколений (поколение считали время от зиготы до половозрелости).

Было проведено четыре «холодовых» эксперимента (1t°, 2t°, 3t° и 4t°), максимальный интервал между которыми составлял 18 мес, за время которых сменилось около 36 поколений. В эксперименте 1t° провели параллельные наблюдения за мухами, подвергнутыми воздействию пониженной температуры до 13-суточного возраста (опыт) и неизменно культивируемыми при температуре 25 °С (контроль). В эксперименте 2t° данные, полученные при завершении холодного воздействия на 22-е сутки, сопоставили с результатами шести последовательных экспериментов, проведенных ранее при обычном температурном режиме. В экспериментах 3–4t° в параллельных наблюдениях сравнили данные, полученные при завершении «холодового» воздействия на 13-е и 22-е сутки («короткая» и «длительная» экспозиции). Жизнеспособность мух на разных возрастных этапах (фазах) оценивали путем определения размеров площадей под соответствующими участками кривых дожития [4, 5].

Проводили регрессионный анализ кривых дожития (линейную аппроксимацию) [11]. Для оценки дисперсии применяли оригинальный прием дробления больших когорт на когорты относительно малой численности [4, 5]. В настоящем исследовании объем «малых» когорт всегда составлял 100 особей. При описании соответствующих когорт и кривых дожития использовали термины «суммарные» и «отдельные».

Указанный прием позволяет сопоставлять характер дисперсии выживаемости мух на разных возрастных этапах, давать точечные и интервальные оценки для этого параметра и для площадей под разными участками кривых дожития.

Доверительные интервалы углов наклонов участков кривых дожития оценивали методом линейного регрессионного анализа [11].

Результаты и обсуждение

На рис. 1 даны результаты линейной аппроксимации кривых дожития дрозофил линии дикого типа *Canton-S*, полученные в шести повторных опытах. Видны пять дискретных участков (фаз), имеющих разные наклоны («пологие» и «кру-

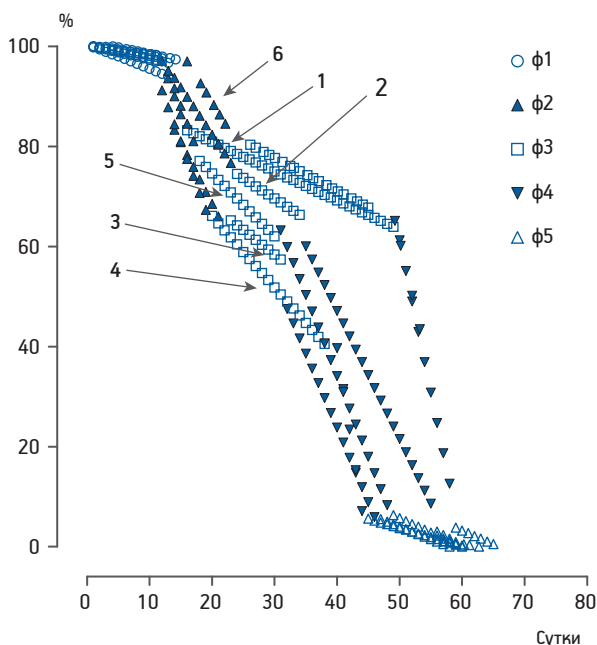


Рис. 1. Линейная аппроксимация кривых дожития дрозофил в шести последовательных «тепловых» экспериментах; численность когорт в экспериментах: 1-й — 800, 2-й — 800, 3-й — 1200, 4-й — 800, 5-й — 400, 6-й — 500 особей.

Здесь и на рис. 2, 3: дискретные участки кривых (фазы) — см. в тексте

тые» фазы). При этом крутые фазы неизменно (за исключением терминальной фазы) следуют за пологими. Межфазовые переходы осуществляются скачкообразно. Наклоны пологих фаз всегда резко отличаются от наклонов крутых фаз. В то же время, для каждой из конкретных фаз наклоны кривых заметно не изменяются от опыта к опыту.

Линейность фаз, скачкообразное чередование их наклонов, а также стабильность наклонов для каждой из фаз являются имманентными признаками пятифазной структуры кривых дожития дрозофилы [4, 5, 8].

Дискретные участки кривых (фазы) обозначены следующим образом: ф1 — стартовая пологая фаза очень медленного нарастания смертности; ф2 — переходная крутая фаза интенсивной гибели когорт; ф3 — пологая фаза относительного снижения интенсивности возрастной гибели; ф4 — крутая фаза резкого увеличения скорости гибели когорт; ф5 — финальная пологая фаза кратковременного снижения интенсивности смертности.

Данные рис. 1 иллюстрируют также и вторую существенную характеристику кривых дожития дрозофилы — ИПЖ1. Видно, что в шести последовательных опытах, на фоне высокой стабильности признака «пятифазность», систематически, от опыта к опыту происходит изменение длительности фаз. Этому явлению соответствует выраженное изменение площадей под данными участками кривых (фазами), что и отражает изменчивость индивидуальной продолжительности жизни мух [4, 5].

Имеют место следующие соотношения: чем длиннее пологие фазы (ф1, ф3, ф5) и чем меньше их наклоны, тем большие размеры имеют площади под соответствующими участками кривой, тем выше индивидуальная жизнеспособность мух в данные периоды.

Двухкомпонентная конструкция кривых, содержащая стабильную компоненту (пятифазность) и пластичную (изменчивость длительности фаз), воспроизводилась, как мы уже указывали, на протяжении 2,5 лет, за время которых сменилось около 60 поколений мух. Она оценена как наследственно детерминированная [5].

В контексте данной работы было интересно с помощью воздействия пониженной температурой попытаться удлинить пологие фазы, что могло бы отразить эффективность применённого модификатора. В настоящей работе остановились на стартовой пологой фазе — ф1. При этом, исходя из предположения о двухэтапном поврежде-

нении «ответственных» систем (см. введение), применили два варианта экспозиций — относительно короткую, приуроченную к протяжённости ф1, и более длительную, включающую ф2.

В табл. 1 представлены данные о длительности стартового пологого участка кривых дожития дрозофил по результатам «тепловых» и «холодовых» опытов.

Итак, во всех вариантах «холодовых» опытов происходит увеличение (по сравнению с обычным режимом) продолжительности стартового участка кривых дожития (исходя из результатов «тепловых» экспериментов, этот участок обозначен как ф1).

Из данных по динамике вымирания «тепловых» и «холодовых» когорт, представленных как на рис. 2, так и в табл. 1, следует, что во всех вариантах «холодовых» опытов удлинен период ф1. Данные изменения отражают повышение жизнеспособности особей на раннем этапе их жизни. Важно, что позитивное влияние агента на этом не заканчивается. Так, при относительно длительном воздействии (см. рис. 2, б, з) эффект регистрировали практически на всех возрастных этапах. Найденный эффект обнаруживался, в том числе, и в терминальный период, что позволяет говорить о возможности увеличения максимальной продолжительности жизни дрозофил.

Таблица 1

Длительность стартовой пологой фазы ф1 на кривых дожития в шести последовательных «тепловых» и четырех «холодовых» экспериментах

| № опыта | Продолжительность ф1, сут | Численность «суммарной» когорты |
|---------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| <i>«Тепловые» эксперименты</i> | | |
| 1 | 11 | 800 |
| 2 | 12 | 800 |
| 3 | 11 | 1200 |
| 4 | 9 | 800 |
| 5 | 11 | 400 |
| 6 | 15 | 500 |
| <i>«Холодовые» эксперименты</i> | | |
| Короткая экспозиция | | |
| 1t° | 20 | 100 |
| 3t° | 18 | 400 |
| Длинная экспозиция | | |
| 2t° | 39 | 1200 |
| 4t° | 21 | 400 |

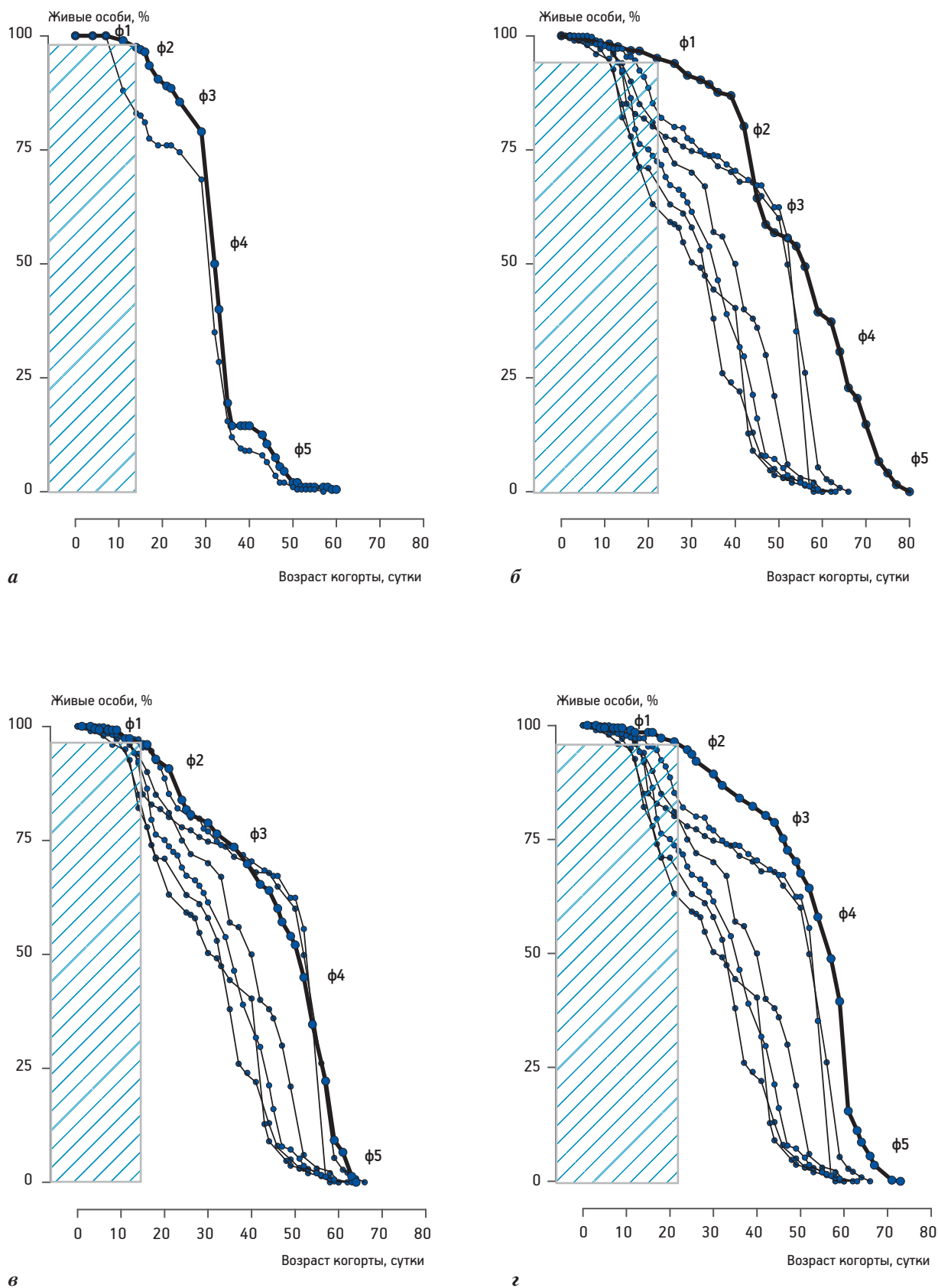


Рис. 2. Возрастная динамика кривых дожития дрозофил в обычных условиях и после воздействия пониженной температурой.

а — 1-й опыт (11°); б — 2-й опыт (21°); в — 3-й опыт (31°); г — 4-й опыт (41°); численность когорт: опыт 11° — 100 особей, опыт 21° — 1200, опыт 31° — 400, опыт 41° — 400 особей; заштрихован период воздействия пониженной температурой

Интересно, что, помимо прямого действия агента (штриховка), существуют и опосредованные пути достижения позитивного эффекта. Указанные пути проявляются двойко: 1) в удлинении стартового участка кривых, выходящего за пределы зоны прямого действия (что отражает увеличение позитивного влияния агента на жизнеспособность дрозофил раннего возраста); 2) в отсрочке наступления последующей возрастной гибели. Найденные характеристики эффекта не зависят от численности когорт (1 200–100 мух), что говорит о тотальном вовлечении дрозофил в описанную реакцию.

При анализе графиков обращает на себя внимание факт, что после завершения ф1 общая направленность «холодовых» и «тепловых» кривых заметно не различается. Динамика гибели дрозофил становится примерно одинаковой. Изложенное наводит на мысль о том, что стартовый период жизни дрозофил имеет особое значение для прохождения последующих возрастных этапов.

Рассмотрим в таком аспекте материалы, полученные при сравнительном анализе дисперсии выживаемости «тепловых» и «холодовых» мух, что обеспечивает вторую форму изменчивости продолжительности жизни мух (ИПЖ2) [5].

В предыдущих сообщениях [4, 5] мы указывали, что в «тепловых» опытах характер дис-

персии выживаемости дрозофил неодинаков на разных возрастных фазах и что максимальный уровень данного параметра имеет высокую стабильность. Он не изменяется от опыта к опыту [5]. Обнаружение разного характера разброса кривых дожития на разных фазах способствовало более полному и значительно менее трудоёмкому анализу дискретности кривых дожития. Дисперсию, как уже указывали, оценивали с помощью приёма дробления относительно больших «суммарных» когорт на «отдельные» когорты меньшей численности.

Сопоставим дисперсию жизнеспособности дрозофил в «тепловом» (№ 3) и в «холодовом» ($2t^\circ$) опытах, имеющих одинаковую численность (1 200 особей). Для этого в обоих экспериментах произвели дробление «суммарной» когорты на 12 частей. Получили «отдельные» когорты численностью 100 мух. На каждом дискретном участке «суммарную» кривую рассматривали как среднюю величину, для которой рассчитывали сумму квадратов отклонений доли живых особей в «отдельных» когортах. Первоначально остановим внимание на «тепловом» эксперименте (рис. 3, а). Мы видим характерное «пофазное» распределение диапазонов дисперсии [5]. Разброс, как видно из данных графика, нарастает по ходу стартовой

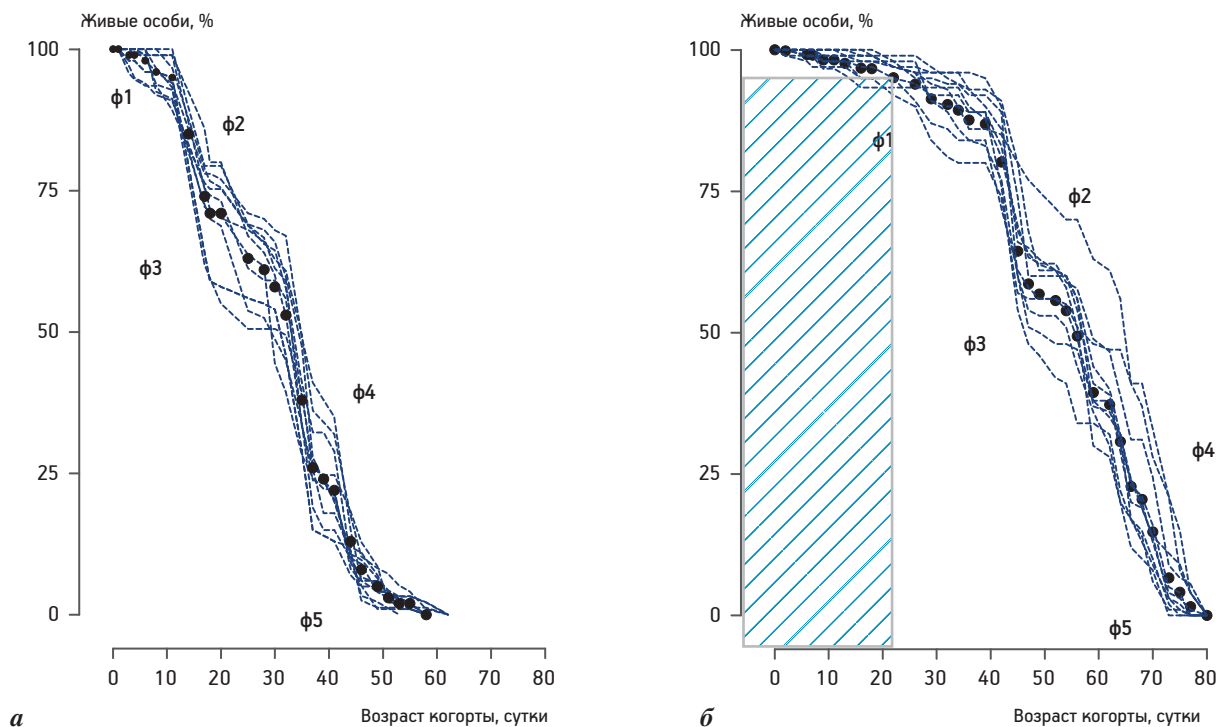


Рис. 3. Кривые дожития для «суммарных» (сплошная линия) и «отдельных» (пунктирная линия) когорт в «тепловом» (а) и «холодовом» (б) экспериментах; численность «суммарной» когорты — 1 200 особей, численности «отдельных» когорт — 100 особей; заштрихован период воздействия пониженной температурой

фазы (ф1), а также «крутой» переходной фазы (ф2). Далее он достигает максимума и стабилизации на относительно пологой фазе ф3. Затем дисперсия снижается на ф4 и ф5.

Ранее было показано, что данный характер дисперсии имеет место в каждом из шести независимых опытов, поставленных на протяжении 2,5 лет. Указанная картина не изменяется при снижении численности «суммарных» когорт от 1 200 до 400 мух. Она сохраняется и при уменьшении объёма выборки в «отдельных» когортах до 50 особей [5].

Перейдём к анализу результатов «холодового» эксперимента (см. рис. 3, б). Мы видим, что пятифазность кривых дожития дрозофил со всеми описанными выше особенностями сохраняется и после применённого воздействия пониженной температурой. И в этом случае мы наблюдаем возрастание интенсивности разброса на протяжении ф1 и ф2, стабилизацию и максимальное проявление — на ф3 и убывание — на ф4 и ф5.

В то же время, в «холодовом» опыте имеет место резкое, по сравнению с тепловым экспериментом, увеличение продолжительности стартового периода — ф1. Найденный позитивный эффект был зарегистрирован в наблюдениях за каждой из 12 «отдельных» кривых. В соответствии с этим, для «суммарной» и всех «отдельных» кривых происходит (если ориентироваться на «тепловой» опыт) увеличение площадей под ф1 и ф2, что отражает выраженное увеличение жизнеспособности мух на раннем возрастном этапе.

Далее, после завершения ф1, характер «холодового» разброса заметно не отличается от «те-

плогового». Мы видим описанную выше типичную картину распределения интенсивности дисперсии на разных фазах. Общее направление хода «отдельных» кривых при этом также заметно не изменяется.

Имеет место выраженный сдвиг как «суммарной», так и всех «отдельных» кривых на более поздние возрастные периоды. Это указывает на отсрочку наступления последующих возрастных этапов (ф2—ф5), отражает увеличение максимальной продолжительности жизни когорт. Данная отсрочка вызвана удлинением ф1.

Важно, что указанный эффект отчётливо регистрируется уже в одном «холодовом» опыте. При этом из [4, 5] следует, что аналогичная картина дисперсии наблюдается и при сравнении опыта $2t^\circ$ с любыми другими «тепловыми» экспериментами.

Представленные данные подтверждают впечатление, возникшее при анализе рис. 2, что в изучаемом геропротекторном эффекте стартовая фаза играет ведущую роль.

Далее в «тепловых» и «холодовых» опытах сопоставили возрастную динамику стандартного отклонения выживаемости дрозофил. Анализ провели в шести «тепловых» и трёх «холодовых» экспериментах — $2t^\circ$, $3t^\circ$ и $4t^\circ$ (опыт $1t^\circ$ был исключён из-за малой численности «суммарной» когорты).

Из данных рис. 4 следует, что и при таком способе анализа во всех «холодовых» опытах имеет место описанное выше «пофазное» изменение дисперсии. При этом неизменно наблюдается существенное (по сравнению с тепловыми экспериментами) удлинение стартовой фазы (ф1).

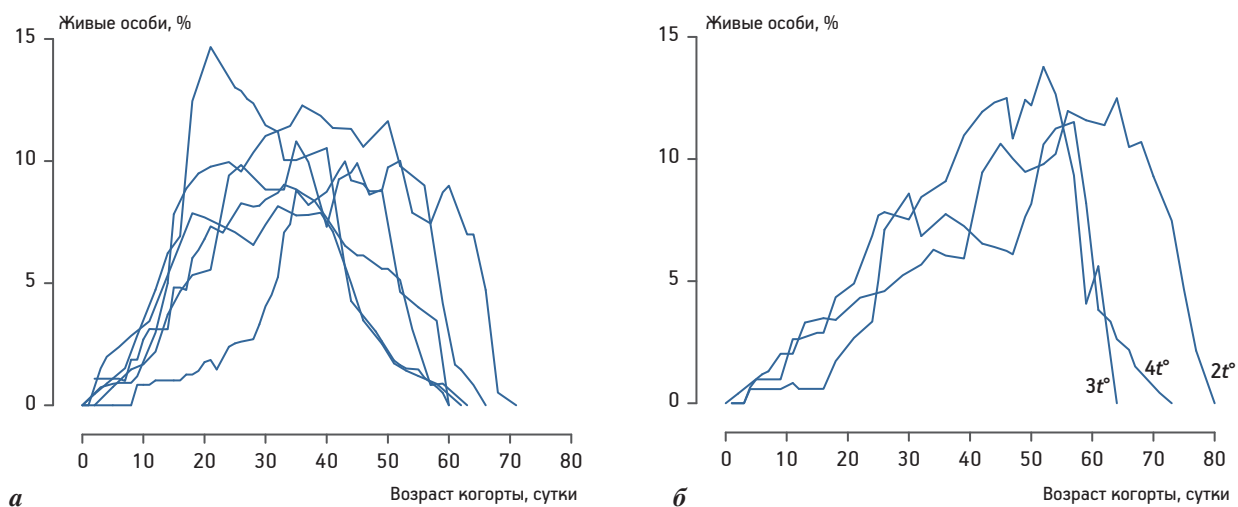


Рис. 4. Возрастная динамика стандартного отклонения выживаемости дрозофил.

а — «тепловые», б — «холодовые» эксперименты

Видно также, что именно удлинение раннего периода приводит к сдвигу кривых на более отдалённые возрастные сроки. Этот сдвиг особенно хорошо заметен по смещению во времени максимального уровня дисперсии, наблюдаемого в ф3.

Результаты количественной оценки экспериментального материала даны в табл. 2, 3.

Из данных табл. 2 следует, что во всех «холодовых» опытах значимое (по сравнению с «теп-

выми» экспериментами) увеличение площади под кривыми дожития (а соответственно, увеличение индивидуальной продолжительности жизни объекта) имеется только на протяжении стартового возрастного периода (ф1).

Данные табл. 3 демонстрируют, что в «холодовых» опытах (так же как и в «тепловых») при переходе от фазы к фазе происходит скачкообразное чередование углов наклонов, что (наряду со сход-

Таблица 2

Площадь под дискретными участками (фазами) на суммарной кривой дожития дроздофил при обычных условиях и после воздействия пониженной температурой

| № опыта | Фазы | | | | |
|---------------------------------|------------------|-------------|----------------|--------------|------------|
| | ф1 | ф2 | ф3 | ф4 | ф5 |
| <i>«Тепловые» эксперименты</i> | | | | | |
| 1 | 790 795 799 | 265 277 288 | 1896 2152 2407 | 257 309 362 | 3 6 9 |
| 2 | 1179 1188 1196 | 581 609 636 | 569 638 706 | 502 592 683 | 14 24 47 |
| 3 | 1063 1075 1087 | 200 214 229 | 284 305 326 | 318 368 417 | 14 21 28 |
| 4 | 883 891 899 | 452 484 517 | 627 762 898 | 70 90 111 | 14 27 40 |
| 5 | 972 991 1010 | 293 353 413 | 584 835 1086 | 256 471 685 | 11 57 124 |
| 6 | 1266 1286 1306 | 578 629 680 | 1284 1474 1664 | 248 273 299 | 0 3 7 |
| <i>«Холодовые» эксперименты</i> | | | | | |
| Короткая экспозиция 3t° | 1621 1664 1707 * | 374 425 477 | 689 872 1055 | 360 606 852 | 0,06 24 47 |
| Длинная экспозиция 2t° | 3620 3702 3785 * | 309 340 371 | 247 278 309 | 370 481 591 | 2 8 14 |
| 4t° | 1954 1975 1995 * | 171 187 204 | 1012 1170 1328 | 667 880 1093 | 4 12 21 |

* Отличие от всех тепловых опытов; здесь и в табл. 3 параметры даны с 95 % ДИ.

Таблица 3

Углы наклона фаз на суммарной кривой дожития дроздофил при обычных условиях и после воздействия пониженной температурой

| № опыта | Фазы | | | | |
|---------------------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| <i>«Тепловые» эксперименты</i> | | | | | |
| 1 | -0,22 -0,2 -0,08 | -17,53 -3,6 10,37 | -0,62 -0,6 -0,54 | -7,07 -6,1 -5,06 | -0,7 -0,6 -0,41 |
| 2 | -0,48 -0,3 -0,10 | -2,65 -1,9 -1,13 | -1,30 -0,8 -0,35 | -3,04 -2,6 -2,10 | -1,12 -0,7 -0,28 |
| 3 | -0,61 -0,5 -0,37 | -5,50 -2,5 0,57 | -3,87 -1,0 1,92 | -3,87 -3,0 -2,07 | -0,76 -0,5 -0,24 |
| 4 | -0,47 -0,3 -0,14 | -5,30 -3,4 -1,50 | -1,60 -1,4 -1,20 | -21,76 -8,1 5,50 | -0,42 -0,4 -0,32 |
| 5 | -0,34 -0,3 -0,16 | -6,1 -3,5 -0,99 | -1,40 -1,3 -1,10 | -3,60 -3,2 -2,80 | -0,72 -0,6 -0,44 |
| 6 | -0,32 -0,3 -0,19 | -2,36 -2,0 -1,73 | -0,73 -0,7 -0,60 | -11,86 -5,5 0,94 | -0,67 -0,2 0,28 |
| <i>«Холодовые» эксперименты</i> | | | | | |
| Короткая экспозиция 3t° | -0,47 -0,4 -0,26 | -2,78 -2,1 -1,37 | -1,34 -1,1 -0,81 | -3,86 -3,2 -2,52 | -2,81 -2,0 -1,09 |
| Длинная экспозиция 2t° | -0,39 -0,4 -0,30 | -12,58 -4,4 3,80 | -2,31 -0,6 1,16 | -2,76 -2,5 -2,17 | -3,51 -0,8 1,91 |
| 4t° | -0,20 -0,2 -0,12 | -3,12 -1,3 0,59 | -0,82 -0,7 -0,62 | -4,62 -3,9 -3,11 | -1,47 -0,8 -0,10 |

ством наклонов в каждой из фаз) характерно для пятифазной структуры кривых дожития объекта [4, 5, 8]. При этом на каждом из фазовых участков количественные характеристики наклонов в «холодовых» опытах значимо не отличаются от таковых, найденных в «тепловых» экспериментах. Наклоны кривых дожития, следовательно, не могут обеспечить описанного в работе повышения индивидуальной продолжительности жизни дрозофилы.

Совокупность полученных данных указывает на ведущую (ключевую) роль стартовой фазы ф1 в развитии найденного геропротекторного эффекта. Позитивное действие обусловлено продлением данной фазы и задержкой наступления последующих возрастных этапов (ф2—ф5). Первоначально происходит задержка ф2, отражающей, согласно нашей гипотезе, 2-й этап повреждения системы, ответственной за раннюю гибель мух (см. выше). Данная фаза не начинается, пока не закончится удлинение стартового периода (ф1).

Далее, вслед за второй из фаз, оказываются задержанными фазы ф3, ф4 и ф5, обеспеченные, по видимому, другими биологическими механизмами (другие системы?). Порядок прохождения ф2—ф5 при этом не нарушается. Перечисленные возрастные этапы лишь отодвигаются на более позднее время. Они следуют друг за другом обычным возрастным чередом по типу движения вагонов железнодорожного состава.

Существенно, что описанная картина не зависит ни от объёма статистической выборки (1 200—100 мух), ни от интервала между опытами (максимальный интервал составлял 18 мес, за время которых сменилось около 36 поколений). Это указывает на тотальное вовлечение дрозофил в данные процессы и позволяет полагать, что феномен «отодвигания возрастных фаз» (наряду с дискретной структурой кривых дожития и постоянством уровня дисперсии) может быть оценён как наследственно детерминированный.

Кажется маловероятным, что найденная закономерность присуща только дрозофиле. Разная динамика выживаемости на раннем и последующих возрастных этапах описана на различных биологических видах, включая млекопитающих и человека [6]. Что же касается «многофазности», то данное явление можно усмотреть в работах, проведённых на дафниях [10, 12, 13], на некоторых представителях отряда насекомых [14, 15] и класса млекопитающих [7].

Заключение

Итак, «холодовое» воздействие, применённое на ранних этапах жизни *Drosophila melanogaster* линии *Canton-S*, приводит к повышению жизнеспособности дрозофил. Данная ситуация обусловлена продлением стартового возрастного периода и задержкой наступления последующих возрастных фаз. Найденное явление касается общей проблемы взаимосвязи разных возрастных этапов. Оно, на наш взгляд, имеет несомненный теоретический интерес.

В прикладном отношении существенно, что феномен «отодвигания возрастных фаз» 1) инициируется относительно коротким воздействием агента, 2) охватывает всех особей популяции, 3) может (при достаточной продолжительности воздействия) проявляться на всех возрастных этапах.

Полученные данные открывают возможность нового подхода к изучению проблемы геропротекции. В перспективе представляется интересным использовать другие биологические объекты и модифицирующие агенты, попытаться отодвинуть развитие тех или иных проявлений поздней возрастной патологии, связанной, в том числе, с процессами нейродегенерации и канцерогенеза [1].

Литература

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003.
2. Бычковская И. Б. Динамика пострадиационной гибели биологических объектов. М.: Атомиздат, 1970.
3. Бычковская И. Б. Проблема отдалённой радиационной гибели клеток. М.: Энергоатомиздат, 1986.
4. Бычковская И. Б., Мыльников С. В. О дискретности кривых дожития. Сообщение 2. Анализ изменчивости формы кривых дожития у линии *Canton-S Drosophila melanogaster* // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 1. С. 38–43.
5. Бычковская И. Б., Мыльников С. В., Можаяев Г. А. О дискретности кривых дожития. Сообщение 3. Две формы изменчивости жизнеспособности у *Drosophila melanogaster* // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 4. С. 541–547.
6. Гаврилов Л. А., Гаврилова Н. С. Биология продолжительности жизни. М.: Наука, 1991.
7. Малыгин А. Г. Возрастные колебания смертности у мышей с мутацией задержки роста // Биохимия. 2013. Т. 78. Вып. 9. С. 1318–1330.
8. Мыльников С. В., Опарина Т. И., Бычковская И. Б. О дискретности кривых дожития. Сообщение 1. Отклонения от закона Гомпертца у линии *Canton-S Drosophila melanogaster* // Успехи геронтол. 2015. Т. 28. № 4. С. 624–628.
9. Фролькис В. В., Мурадян Х. К. Экспериментальные пути продления жизни. Л.: Наука, 1988.
10. Vyckovskaya I. B., Sarapultseva E. I. Special effects of low doses and life span of irradiated daphnids // Int. J. Low Radiat. 2011. Vol. 8. № 1. P. 35–41.
11. Motulsky H., Christopoulos A. Fitting model to biological data using linear and nonlinear regression: A practical guide

to curve fitting. San Diego, Ca.: GraphPad Software Inc., 2002. URL: www.graphpad.com.

12. Sarapultseva E.I., Dubrova Yu.E. The long-term effects of acute exposure to ionizing radiation on survival and fertility in *Daphnia magna* // Environm. Res. 2016. Vol. 50. (Iss. 1). P. 138–143

13. Sarapultseva E., Malina J., Gorski A. Radiation in low doses reduces life span of *Daphnia magna* // Radioprotection. 2011. Vol. 46 (Iss. 6). P. S349–S353.

14. Tunçbilek A.S., Ayvaz A., Öztürk F., Kaplan B. Gamma radiation sensitivity of larvae and adults of the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst // Anzeiger für Schadlingskunde. 2003. Vol. 76. № 5. P. 129–132.

15. Watters F.L., MacQueen, K.F. Effectiveness of gamma irradiation for control of five species of stored-product insects // J. Stor. Prod. Res. 1967. Vol. 3. № 3. P. 223–234.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 323–331

I. B. Bychkovskaya¹, S. V. Mylnikov², T. I. Oparina³

ON THE DISCONTINUITY OF THE ANNUITY CURVES IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* CANTON-S STRAIN. IV. EFFECT OF LOW TEMPERATURE ON THE EARLY IMAGINAL STAGE

¹ Nikiforov Center of Emergency and Radiation Medicine of the Russian Ministry of Emergency Control, 4/2, Lebedeva str., St. Petersburg, 194044; e-mail: i.b.bychkovskaya@gmail.com; ² Saint-Petersburg State University, 7–9, Universitetskaya emb., St. Petersburg, 199034; ³ D. O. Ott Institute of obstetrics and gynecology, 3 Mendeleevskaya line, St. Petersburg, 199034

We tested the effect of low temperature (18–20 °C) applied at the 13–22 days of imago life. We detected prolongation of individual life span. The effect is due to prolongation of the first phase of the annuity curve and thus to further delay of the next ones. This may lead to delay of mature pathology and prolongation of maximal life span. The effect is not dependent on sample size.

Key words: *Drosophila*, annuity curve, discontinuation, variance, temperature, initial period, life span

Л. Б. Ким¹, Н. К. Белишева², А. Н. Пуяткина¹, Г. С. Русских^{1, 3}, П. М. Кожин¹,
О. Б. Цыпышева⁴

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ОСНОВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА У ЖИТЕЛЕЙ РОССИЙСКОЙ АРКТИКИ*

¹ Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины, 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2; e-mail: lenkim@centersem.ru; ² Кольский научный центр РАН, 184209, Апатиты, ул. Ферсмана, 14а; ³ Научно-исследовательский институт биохимии, 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2; ⁴ Ловозерская центральная районная больница, 184580, Мурманская обл., пос. Ревда, ул. Комсомольская, 2

Изучены основные компоненты внеклеточного матрикса (ВМ) у жителей Арктики. У северян содержание общих гликозаминогликанов, гиалуронана и коллагена IV типа в плазме крови, а также общего и пептидносвязанного гидроксипролина в моче увеличено, что свидетельствует об ускоренном метаболизме основных компонентов ВМ относительно группы сравнения (жителей Западной Сибири). Возрастная связанная ремоделирование ВМ у северян проявлялось в изменении соотношения и количества основных его компонентов. С возрастом содержание общих гликозаминогликанов и гиалуронана, фибронектина, гидроксипролина и его фракций увеличивалось, при этом содержание коллагена IV типа существенно не изменялось. Наличие положительной корреляционной связи средней силы между компонентами ВМ и показателями биологического старения свидетельствует о взаимосвязи двух процессов — старения, которое на Европейском Севере ускорено, и патологического ремоделирования ВМ, поскольку последнее связано с ускоренным старением. Одной из причин патологического ремоделирования ВМ может быть изменение в системе локальной регуляции, в частности — матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы.

Ключевые слова: внеклеточный матрикс, гидроксипролин, коллагены, гликозаминогликаны, старение, фиброз, Арктика, Европейский Север

Внеклеточный матрикс (ВМ) присутствует во всех органах и тканях организма человека и животных. Основными его компонентами являются гликозаминогликаны/протеогликаны, коллагены, эластин, гликопротеины и матрицеллюлярные белки. Протеогликаны — это отрицательно заряженные молекулы, содержащие стержневой белок и один или несколько ковалентно прикрепленных гликозаминогликанов (ГАГ). В зависимости от степени сульфатирования, они подразделяются на сульфатированные (хондроитин сульфат А,

В и С, гепаран сульфат и гепарин, кератан сульфат) и нессульфатированные (гиалуронан и его изомер хондроитин). В свою очередь, в зависимости от того, какие типы ГАГ прикрепляются к белку, различают хондроитин сульфатные, гепарин и гепаран сульфатные, кератан сульфатные протеогликаны. ГАГ обладают антиоксидантной и антиокислительной активностью, что позволяет им защитить клетки от активных метаболитов кислорода и липидных пероксидов [22].

Большая часть из 28 известных типов коллагена относится к нефибриллярным коллагенам, меньшая — к фибриллярным [15, 30]. Представляя собой сложный комплекс различных макромолекул, ВМ обеспечивает передачу сигналов, поддержание формы клеток и их развитие (миграция и рост) [18]. Фибриллярные коллагены (I, II, III, V, XI типа) выполняют формообразующую и биомеханическую функции ВМ, тем самым препятствуют сдавливанию тканей. Коллаген IV типа, образующий сетчатую структуру в базальных мембранах, участвует в транскапиллярном обмене метаболитов. Компоненты ВМ, участвуя в заместительном постинфарктном фиброзе, причастны к развитию осложнений инфаркта миокарда — процессу патологического ремоделирования сердца [9], их определение может быть использовано для прогнозирования осложнений заболевания [7]. Во ВМ присутствуют также гликопротеины (фибронектины, ламинины и др.).

Сложность структуры ВМ, многообразие его функций обеспечивает ключевую роль основных его компонентов в норме [10, 15, 31] и при патологических процессах [4, 17, 29]. Происходящие в последние годы в мире демографические процес-

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Президиума РАН по Программе фундаментальных исследований «Поисковые фундаментальные научные исследования в интересах развития Арктической зоны Российской Федерации».

сы побудили у научного сообщества интерес к изучению ВМ при старении человека [35, 36] и развитии возрастсвязанных заболеваний [8, 37, 38, 42, 43].

Особую актуальность приобретает необходимость развития этого направления в Арктической зоне РФ в связи с ранним развитием социально значимых, возрастсвязанных заболеваний, обусловленных влиянием комплекса суровых климато-географических факторов (холод, высокая влажность, сильные ветра, особенности фотопериодизма, геомагнитная активность и другие), а также усилением действия в последние годы факторов промышленного производства в связи с активным экономическим освоением северных территорий.

По всей видимости, раннее развитие возрастсвязанных заболеваний является отражением ускоренного старения организма, которое можно определить разными методами. Чаще всего прибегают к оценке биологического возраста. Его рассматривают как системный показатель, дающий представление об общем состоянии здоровья, экологическом благополучии, адаптации к экстремальным воздействиям, скорости и степени старения человека [14]. У жителей Европейского Севера отмечено превышение биологического возраста над календарным [3, 12]. Подтверждением ускоренного старения стали результаты о повышении относительной экспрессии молекулярного маркера старения $p16^{INK4a}$ в лейкоцитах периферической крови северян [32]. Безусловно, представляет интерес изучение ремоделирования ВМ на фоне ускоренного старения организма, поскольку эти процессы могут находиться в причинно-следственных отношениях.

В одной из обсуждаемых теорий стохастического старения уделено внимание перекрестным сшивкам макромолекул (коллагена), которые приводят к нарушению функции клеток и тканей [2]. Основные положения этой теории, так же как и теория повреждения белков, получили подтверждение. Однако исследований, посвященных изучению ВМ в процессе старения северян, в доступной литературе не оказалось. Имеющиеся единичные данные об отдельных компонентах ВМ у северян фрагментарны и не дают полного представления о возрастсвязанном его ремоделировании. В частности, показано, что содержание сульфатированного ГАГ — гепарина, участвующего в регуляции транскапиллярного обмена, у северян повышено [11]. Есть данные об увеличении общих ГАГ и повышенной экскреции гидроксипролина (ГОП) с мочой у рабочих на Ямале [19].

По мнению автора, эти факты на фоне раннего развития ИБС и прогрессирования дизадаптивных нарушений могут рассматриваться как свидетельство преждевременного старения северян.

Цель исследования — изучение состояния ВМ по содержанию основных его компонентов у жителей Европейского Севера и его возрастных особенностей.

Материалы и методы

Исследование проводили в рабочем поселке Ревда Ловозерского района Мурманской обл. ($67^{\circ}56'13''$ с. ш. и $34^{\circ}33'33''$ в. д.) в период становления полярной ночи (ноябрь—декабрь). На основании письменного информированного согласия в исследование были включены практически здоровые мужчины, рабочие горнорудного предприятия (бурильщики, взрывники, горнорабочие очистительного забоя, горные инженеры, дробильщики, крепильщики и др.). Основные вредные факторы на производстве были связаны с подземной добычей и обогащением лопаритовой руды, содержащей естественные примеси радионуклидов (^{238}U , ^{232}Th , ^{226}Ra) [16]. Обследовали основную группу — 91 мужчину 19–69 лет (средний календарный возраст $44,3 \pm 1,35$ года), средняя продолжительность жизни в арктических условиях (полярный стаж) — $20,4 \pm 1,35$ года. В зависимости от календарного возраста были выделены пять групп мужчин: 1-я ($n=13$) — до 29 лет, 2-я ($n=24$) — 30–39 лет, 3-я ($n=20$) — 40–49 лет, 4-я ($n=19$) — 50–59 лет, 5-я ($n=15$) — 60–69 лет. Группу сравнения составили 14 мужчин аналогичного возраста (средний возраст $42,9 \pm 3,45$ года), проживающие в Западной Сибири (Новосибирск). Представители группы сравнения не отличались от мужчин, проживающих на Севере, по полу, возрасту, ИМТ, семейному положению и хронотипу.

Настоящее исследование, получившее одобрение биоэтического комитета НИИЭКМ, выполняли с соблюдением «Этических принципов проведения научных медицинских исследований с участием человека» и в соответствии с «Правилами клинической практики в РФ». Забор крови проводили из локтевой вены в утренние часы после ночного голодания в вакуутайнеры, предназначенные для конкретного анализа. Плазму крови и пробы мочи замораживали при температуре -70°C для последующих анализов.

Определяли содержание общих ГАГ в плазме крови с орциновым реактивом («Aldrich», Germany) по методу [13], сульфатированных ГАГ в моче с 1,9 диметил-метиленовым голубым («Sigma-Aldrich»,

St. Louis, MO) по методике [26]. Измеряли уровень общего ГОП и его фракций — свободного ГОП, пептидносвязанного ГОП в моче [20]. В качестве стандарта использовали ГОП («MP Biomedicals Inc.», France). Измерение оптической плотности анализа проводили на спектрофотометре PD-303S («Apel», Japan) при указанных в методиках длинах волн для каждого анализа. Содержание креатинина в моче определяли с помощью набора «Creatinine O'Leary Olympus®» («Audit Diagnostics», Ireland) на автоматическом биохимическом анализаторе «AU 480 Beckman Coulter Inc.» (USA).

Содержание гиалуронана в плазме крови определяли методом ИФА с использованием набора «Hyaluronic Acid Test Kit» («Chugai Diagnostics Science Co. Ltd.», USA), фибронектина — «TECHNOZYM® Fibronectin ELISA Kit» («Technoclon GmbH», Austria), коллагена IV типа — «Argutus Serum Collagen IV EIA» («EKF Diagnostics Co. Ltd.», Ireland). Результаты считывали с помощью спектрофотометра «Microplate Reader Stat Fax-2100» («Awareness Technology Inc.», USA).

В связи с необходимостью поиска корреляционных связей между отдельными компонентами ВМ и показателями старения, определяли уровень относительной экспрессии молекулярного маркера старения $\rho 16^{INK4a}$. Для этого забирали в вакуумные контейнеры с ЭДТА венозную кровь, которую фракционировали центрифугированием при 1500 г в течение 15 мин («Sigma 2–16», Германия). Промежуточный слой лейкоцитов объемом <0,5 мл переносили в 1,2 мл RNAlater («Lifetechnologies», США) и замораживали при -70°C . Тотальную РНК выделяли с использованием «TRIzol Reagent» («Lifetechnologies», США) согласно инструкции. Для получения кДНК проводили обратную транскрипцию с использованием набора реагентов «iScript cDNA Synthesis Kit» («Bio-Rad Laboratories», США) согласно инструкции. Изменения экспрессии мРНК гена *CDKN2A* исследовали методом ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе CFX96 («Bio-Rad Laboratories», США) с использованием коммерческих праймеров Hs00923894_m1 («Lifetechnologies», США). Уровень экспрессии мРНК генов нормировали относительно референсного гена *ACTB*. Уровень экспрессии рассчитывали согласно методу Pfaffl.

Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10 («Stat Soft Inc.», USA). Для сравнения двух групп

применяли критерий Манна–Уитни, нескольких групп — Крускала–Уоллиса, при нормальном распределении — *t*-критерий Стьюдента или ANOVA, соответственно. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили по Спирмену или Пирсону. Результаты представлены в виде $M \pm m$.

Результаты и обсуждение

Содержание общих ГАГ, гиалуронана — несulfатированного ГАГ в плазме крови и sulfатированных ГАГ в моче у мужчин на Европейском Севере было статистически значимо выше относительно данных группы сравнения (табл. 1). Однако доля гиалуронана от содержания общих ГАГ в обеих группах значимо не отличалась и не превысила 0,55%. Увеличенным оказалось содержание и другого компонента ВМ — коллагена, о чем свидетельствует уровень общего ГОП. Показатель ГОП признается как маркер коллагена [15, 20], и его увеличение можно расценивать как свидетельство повышенного его количества во ВМ внутренних органов, отражающее выраженность фиброза [46]. У северян показатели пептидносвязанного и общего ГОП были выше, чем у мужчин группы сравнения. Если принимать во внимание, что показатель пептидносвязанного ГОП отражает скорость биологического оборота коллагенов (синтез и деградация), а свободный ГОП — деградацию коллагенов [20], то увеличенные показатели отдельных фракций ГОП можно рассматривать как предпосылки к фиброзу. Это предположение подкрепляется содержанием коллагена IV типа, который в плазме крови северян был выше относительно данных группы сравнения (см. табл. 1).

По мнению шведского исследователя, повышенная экскреция ГОП с мочой может быть связана с влиянием холода [39]. Он показал, что пребывание здоровых мужчин в течение 24 ч в климатической камере при $+15^{\circ}\text{C}$ сопровождалось статистически значимым увеличением экскреции общего ГОП с мочой по сравнению с уровнем, полученным в термонейтральных условиях. При этом экскреция свободного ГОП с мочой повышалась незначительно.

Уместно заметить, что содержание коллагена IV типа и гиалуронана у северян было выше средних референсных величин, указанных в инструкциях (99 ± 23 мкг/л и $28,5 \pm 24$ нг/мл, соответственно). Наряду с этим, содержание адгезивного гликопротеина — фибронектина снижено относительно группы сравнения, хотя его значения соответ-

Содержание основных компонентов внеклеточного матрикса в плазме крови и моче у мужчин основной группы и группы сравнения

| Показатель | Основная группа | Группа сравнения | <i>p</i> |
|---------------------------------------------------|-----------------|------------------|----------|
| Общие гликозаминогликаны, мкг/мл | 14,02±0,65 | 8,51±0,84 | 0,001 |
| Гиалуронан, нг/мл | 62,36±4,42 | 42,00±2,72 | 0,043 |
| Доля гиалуронана от общих ГАГ, % | 0,52±0,04 | 0,53±0,08 | – |
| Коллаген IV типа, мкг/л | 141,17±4,68 | 119,00±9,55 | 0,027 |
| Фибронектин, мкг/мл | 327,5±9,42 | 400,3±21,2 | 0,002 |
| Сульфатированные гликозаминогликаны, мг/мМ креат. | 4,65±0,21 | 4,58±0,27 | – |
| Общий гидроксипролин, мг/мкМ креат. | 4,05±0,21 | 3,14±0,37 | 0,05 |
| Свободный гидроксипролин, мг/мкМ креат. | 1,03±0,07 | 0,89±0,10 | – |
| Пептидно-связанный гидроксипролин, мг/мкМ креат. | 2,82±0,16 | 2,07±0,23 | 0,036 |

ствовали референсным величинам (330 ± 80 мкг/мл). Таким образом, большее содержание основных компонентов ВМ в крови и моче, за исключением фибронектина, у мужчин на Европейском Севере, чем у жителей Западной Сибири, позволяет говорить о более высоком уровне метаболизма протеогликанов / ГАГ и коллагенов у мужчин основной группы.

Неоднократно было показано, что с возрастом усиливается фиброзирование легких [24], сердца [23], печени [28], почек [44]. Как правило, развивающийся при естественном старении интерстициальный фиброз органов связывают с накоплением коллагена. Однако неизвестно, как «ведут» себя другие компоненты ВМ. В недавно опубликованной работе нами показано, что содержание сульфатированных ГАГ в печени, легких и селезенке мышей возрастает за период их жизни 2–12 мес [34]. Влияние возрастного фактора на содержание основных компонентов ВМ у северян представлено в табл. 2.

С возрастом у северян содержание общих ГАГ и гиалуронана увеличивалось. У мужчин 5-й группы содержание общих ГАГ было в 1,5 раза, гиалуронана — в 2,2 раза выше, чем соответствующие данные у 1-й группы. У мужчин 4-й группы содержание гиалуронана ниже, чем у мужчин 5-й группы. По-видимому, высокие значения общих ГАГ в 5-й группе связаны с сульфатированными ГАГ. Вычисленная доля гиалуронана от общего содержания ГАГ была выше у мужчин 5-й группы относительно 1-й группы и ниже у мужчин 4-й группы по сравнению с данными других групп (2-й, 3-й и 5-й). Это обстоятельство еще раз навело на мысль об относительном увеличении сульфатированных ГАГ в 4-й группе (50–59 лет), — действительно, содержание последних в моче достигало наибольшей величины в этой группе.

Отмечено повышенное содержание фибронектина у мужчин 3-й ($p=0,024$) и 5-й ($p=0,045$) групп относительно данных 1-й группы (см. табл. 2), при этом оно было не выше, чем у мужчин группы сравнения (см. табл. 1).

Уровень общего ГОП и его фракций в моче возрастал с увеличением возраста, но статистически значимыми оказались различия между 5-й и 1-й группой (см. табл. 2). Кроме того, в 5-й группе уровень пептидносвязанного ГОП ($p=0,03$) и общего ГОП ($p=0,031$) был выше относительно аналогичных данных 2-й группы. Содержание коллагена IV типа в плазме крови изменялось незначительно.

Таким образом, в анализируемом возрастном отрезке у мужчин основной группы с возрастом наблюдали увеличение большинства показателей — общих ГАГ, гиалуронана, общего и пептидно-связанного ГОП и фибронектина, свидетельствующее о возрастсвязанном ремоделировании ВМ.

Для определения взаимосвязи возрастсвязанного ремоделирования ВМ с интенсивностью старения северян был выполнен корреляционный анализ между отдельными компонентами ВМ и параметрами старения (табл. 3). Учитывали биологический возраст, самооценку здоровья, патологический индекс и степень старения по В.П. Войтенко [5], относительную экспрессию маркера старения $\rho 16^{INK4a}$, величины которых, за исключением патологического индекса у северян, были значимо выше относительно данных группы сравнения [32, 33]. В частности, уровень относительной экспрессии $\rho 16^{INK4a}$ в группе северян составил $10,25 \pm 3,22$, а в группе сравнения — $1 \pm 0,36$ ($p=0,003$). Прямая корреляция между общими ГАГ и гиалуронаном с полярным стажем, а также с указанными параметрами старения, позволяет заключить, что обмен ГАГ у северян тес-

Содержание основных компонентов внеклеточного матрикса в плазме крови и моче у мужчин основной группы в зависимости от возраста

| Показатель | 1-я группа (≤ 29 лет), n=13 | 2-я группа (30–39 лет), n=24 | 3-я группа (40–49 лет), n=20 | 4-я группа (50–59 лет), n=19 | 5-я группа (60–69 лет), n=15 | p |
|---------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Общие гликозаминогликаны, мкг/мл | 10,29±1,02 | 9,25±0,77 | 14,26±1,37 | 16,88±1,16 | 15,52±1,67 | $p_{1-3}=0,024$ $p_{1-4}=0,001$ $p_{1-5}=0,023$ $p_{2-3}=0,004$ $p_{2-4}=0,0001$ $p_{2-5}=0,001$ |
| Гиалуронан, нг/мл | 41,20±6,03 | 50,79±7,19 | 63,09±10,01 | 56,00±4,66 | 90,46±12,09 | $p_{1-4}=0,037$ $p_{1-5}=0,002$ $p_{2-5}=0,007$ $p_{4-5}=0,011$ |
| Доля гиалуронана от общих гликозаминогликанов, % | 0,40±0,06 | 0,56±0,06 | 0,52±0,09 | 0,31±0,04 | 0,72±0,15 | $p_{1-5}=0,050$ $p_{2-4}=0,011$ $p_{3-4}=0,035$ $p_{4-5}=0,014$ |
| Коллаген IV типа, мкг/л | 137,90±11,98 | 146,60±13,35 | 132,31±9,73 | 148,73±7,94 | 137,54±9,17 | – |
| Фибронектин, мкг/мл | 286,88±24,72 | 335,64±22,11 | 350,43±13,92 | 303,99±23,67 | 349,38±17,31 | $p_{1-3}=0,024$ $p_{1-5}=0,045$ |
| Сульфатированные гликозаминогликаны, мг/мМ креат. | 3,86±0,33 | 4,25±0,28 | 5,04±0,71 | 5,29±0,55 | 4,76±0,40 | $p_{1-4}=0,040$ |
| Общий гидроксипролин, мг/мМ креат. | 3,51±0,45 | 3,70±0,32 | 4,21±0,61 | 4,56±0,61 | 4,80±0,36 | $p_{1-5}=0,019$ $p_{2-5}=0,031$ |
| Свободный гидроксипролин, мг/мМ креат. | 0,80±0,12 | 1,04±0,11 | 1,10±0,23 | 1,06±0,15 | 1,20±0,11 | $p_{1-5}=0,034$ |
| Пептидно-связанный гидроксипролин, мг/мМ креат. | 2,59±0,41 | 2,44±0,24 | 2,93±0,46 | 3,28±0,52 | 3,38±0,33 | $p_{1-5}=0,050$ $p_{2-5}=0,030$ |

Таблица 3

Корреляционные связи между отдельными компонентами внеклеточного матрикса и показателями старения (r ; p)

| Показатель | Общие гликозаминогликаны | Гиалуронан | Общие гликозаминогликаны / общий гидроксипролин | Общий гидроксипролин |
|-----------------------|--------------------------|--------------|----------------------------------------------------|----------------------|
| Календарный возраст | 0,30; 0,009 | 0,48; 0,0001 | – | 0,25; 0,043 |
| Полярный стаж | 0,33; 0,004 | 0,46; 0,001 | – | – |
| Биологический возраст | 0,36; 0,002 | 0,32; 0,008 | 0,34; 0,006 | – |
| Самооценка здоровья | 0,29; 0,016 | 0,32; 0,009 | – | – |
| Патологический индекс | 0,35; 0,002 | 0,47; 0,0001 | – | – |
| Степень старения | – | –0,25; 0,045 | 0,27; 0,027 | – |

но связан с биологическим старением. Это предположение подкрепляет обнаруженная прямая корреляция между молекулярным маркером старения $\rho 16^{INK4a}$ и содержанием общих ГАГ ($r=0,60$; $\rho=0,018$). Содержание фибронектина в плазме крови имело прямую корреляцию с биологическим возрастом ($r=0,25$; $\rho=0,046$). Выявлено наличие корреляционной связи между отношением общих ГАГ/общего ГОП с биологическим возрастом и степенью старения при наличии корреляции

общего ГОП только с календарным возрастом (см. табл. 3).

Таким образом, результаты корреляционного анализа показали, что между компонентами ВМ и показателями биологического старения существует положительная связь средней силы, которая отражает взаимосвязь двух процессов — старения и ремоделирования ВМ, последнее в большей степени обусловлено изменением обмена ГАГ.

Результаты исследования предполагают, что интерстициальный фиброз внутренних органов

на Европейском Севере может протекать с большей интенсивностью, чем в Западной Сибири. Такое представление в определенной степени объясняет результаты ряда исследований, полученных ранее у жителей Арктики. В частности, учеными Института морфологии человека [1] было продемонстрировано развитие характерных дизадаптационных изменений в бронхиальном дереве, респираторном отделе и легочных сосудах, индуцированных действием общего холода у лабораторных животных, а также у лиц с длительным полярным стажем и погибших от переохлаждения. Изменения выражались в отеке межклеточного пространства, увеличении бокаловидных клеток, повышенной секреции слизи в бронхах. На фоне нарушения проницаемости аэрогематического барьера наблюдали активацию синтеза, секреции и распада сурфактанта, интерстициальный и внутриальвеолярный отек. Наличие постоянного неспецифического симптомокомплекса в дыхательных путях и легких в ответ на действие холодового фактора позволило авторам обозначить это состояние как «северная пневмопатия». Структурные проявления северной пневмопатии не имели определенных нозологических черт, они расценивались как адаптационная перестройка бронхолегочной системы. Однако при «северной пневмопатии» выявляли существенные сдвиги в сторону патологических проявлений, таких как десквамация бронхиального эпителия, склероз подслизистого слоя, огрубение и дезорганизация эластических структур, разрастание соединительной ткани вокруг бронхов при отсутствии воспалительных реакций. Увеличение численности фибробластов и разрастание коллагеновых волокон способствовали утолщению межальвеолярных перегородок.

Анализируя структуру сосудов легких у здоровых северян, погибших от травм, авторы отмечали признаки эндосклероза крупных артерий, артериол и вен у лиц молодого и среднего возраста, имеющих большой полярный стаж [1]. Выделение «северной пневмопатии» как переходное состояние или преморбидный фон для возникновения бронхолегочных заболеваний было очень важно, так как позволяло авторам предложить диагностические критерии для своевременного выявления лиц, имеющих высокий риск бронхолегочной патологии. В то время описанные морфологические находки не получили должного объяснения. Результаты исследования основных компонентов ВМ позволяют объяснить и обосновать отдельные проявления «северной пневмопатии». Повышенное содержание общих ГАГ и гиалурона-

на объясняет отечность тканей, поскольку этим молекулам свойственна высокая гидрофильность, способность удерживать вокруг себя молекулы воды [41]. Склероз подслизистого слоя в бронхах, утолщение межальвеолярных перегородок могут быть связаны с высоким содержанием коллагена IV типа, которому сопутствует протеогликан, содержащий гепаран сульфатные цепи, перлекан. И коллаген IV типа, и перлекан имеют общую локализацию на базальной мембране эпителиальных и эндотелиальных клеток [29]. Поскольку коллаген IV типа связан с перлеканом, то можно ожидать увеличение гепаран сульфата в составе общих ГАГ. Это предположение подкрепляется возрастной динамикой толерантности крови к гепарину, описанной у северян [11]. Наряду с этим, повышенное содержание общего ГОП и пептидно-связанного ГОП, коллагена IV типа в определенной степени могут быть причиной развития синдрома северной тканевой гипоксии, в патогенезе которого имеют значение нарушения проницаемости капилляров, транскапиллярного обмена и газообмена [11], способствующие усилению фиброза.

Выявленные изменения в содержании основных компонентов ВМ у северян могут быть обусловлены сочетанным влиянием комплекса климато-географических факторов и производственных факторов горнорудной отрасли. Как было отмечено выше, подземная добыча и обогащение лопаритовой руды, содержащей естественные примеси радионуклидов [16], могут индуцировать развитие пневмофиброза [6].

Настоящее исследование продемонстрировало возрастную динамику содержания гиалуронана. U. Lindqvist и соавт. исследовали увеличение с возрастом содержания гиалуронана также у жителей Швеции [40]. У мужчин 41–50 лет его содержание в сыворотке крови было в 2 раза выше, 61–70 лет — уже в 4,5 раза выше по сравнению с мужчинами 17–30 лет. Наряду с этим, авторы обнаружили, что содержание аминотерминального пропептида проколлагена III типа, маркера синтеза коллагена III типа, было незначительно снижено у мужчин 41–50 лет. Эти результаты согласуются с полученными нами данными. Так, среди обследованных северян в аналогичной возрастной группе (40–49 лет) уровень пептидно-связанного ГОП имел тенденцию к снижению относительно результатов у представителей более молодых и более старших групп, что позволяет думать о снижении скорости биологического оборота коллагенов у северян в этом возрастном периоде.

Надо заметить, что возрастное увеличение содержания гиалуронана в крови наблюдали у жителей Японии [27]. В возрастной группе 50–69 лет содержание гиалуронана было в 2 раза выше по сравнению с данными группы 20–49 лет. Тем не менее, у японцев количественно оно оказалось ниже, чем у северян этой же возрастной группы. Польские исследователи показали нелинейное изменение содержания общих ГАГ (по гексуроновым кислотам) в плазме крови у лиц 1–70 лет [35]. У взрослых людей постепенное увеличение отмечено в возрастной группе 31–40 лет, до максимума в группе 41–50 лет, с последующим двукратным снижением в группе 61–70 лет. Такую же динамику наблюдали в отношении сульфатированных ГАГ — максимальное содержание хондроитин сульфата и дерматан сульфата в группе 41–50 лет. При этом количественно в большей степени был представлен хондроитин сульфат, в меньшей степени — гепаран сульфат. Несколько позже эта же группа авторов сообщила о содержании сульфатированных ГАГ в плазме крови, измеренных с использованием алцианового синего [36]. У мужчин максимальное содержание было в возрасте 31–40 лет, снижение в 1,8 раза — в 41–60 лет и последующий незначительный прирост в 61–70 лет. Наряду с этим, авторы показали, что максимальное содержание провоспалительного цитокина *TNF-α* было у мужчин 21–30 лет, которое снижалось более чем в 2 раза в 31–40 и 51–70 лет, в 8 раз — в 41–50 лет. Динамика уровня растворимого рецептора-1 *TNF-α* (*sTNF-α-R1*) в целом повторяла изменение содержания сульфатированных ГАГ, тем не менее, корреляции между содержанием последних и цитокинами в обсуждаемом диапазоне возраста не было отмечено. Авторы заключили, что физиологическое старение связано с ремоделированием ВМ.

Ремоделирование ВМ в органах — необходимое условие для поддержания здоровой ткани, при котором обеспечивается деградация старых и измененных компонентов и образование новых [31]. На основании изучения большого числа биомаркеров обмена ВМ в сыворотке крыс 1–12 мес, М. А. Karsdal и соавт. предложили выделять этап моделирования в период роста животных и возрастсвязанное ремоделирование ВМ. У взрослых животных ремоделирование ВМ может быть патологическим при действии повреждающих факторов (цирроз печени) либо физиологическим при нормальном старении. Спорным представляется выделение этапа моделирования ВМ во время роста и развития, поскольку здесь также проис-

ходят процессы синтеза и деградации, но с преобладанием синтетических процессов, о чем сообщили авторы. Об этом же говорят результаты изучения сульфатированных и общих ГАГ у детей с 1 года до подросткового возраста [35, 36], показатели у которых были существенно выше, чем у взрослых людей.

Таким образом, можно заметить, что для северян характерно возрастное увеличение гиалуронана, отличное от данных жителей Японии и Польши, проживающих в несвойственных для Европейского Севера климатогеографических условиях. Возрастное увеличение содержания ГАГ (общие и сульфатированные ГАГ, гиалуронан), уровня общего ГОП и его фракций и фибронектина можно рассматривать как проявление патологического ремоделирования ВМ с развитием фиброза, связанного с ускоренным старением северян, в отличие от физиологического ремоделирования при нормальном старении.

В свете последних данных, изложенных в обзоре S. Albeiroli и соавт. [21], повышение содержания гиалуронана в плазме крови с возрастом можно рассматривать как движущий фактор фиброза, который индуцирует профибротические эффекты цитокина — трансформирующего фактора роста (*TGF-β*). Они могут проявляться в усилении экспрессии мРНК гиалуронан синтазы-1 и гиалуронан синтазы-2 (*HAS1*, *HAS2*), а также экспрессии рецептора гиалуронан-опосредованной подвижности миофибробластов (*RHAMM*). Участие же ферментов деградации гиалуронана — гиалуронидазы-1 и -2 в фиброзе приводит к в образованию фрагментов гиалуронана с разной молекулярной массой, но меньшей, чем нативного высокомолекулярного гиалуронана. Известно, что биологические свойства гиалуронана определяются размерами молекулы [25, 45]. Высокомолекулярный гиалуронан обладает антиангиогенным, иммуносупрессивным, противовоспалительным свойствами, тогда как полимеры с меньшей молекулярной массой имеют ангиогенный, иммуностимулирующий и провоспалительный эффект. Не исключено, что выявленное у северян увеличение гиалуронана с возрастом происходит за счет определенной доли средне- и низкомолекулярного гиалуронана.

Надо заметить, что полученные результаты более полно представили бы состояние и функционирование ВМ у северян при наличии адекватной группы сравнения, а также материалов о системе регуляции метаболизма компонентов ВМ, в частности активности матричных металлопроте-

иназ и содержания тканевых ингибиторов металлопротеиназ.

Заключение

Ремоделирование внеклеточного матрикса у жителей Европейского Севера происходит в ускоренном темпе относительно группы сравнения — жителей Западной Сибири. Это может быть обусловлено сочетанным влиянием комплекса климатогеографических факторов Арктики и вредных факторов, связанных с профессиональной деятельностью горняков (добыча и обогащение лопаритовой руды). Признаками ускоренного старения можно признать повышение интенсивности метаболизма основных компонентов внеклеточного матрикса, определяемое по значимому увеличению ряда показателей: содержание общих гликозаминогликанов, гиалуронана и коллагена IV типа, а также общего гидроксипролина и пептидно-связанного гидроксипролина.

С возрастом у северян ремоделирование внеклеточного матрикса характеризуется изменением соотношения и количества основных его компонентов. С возрастом содержание общих гликозаминогликанов, гиалуронана, фибронектина увеличивалось. У северян до 29 лет содержание сульфатированных гликозаминогликанов было ниже, чем в 50–59 лет, содержание общего гидроксипролина и его форм ниже, чем у 60–69-летних, на фоне повышенного содержания коллагена IV типа во всех группах. Положительные корреляционные связи между показателями внеклеточного матрикса и биологического старения свидетельствуют о патологическом варианте ремоделирования внеклеточного матрикса, поскольку обусловлено ускоренным старением. Патологический вариант ремоделирования внеклеточного матрикса с развитием фиброза может быть вызван изменением в системе локальной регуляции, в первую очередь — матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» НИИЭКМ и «Спектрометрические измерения» НИИ биохимии.

Литература

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Марачев А.Г., Милованов А.П. Патология человека на Севере. М.: Медицина, 1985.
2. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. Т. 1. СПб.: Наука, 2008.
3. Бойко Е.Р. Адаптация человека к экологическим и социальным условиям Севера. Сыктывкар: УрО РАН, 2012.
4. Бондарь И.А., Климонтов В.В., Ким Л.Б. и др. Метаболизм коллагена и коллагенолитическая активность сыворотки крови у больных сахарным диабетом 1 типа с нефропатией // Сахарный диабет. 2004. № 3. С. 10–13.
5. Войтенко В.П. Здоровье здоровых: Введение в санологию. Киев: Здоровье, 1991.
6. Калистратова В.С., Беляев И.К., Жорова Е.С. и др. Радиобиология инкорпорированных радионуклидов. М.: ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2012.
7. Ким Л.Б. Способ прогнозирования развития осложненных инфаркта миокарда: Патент РФ МПК G01N 33/68 № 2373542 от 20.11.2009.
8. Ким Л.Б. Соединительная ткань и проблема социальных значимых заболеваний человека // Вестн. НГУ (Серия «Биология, клиническая медицина»). 2010. Т. 8. Вып. 1. С. 162–170.
9. Ким Л.Б., Путятин А.Н. Динамика биохимических маркеров репаративного фиброза при осложненном течении инфаркта миокарда // Кардиология. 2010. Т. 50. № 12. С. 10–14.
10. Ким Л.Б., Путятин А.Н., Никонова И.К. Содержание гликозаминогликанов и гидроксипролина в сыворотке крови у практически здоровых людей в зависимости от возраста, пола и группы крови // Клини. лаб. диагностика. 2011. № 6. С. 23–25.
11. Ким Л.Б. Транспорт кислорода при адаптации человека к условиям Арктики и кардиореспираторной патологии. Новосибирск: Наука, 2015.
12. Ким Л.Б., Белишева Н.К., Путятин А.Н. и др. Качество жизни мужчин разного возраста на Европейском Севере: связь с самооценкой здоровья и гормональным статусом // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 2. С. 360–368.
13. Кляцкин С.А., Лифшиц Р.И. Определение гликозаминогликанов орциновым методом в крови больных // Лаб. дело. 1989. № 10. С. 51–53.
14. Крутько В.Н., Донцов В.И., Захарьяшева О.В. и др. Биологический возраст как показатель уровня здоровья, старения и экологического благополучия человека // Авиакосмич. и экологич. мед. 2014. Т. 48. № 3. С. 12–19.
15. Омеляненко Н.П., Слуцкий Л.И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия). Т.1. М.: Известия, 2009.
16. Петрашова Д.А., Белишева Н.К., Пелевина И.И. и др. Генотоксические эффекты в буккальном эпителии горняков, работающих облучения природными источниками ионизирующего излучения // Изв. Самар. научн. центра РАН. 2011. Т. 13. №1 (7). С. 1792–1796.
17. Рацина Е.В., Говорин А.В., Соколова Н.А., Фетисова Н.В. Динамика биомаркеров синтеза и деградации коллагена при остром трансмуральном переднем инфаркте миокарда, осложненном аневризмой // Сибир. мед. журн. (Иркутск). 2014. № 7. С. 23–26.
18. Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки: Рук. для врачей. М.: БИНОМ-Пресс, 2003.
19. Четкина И.И. Особенности процессов старения трудоспособного населения на Севере: Автореф. дис. канд. мед. наук. Новосибирск, 2007.
20. Шараев П.Н., Стрелков Н.С., Кильдиярова Р.Р. и др. Соединительная ткань в детском возрасте. Ижевск: Ижевск. гос. мед. акад., 2005.
21. Albeiroti S., Soroosh A., De la Motte C.A. Hyaluronan's role in fibrosis: A pathogenic factor or a passive player? // Biomed. Res. Int. 2015. Vol. 2015. Article ID: 790203. doi: 10.1155/2015/790203.
22. Albertini R., Passi A., Abuja P.M., De Luca G. The effect of glycosaminoglycans and proteoglycans on lipid peroxidation // Int. J. molec. Med. 2000. Vol. 6. № 2. P. 129–136.
23. Biernacka A., Frangogiannis N.G. Aging and cardiac fibrosis // Aging Dis. 2011. Vol. 2. № 2. P. 158–173.
24. Calabresi C., Arosio B., Galimberti L. et al. Natural aging, expression of fibrosis-related genes and collagen deposition in rat lung // Exp. Geront. 2007. Vol. 42. № 10. P. 1003–1011.

25. Cowman M.K., Lee H.G., Schwertfeger K.L. et al. The content and size of hyaluronan in biological fluids and tissues // *Front. Immunol.* 2015. Vol. 6. P. 261.
26. De Jong J.G., Wevers R.A., Laarakkers C., Poorthuis B.J. Dimethylmethylene blue-based spectrophotometry of glycosaminoglycans in untreated urine: a rapid screening procedure for mucopolysaccharidoses // *Clin. Chem.* 1989. Vol. 35. № 7. P. 1472–1477.
27. Eto N., Yoshino J., Inui K. et al. Fluctuation of the fibrosis markers with aging // *Jpn. J. Geriat.* 2002. Vol. 39. P. 176–180.
28. Gagliano N., Arosio B., Grizzi F. et al. Reduced collagenolytic activity of matrix metalloproteinases and development of liver fibrosis in the aging rat // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. № 4. P. 413–425.
29. Gill S., Wight T.N., Frevert C.W. Proteoglycans: key regulators of pulmonary inflammation and the innate immune response to lung infection // *Anat. Rec.* 2010. Vol. 293. № 6. P. 968–981.
30. Gordon M.K., Hahn R.A. Collagens // *Cell Tiss. Res.* 2010. Vol. 339. № 1. P. 247–257.
31. Karsdal M.A., Genovese F., Madsen E.A. et al. Collagen and tissue turnover as a function of age: Implications for fibrosis // *J. Hepatol.* 2016. Vol. 64. № 1. P. 103–109.
32. Kim L.B., Kozhin P.M., Putyatina A.N. Phenomenon of premature aging in the Northern Europe // In: *Proceedings 2015 CIS-Korea Conference on Science and Technology, dedicated to 25th anniversary of diplomatic relations between Russia and Korea. M., 2015. P. 23–26.*
33. Kim L.B., Russkikh G.S., Gevorgian M.M. et al. Sex hormones and cardiovascular risk in male mining workers living in the European North // *Hum. Physiol.* 2016. Vol. 42. № 2. P. 195–202.
34. Kim L.B., Shkurupy V.A., Putyatina A.N. Age-related changes in the system metalloproteinases/tissue metalloproteinase inhibitors and proteoglycan components in mouse organs // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. Vol. 161. № 1. P. 32–36.
35. Komosinska-Vassev K.B., Winsz-Szczotka K., Kuznik-Trocha K. et al. Age-related changes of plasma glycosaminoglycans // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2008. Vol. 46. № 2. P. 219–224.
36. Komosinska-Vassev K., Olczyk P., Winsz-Szczotka K. et al. Age- and gender-dependent changes in circulating concentrations of tumor necrosis factor- α , soluble tumor necrosis factor receptor-1 and sulfated glycosaminoglycan in healthy people // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2011. Vol. 49. № 1. P. 121–127.
37. Kular J.K., Basu S., Sharma R.I. The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering // *J. Tissue Eng.* 2014. Vol. 5. 2041731414557112. doi: 10.1177/2041731414557112. eCollection 2014.
38. Kwak H.B. Aging, exercise, and extracellular matrix in the heart // *J. Exerc. Rehabil.* 2013. Vol. 9. № 3. P. 338–347.
39. Lennquist S. Urinary excretion of hydroxyprolines in man under the influence of cold // *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 1975. Vol. 35. № 2. P. 103–107.
40. Lindqvist U., Laurent T.C. Serum hyaluronan and amino-terminal propeptide of type III procollagen: variation with age // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1992. Vol. 52. № 7. P. 613–621.
41. Pelosi P., Rocco P.R., Negrini D., Passi A. The extracellular matrix of the lung and its role in edema formation // *An. Acad. Bras. Ciênc.* 2007. Vol. 79. № 2. P. 285–297.
42. Robert L., Labat-Robert J. Longevity and aging: role of genes and of the extracellular matrix // *Biogerontology.* 2015. Vol. 16. № 1. P. 125–129.
43. Spadaccio C., Rainer A., Mozetic P. et al. The role of extracellular matrix in age-related conduction disorders: a forgotten player? // *J. Geriat. Cardiol.* 2015. Vol. 12. № 1. P. 76–82.
44. Stefanska A., Eng D., Kaverina N. et al. Interstitial pericytes decrease in aged mouse kidneys // *Aging (Albany NY).* 2015. Vol. 7. № 6. P. 370–382.
45. Stern R., Asari A.A., Sugahara K.N. Hyaluronan fragments: an information-rich system // *Eurp. J. Cell. Biol.* 2006. Vol. 85. № 8. P. 699–715.
46. Wangoo A., Brown I.N., Marshall B.G. et al. Bacille Calmette—Guérin (BCG)-associated inflammation and fibrosis: modulation by recombinant BCG expressing interferon-gamma (IFN-gamma) // *Clin. exp. Immunol.* 2000. Vol. 119. № 1. P. 92–98.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 332–340

L. B. Kim¹, N. K. Belisheva², A. N. Putyatina¹, G. S. Russkikh^{1,3}, P. M. Kozhin¹, O. B. Tsyppysheva⁴

AGE-RELATED DYNAMICS OF THE MAIN EXTRACELLULAR MATRIX COMPONENTS IN RESIDENTS OF THE RUSSIAN ARCTIC

¹ Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, 2, ul. Timakova, Novosibirsk, 630117;
e-mail: lenkim@centercem.ru; ² Kola Scientific Centre, RAS, 14a, ul. Fersmana, Apatity, 184209;

³ Research Institute of Biochemistry, 2, ul. Timakova, Novosibirsk, 630117; ⁴ Lovozero Central District Hospital,
2, ul. Komsomolskaya, pos. Revda, Murmansk region, 184580

The main extracellular matrix components in Arctic residents were studied. Northerners had increased levels of total glycosaminoglycans, hyaluronan, and collagen IV in plasma and both general and peptide-bound hydroxyproline in urine, which indicates an accelerated metabolism of the main extracellular matrix components compared with comparison group (residents of Siberia). Age-related remodeling of extracellular matrix in northerners manifested in changing ratio and quantity of its main components. Levels of total glycosaminoglycans, hyaluronan, fibronectin, hydroxyproline and its fractions increased with age while the level of collagen IV changed insignificantly. Average positive correlation between extracellular matrix components and biological aging indicators is suggestive of relationship between these two processes: aging — which is accelerated in the Arctic and pathological remodeling of extracellular matrix as it is associated with accelerated aging. Changes in local regulation system including those related to matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors may be one of the reasons for pathological remodeling of extracellular matrix.

Key words: extracellular matrix, hydroxyproline, collagen, glycosaminoglycans, aging, fibrosis, Arctic, European North

М. А. Кабалык

ВОЗРАСТНЫЕ АСПЕКТЫ УЧАСТИЯ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТЕОАРТРОЗА*

Тихоокеанский государственный медицинский университет, 690002, Владивосток, пр. Острякова, 2;
e-mail: maxi_maxim@mail.ru

Цель исследования — установление особенностей изменения уровня белков теплового шока (*HSPs*), хемокинов и маркера деградации коллагена в крови больных остеоартрозом в возрастном аспекте. Как показали результаты исследования, участие *HSPs* в патогенезе остеоартроза представляется сложным и многоуровневым процессом. Под влиянием внешних факторов риска, *HSP70* выступает в качестве адьюванта иммунной реакции с участием хемокина *CXCL17*. Низкие уровни *HSPs* не позволяют им выступать в качестве аутоиммунного фактора взаимодействия с *Toll*-подобными рецепторами иммунокомпетентных клеток, но, очевидно, способствуют *CXCL17*-зависимой активации дендритных клеток и макрофагов, которые инициируют локальное воспаление с участием ключевых цитокинов, в том числе *TNF-α*. Хондроциты и остеобласты, подвергшиеся цитокиновой атаке, не способны по тем или иным причинам полноценно ответить усиленной экспрессией *HSP70* и *HSP27*. По мере старения организма патофизиология остеоартроза переходит в фазу местной тканевой реакции, где существенную роль оказывают процессы гипертрофической дифференцировки хондроцитов и остеоподобных клеток субхондральной кости.

Ключевые слова: остеоартроз, старение, хемокин *CXCL17*, фактор некроза опухоли, белок теплового шока, хрящ-ассоциированный протеин, патогенез

Концепция исследований, касающихся белков теплового шока (*HSPs* — heat shock proteins), находится в тесной взаимосвязи с общей идеологией стресса и старения на уровне организма в целом [1]. Исследования *HSPs* подчёркивают их важную роль в регуляции внутриклеточной сигнализации, организации межклеточных взаимодействий в развитии патогенетических каскадов окислительного стресса, воспаления и старения [4, 5]. Интересным представляется изучение функций *HSPs* в рамках регуляции ассоциированных с возрастом заболеваний опорно-двигательного аппарата. Существенное постарение населения подчёр-

кивает актуальность подобного рода исследований, целью которых является разработка стратегии профилактики и лечения заболеваний лиц пожилого и старческого возраста [2, 6].

Установлено, что *HSPs* активируются под влиянием стрессорных факторов, обеспечивая репаративные внутриклеточные процессы, выполняя при этом функцию молекулярных шаперонов [8]. Во внеклеточной среде *HSPs* регулируют тонус сосудов [4], участвуют в активации клеток врождённого иммунитета [14]. Снижение их концентрации сопровождается активацией *NF-κB*, матриксных металлопротеиназ, цитокинов [4], снижением толерантности к гипоксии [14]. Таким образом, *HSPs* выполняют разнообразные функции, выступая участниками патогенеза целого ряда заболеваний.

Особый интерес с практической и фундаментальной точек зрения вызывает роль *HSPs* в патогенезе остеоартроза (ОА), широко распространённого у лиц пожилого и старческого возраста [4], так как этот вопрос остается малоизученным. На экспериментальных моделях было показано, что воздействие *IL-1* и пероксида водорода на здоровые хондроциты активировало *HSP70* [15]. Однако другие данные свидетельствуют, что хондроциты при ОА теряют возможность активировать систему *HSP70* [22]. Малоизученной и активно обсуждаемой остаётся роль *HSP27*. Ранее считалось, что *HSP27* обладает мощным антиоксидантным потенциалом [14], однако последние данные, полученные А. Bianchi и соавт. (2014), опровергают представление об активации *HSP27* в культуре хондроцитов под воздействием окислительного стресса [8]. Недостаточно изученными остаются эффекты взаимодействия *HSP* с компонентами иммунной системы. Известно лишь, что *HSPs* участвуют в презентации антигена макрофагам, выполняя функцию шаперокинов [7].

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-33-00009).

Приведённые факты указывают на потенциальное участие системы *HSPs* в патогенезе ОА как заболевания, ассоциированного с возрастом, и подчёркивают необходимость дальнейшего изучения их роли в патофизиологии заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Цель исследования — установление особенностей изменения уровня *HSPs*, хемокинов и маркера дегградации коллагена в крови больных ОА в возрастном аспекте.

Материалы и методы

В условиях ревматологического кабинета Владивостокской поликлиники № 3 были обследованы 99 пациентов (87 (88 %) женщин и 12 (12 %) мужчин, средний возраст $66,7 \pm 7,9$ года, длительность заболевания 1–18 лет ($5,9 \pm 4$ года)), с ОА коленных суставов. Диагноз был верифицирован в соответствии с критериями Европейской антиревматической лиги (EULAR) 2010 г. Рентгенологическую стадию оценивали согласно классификации Kellgren.

Обследуемый контингент был разделен на группы согласно возрастной периодизации (АПН СССР, 1965): средний (зрелый) возраст II период ($n=31$) — 36–60 лет (мужчины), 36–55 лет (женщины); пожилой возраст ($n=44$) — 61–74 года (мужчины), 56–74 года (женщины); старческий возраст ($n=24$) — 75–89 лет. В качестве контрольной группы в исследование были включены 21 практически здоровая женщина и 9 мужчин в возрасте $59,6 \pm 8,3$ года, сопоставимых с основной группой по полу и возрасту. Критерии исключения: травмы коленных суставов и/или длительная иммобилизация в период 24 мес до включения в исследование, переломы мышцелков бедренных и проксимального отдела большеберцовых костей, отсутствие согласия на участие в исследовании. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом Тихоокеанского ГМУ. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Лабораторные методы исследования включали клинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови. Для определения концентрации искомым молекул в крови у пациентов использовали иммуноферментный анализ. Использовали коммерческие наборы для определения *HSP70*, *HSP27* («SunLong Biotech Co.», LTD, КНР), *CRTAP* (Cartilage Associated Protein — хрящ-

ассоциированный белок), *TNF- α* , *CXCL17* — хемокин класса *CXC* («Cloud-Clone Corp.», США).

Статистический анализ результатов проводили с помощью Statistica 6.0 (StatSoft, США). Распределение анализируемых показателей описывали посредством медианы (*Me*), 25 и 75 %. Достоверность различий распределения непрерывных переменных в разных группах определяли, используя непараметрический *z*-критерий Манна–Уитни. Связь между непрерывными переменными выявляли с помощью коэффициентов ранговой корреляции Спирмена. Достоверными считали различия показателей при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Изучение возрастных особенностей концентрации белков теплового шока показало, что их содержание было достоверно ниже у лиц старческого возраста ($p < 0,05$, табл. 1). Этот факт согласуется с результатами исследований других авторов, которые показали, что концентрация *HSP70* снижается с возрастом [21]. По мнению R. Njemini и соавт. (2011), снижение активности *HSP70* по мере старения организма обуславливает дефицит ответного реагирования на стрессорные факторы [19]. Дефицит *HSP70* реализуется на разных уровнях своей специализации. Как показали наши исследования, снижение *HSP70* сопровождается внутриклеточной активацией пролил-3-гидроксилазы 1 — *CRTAP*, что подтверждается прямой корреляционной связью ($r = 0,48$, $p < 0,05$). Как известно, *CRTAP* участвует в синтезе коллагеновых волокон в костной и хрящевой тканях [12]. Мы предполагаем, что с возрастом и по мере прогрессирования ОА, в условиях дефицита шаперонного контроля со стороны *HSP70*, происходит активация синтеза дефектных грубоволокнистых фибриллярных белков, которые обеспечивают ремоделирование субхондральной кости и дегградацию суставного хряща. Как показали наши исследования, у больных ОА с возрастом изменяется и шаперокинная активность *HSP70*, что проявляется статистически значимым снижением уровня хемокина *CXCL17* ($p < 0,05$), ответственного за активность клеток врождённого иммунитета. Известно, что *HSP70* непосредственно участвует в активации клеток врождённого иммунитета [20]. Снижение шаперокинной активности *HSP70* сопровождается депрессией иммунных реакций, в том числе с участием *CXCL17*. У лиц старческого возраста снижается проапоптозный потенциал систе-

Концентрация *HSPs*, *CRTAP*, *TNF-α* и *CXCL17* в крови у больных остеоартрозом разных возрастных групп, *Me* (25 и 75 %о)

| Показатель | Возрастная группа | | |
|------------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------------|
| | средний возраст II периода (n=31) | пожилой (n=44) | старческий (n=24) |
| <i>HSP70</i> , пкг/мл | 1,6 [1,2; 3,6] | 2,7 [1,8; 3,4]* | 1,3 [0,7; 2,2]** |
| <i>HSP27</i> , пкг/мл | 0,4 [0,3; 0,5] | 0,3 [0,2; 0,5] | 0,3 [0,3; 0,4] |
| <i>HSP70/HSP27</i> | 4,9 [3,2; 6,2] | 5,3 [4,1; 10,9]* | 3,6 [2,4; 3,9]*** |
| <i>CRTAP</i> , нг/мл | 9,1 [7,3; 12,0] | 9,5 [7,2; 12,5] | 12,9 [9,5; 26,8]** |
| <i>TNF-α</i> , пкг/мл | 3,00 [2,8; 6,4] | 3,0 [2,9; 4,2] | 3,4 [3,0; 4,9] |
| <i>CXCL17</i> , пкг/мл | 62,5 [20,1; 100,0] | 36,1 [30,4; 62,5] | 30,2 [28,6; 31,9]** |

* Статистически значимые различия с группой II периода зрелого возраста, $p < 0,05$; ** статистически значимые различия с группой пожилого возраста, $p < 0,05$.

мы *HSPs*, что проявляется статистически значимым снижением соотношения *HSP70/HSP27* ($p < 0,05$). Можно предположить, что с возрастом происходит дисбаланс *HSPs* и разных внутриклеточных специализаций, который приводит к поддержанию гипертрофической дифференцировки хондроцитов и остеоподобных клеток субхондральной кости [3].

Очевидно, что выявленные обстоятельства нужно учитывать в трактовке клинической картины ОА, принимая во внимание, что у лиц старческого возраста в основе патогенеза лежат дегенеративные процессы, в то время как у лиц зрелого возраста наблюдается активность воспалительного неспецифического ответа. Эти данные подтверждают целесообразность персонализированного подхода в выборе методов лечения больных разного возраста с ОА.

Нужно отметить, что содержание *HSP27*, *HSP70*, их соотношение и хрящ-ассоциированного протеина было статистически значимо ниже у больных ОА, чем у лиц контрольной группы (соответственно: $z = -3,06$, $p = 0,002$; $z = -2,05$, $p = 0,04$; $z = -4,41$, $p = 0,00001$, табл. 2). Концентрация *TNF-α* и *CXCL17*, наоборот, значимо превышала показатели у лиц контрольной группы (соответственно: $z = 5,82$, $p = 0,0001$; $z = 2,51$, $p = 0,01$). У больных ОА уровень *HSP70* продемонстрировал обратную корреляционную связь с уровнем *CRTAP* и *TNF-α* (соответственно: $r = -0,65$, $p < 0,05$; $r = -0,38$, $p < 0,05$). *CRTAP* статистически значимо коррелировал с *TNF-α* ($r = 0,34$, $p < 0,05$). *TNF-α* имел прямую связь с *CXCL17* ($r = 0,83$, $p < 0,05$).

Для изучения зависимости изменения концентрации изучаемых показателей относи-

тельно стадии заболевания пациенты были разделены на три группы. Ввиду незначительного числа наблюдаемых больных с IV рентгенологической стадией ОА, в настоящее исследование данные пациенты включены не были. Из данных табл. 3 видно, что концентрация *HSP70*, *TNF-α* и *CXCL17* была статистически значимо ниже у больных со II и III стадией ОА по сравнению с I ($p < 0,05$). *HSP27* достоверно не изменялся по мере прогрессирования рентгенологических симптомов ОА ($p > 0,05$), но отмечено снижение соотношения *HSP70/HSP27* в пользу антиапоптозного *HSP27* ($p < 0,05$). Наблюдали значимое увеличение уровня *CARTAP* по мере прогрессирования ОА ($p < 0,05$).

Корреляционный анализ показал, что у больных ОА I стадии концентрация *HSP70* и *HSP27* прямо коррелировала с уровнем *TNF-α* (соответственно: $r = 0,45$, $p < 0,05$; $r = 0,34$, $p < 0,05$) и *CXCL17* (соответственно: $r = 0,34$, $p < 0,05$; $r = 0,58$, $p < 0,05$). *TNF-α* также имел прямую корреляционную связь с *CXCL17* ($r = 0,68$, $p < 0,05$). У больных со II стадией ОА уровень *HSP70*

Таблица 2

Концентрация *HSPs*, *CRTAP*, *TNF-α* и *CXCL17* в крови у больных остеоартрозом и лиц контрольной группы, *Me* (25 и 75 %о)

| Показатель | Основная группа, n=99 | Контрольная группа, n=30 | <i>p</i> |
|------------------------|-----------------------|--------------------------|----------|
| <i>HSP70</i> , пкг/мл | 2,2 [1,5; 3,3] | 3,9 [3,2; 4,8] | 0,002 |
| <i>HSP27</i> , пкг/мл | 0,4 [0,3; 0,5] | 1,6 [0,7; 4,1] | 0,00001 |
| <i>HSP70/HSP27</i> | 5,1 [3,3; 6,8] | 2,7 [1,43; 5,4] | 0,04 |
| <i>CRTAP</i> , нг/мл | 11,1 [7,5; 17,5] | 13,2 [10,25; 19,0] | 0,04 |
| <i>TNF-α</i> , пкг/мл | 6,1 [4,94; 8,59] | 3,0 [2,1; 3,1] | 0,0001 |
| <i>CXCL17</i> , пкг/мл | 33,6 [29,8; 61,0] | 25,1 [24,8; 32,0] | 0,01 |

Концентрация *HSPs*, *CRTAP*, *TNF-α* и *CXCL17* в крови у больных остеоартрозом в зависимости от стадии заболевания, *Me* (25 и 75 %с)

| Показатель | Стадия остеоартроза | | |
|------------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|
| | I | II | III |
| <i>HSP70</i> , пкг/мл | 3,7 [1,5; 4,9] | 2,2 [1,2; 2,7]* | 1,8 [0,8; 3,8]* |
| <i>HSP27</i> , пкг/мл | 0,3 [0,3; 0,7] | 0,4 [0,3; 0,5] | 0,3 [0,2; 0,4] |
| <i>HSP70/HSP27</i> | 5,3 [4,7; 14,9] | 4,9 [3,3; 6,2] | 4,3 [1,9; 9,2]* |
| <i>CRTAP</i> , нкг/мл | 9,1 [7,2; 19,5] | 9,5 [8,9; 12,9] | 12,0 [8,0; 24,8]**,** |
| <i>TNF-α</i> , пкг/мл | 8,2 [6,1; 8,6] | 6,0 [4,8; 6,25]* | 6,4 [6,0; 8,9]* |
| <i>CXCL17</i> , пкг/мл | 36,4 [31,2; 65,0] | 32,0 [27,9; 61,0] | 31,9 [29,5; 60,0]** |

* Статистически значимые различия с I стадией по критерию Манна–Уитни, $p < 0,05$; ** статистически значимые различия со II стадией по критерию Манна–Уитни, $p < 0,05$.

достоверно был связан с концентрацией *TNF-α* ($r = -0,32$, $p < 0,05$). *TNF-α* был прямо связан с *CXCL17* ($r = 0,78$, $p < 0,05$). При наличии III стадии ОА выявлена достоверная плотная прямая связь *CRTAP* с уровнем *TNF-α* и *CXCL17* (соответственно: $r = 0,71$, $p < 0,05$; $r = 0,36$, $p < 0,05$).

Согласно полученным данным, у больных ОА выявлен значимо низкий уровень *HSPs* по сравнению с контрольной группой. При этом концентрация *HSP70* имеет тенденцию к снижению по мере прогрессирования заболевания и с возрастом больных, в то время как уровень *HSP27* значимо не меняется, оставаясь значительно ниже показателей у лиц контрольной группы.

Можно предположить, что реакция *HSPs* при ОА является неполноценной, поскольку не наблюдается синергичной активации белков теплового шока в ответ на стимуляцию. Это отчасти согласуется с данными G. Schett и соавт. (1998), которые показали, что при ОА, в отличие от ревматоидного артрита, *HSP70* не активируется под действием провоспалительных цитокинов [22]. Также было продемонстрировано, что снижение активности *HSP70* защищает синовиальные клетки от апоптоза [15].

Роль малых *HSPs*, к которым относится *HSP27*, изучена недостаточно [7]. Однако известно, что снижение данного шаперона в суставных тканях при ОА сопровождается снижением толерантности их к провоспалительным цитокинам, в основном *TNF* и *IL-6* [11]. Главной функцией *HSP27* является защита клетки от стресса и ингибирование внешнего пути апоптоза [16]. Согласно нашим данным, уровень *HSP27* не меняется, но значительно снижается соотношение *HSP70/HSP27* в сторону антиапоптозных значений.

Можно предположить, что снижение провоспалительного цитокина *TNF-α* и хемокина *CXCL17*, выполняющего функции активатора дендритных клеток и макрофагов, связано со снижением концентрации *HSP70*, который, как известно, обладает иммунной активностью, вызывая перекрестные реакции компонентов иммунной системы [23]. Снижение же *HSP70* способно уменьшать активацию клеточного звена иммунитета из-за разрыва паттернов с *MHC* (Major Histocompatibility Complex — главный комплекс гистосовместимости) II класса [7]. С другой стороны, известно, что *HSPs* активируются *IL* и *TNF* [22]. Таким образом, при ОА *HSPs* демонстрируют эффекты снижения иммунной активности за счёт депрессии *HSP70* и снижения своего апоптозного потенциала. Данные эффекты реализуются в рамках физиологического старения при ОА, что подчёркивает важность влияния возраста на развитие и прогрессирование патологии опорно-двигательного аппарата.

CXCL17 — цитокин, принадлежащий к семейству хемокинов *CXC*. Известен так же, как *VEGF* сорегулируемый хемокин 1 и хемокиноподобный белок привлечения дендритных клеток и моноцитов (*DMC* — Dendritic cell- and Monocyte-attracting Chemokine-like protein) [17]. Данный хемокин участвует в привлечении и регуляции дендритных клеток, моноцитов в ряде тканей. Как предполагается, взаимодействие *CXCL17* с клеткой осуществляется через G-рецептор 35 (*GRP35*) [9] и запускает внутриклеточную сигнализацию через различные пути, в том числе цАМФ, *ERK1/2* и другие [18], инициируя тем самым воспаление. В данном исследовании было показано, что концентрация *CXCL17* достоверно выше у больных ОА, но имеет тенден-

цию к снижению по мере прогрессирования заболевания. Снижение концентрации данного хемокина прямо ассоциировано с уровнем *HSP70* и *TNF-α*. Дело в том, что экспрессия *CXCL17* активируется в клетках под воздействием *IL-1β* и *TNF-α* и совместно регулируется с фактором роста эндотелия сосудов [10, 17], что объясняет выявленные тенденции.

Активация пролил-3-гидроксилазы (*CRTAP*) — обязательное условие синтеза альфа-цепи коллагенов всех типов [13]. Снижение экспрессии *CRTAP* связано с угнетением синтеза коллагенового матрикса хрящевой и, главным образом, костной ткани [12]. Обратная корреляционная связь данного белка с *HSP70* и *TNF-α*, вероятно, является свидетельством тормозного влияния провоспалительных и проапоптозных влияний на активацию пролил-3-гидроксилазы и, соответственно, на синтез коллагеновых цепей. Это обстоятельство подтверждается повышением концентрации *CRTAP* по мере снижения *HSP70* и *TNF-α*. Однако заслуживает внимания вопрос о полноценности вновь синтезируемых фибриллярных белков на поздних стадиях ОА.

Выводы

Участие белков теплового шока в патогенезе остеоартроза представляется сложным и многоуровневым процессом. Сложность определяется множественными функциями белков теплового шока во внутриклеточных и внеклеточных коммуникациях, их специфичностью в отношении выполняемых функций, которые подвержены возрастным изменениям. Можно предположить, что под влиянием внешних факторов риска, *HSP70* выступает в качестве адьюванта иммунной реакции с участием хемокина *CXCL17*. Низкий уровень белков теплового шока не позволяет им выступать в качестве аутоиммунного фактора взаимодействия с *Toll*-подобными рецепторами иммунокомпетентных клеток, но, очевидно, способствует *CXCL17*-зависимой активации дендритных клеток и макрофагов, которые инициируют локальное воспаление с участием ключевых цитокинов, в том числе *TNF-α*. Хондроциты и остеобласты, подвергшиеся цитокиновой атаке, не способны по тем или иным причинам полноценно ответить усиленной экспрессией *HSP70* и *HSP27*.

Развитие сценария внутриклеточной сигнализации через активацию фактора транскрипции *Nf-κB*, как известно, ведёт к экспрес-

сии матриксных металлопротеиназ, цитокинов, приводя к деградации межклеточного матрикса [24]. Мы предполагаем, что по мере старения организма патофизиология остеоартроза переходит в фазу местной тканевой реакции, где существенную роль оказывают процессы гипертрофической дифференцировки хондроцитов и остеоподобных клеток субхондральной кости [25]. Снижение проапоптозных влияний *HSP70* и сохранение постоянного уровня *HSP27* поддерживает данный процесс. Гипертрофированные хондроциты и остеобласты на II и III стадии остеоартроза, по-видимому, восстанавливают возможность активировать пролил-3-гидроксилазу через хрящ-ассоциированный белок *CRTAP*, обеспечивая межклеточный матрикс неполноценными грубоволокнистыми фибриллярными белками, приводя, в конечном итоге, к ремоделированию субхондральной кости и деградации суставного хряща [3].

Литература

1. Андреева Л.И. Теоретическое и прикладное значение белков теплового шока 70 КДА; возможность практического применения и фармакологической коррекции // Обзоры по клин. фармакол. и лекарств. тер. 2002. Т. 2. № 2. С. 2–18.
2. Анисимов В.Н. Старение и ассоциированные с возрастными болезнями // Клин. геронтол. 2005. № 1. С. 42–49.
3. Кабалык М.А., Дубиков А.И., Петрикеева Т.Ю. Феномен микрокристаллического стресса при остеоартрозе // Тихоокеан. мед. журн. 2014. № 1. С. 70–74.
4. Кабалык М.А., Гельцер Б.И., Осипов А.Л., Фадеев М.Ф. Белки теплового шока — участники патогенеза остеоартроза // Казан. мед. журн. 2016. Т. 97. № 5. С. 624–630.
5. Кузник Б.И., Линькова Н.С., Хавинсон В.Х. Белки теплового шока: возрастные изменения, развитие тромботических осложнений и пептидная регуляция генома (обзор литературы и собственных данных) // Успехи геронтол. 2011. Т. 24. № 4. С. 539–552.
6. Хавинсон В.Х., Бенберин В.В., Михайлова О.Н., Сидоренко А.В. Старение в странах с развивающейся экономикой: вызовы и возможности // Управл. консультирование. 2015. Т. 11. № 83. С. 50–58.
7. Auger I., Ragni E., Revirion D. et al. Immune response to 70 kD heat shock proteins and rheumatoid arthritis: implication of HLA-DRB1*0401 // Clin. exp. Rheumatol. 2007. Vol. 25. № 6. P. 933–934.
8. Bianchi A., Moulin D., Hupont S. et al. Oxidative stress-induced expression of HSP70 contributes to the inhibitory effect of 15d-PGJ2 on inducible prostaglandin pathway in chondrocytes // Free. Radic. Biol. Med. 2014. Vol. 76. P. 114–126. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.028.
9. Divorly N., Mackenzie A.E., Nicklin S.A., Milligan G. G protein-coupled receptor 35: an emerging target in inflammatory and cardiovascular disease // Front. Pharmacol. 2015. Vol. 10. № 6. P. 41. doi: 10.3389/fphar.2015.00041.
10. Dwinell M.B., Lugerling N., Eckmann L., Kagnoff M.F. Regulated production of interferon-inducible T-cell chemoattractants by human intestinal epithelial cells // Gastroenterology. 2001. № 120. P. 49–59.
11. Fan Z., Bau B., Yang H. et al. Freshly isolated osteoarthritic chondrocytes are catabolically more active than normal

- chondrocytes, but less responsive to catabolic stimulation with interleukin-1beta // *Arthr. and Rheum.* 2005. № 52. P. 136–143.
12. Grafe I., Alexander S., Yang T. et al. Sclerostin antibody treatment improves the bone phenotype of *crtp(-/-)* mice, a model of recessive osteogenesis imperfecta // *J. Bone Miner. Res.* 2016. Vol. 31. № 5. P. 1030–1040. doi: 10.1002/jbmr.2776.
13. Holmes D.F., Graham H.K., Trotter J.A. et al. STEM/TEM studies of collagen fibril assembly // *Micron.* 2001. Vol. 32. P. 273–285.
14. Hsu H.C., Chang W.M., Wu J.Y. et al. Folate deficiency triggered apoptosis of synoviocytes: role of overproduction of reactive oxygen species generated via NADPH oxidase/mitochondrial complex ii and calcium perturbation // *PLoS One.* 2016. Vol. 11. № 1. P. e0146440.
15. Kang E.H., Kim D.J., Lee E.Y. et al. Downregulation of heat shock protein 70 protects rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes from nitric oxide-induced apoptosis // *Arthr. Res. Ther.* 2009. № 11. P. R130. doi: 10.1186/ar2797.
16. Lambrecht S., Juchtmans N., Elewaut D. Heat-shock proteins in stromal joint tissues: innocent bystanders or disease-initiating proteins? // *Rheumatology (Oxford).* 2014. Vol. 53. № 2. P. 223–232. doi: 10.1093/rheumatology/ket277.
17. Lee W.Y., Wang C.J., Lin T.Y. et al. CXCL17, an orphan chemokine, acts as a novel angiogenic and anti-inflammatory factor // *Amer. J. Physiol. Endocr. Metab.* 2013. Vol. 304. № 1. P. 32–40. doi: 10.1152/ajpendo.00083.2012.
18. Luttrell L.M., Gesty-Palmer D. Beyond desensitization: physiological relevance of arrestin-dependent signaling // *Pharmacol. Rev.* 2010. Vol. 62. P. 305–330. doi:10.1124/pr.109.002436.
19. Njemini R., Bautmans I., Onyema O.O. et al. Circulating heat shock protein 70 in health, aging and disease // *BMC Immunol.* 2011. № 28. P. 12–24.
20. Pockly A.G., Muthana M., Calderwood S.K. The dual immunoregulatory roles of stress proteins // *Trends Biochem. Sci.* 2008. № 33. P. 71–79.
21. Rea I.M., McNerlan S., Pockley A.G. Serum heat shock protein and anti-heat shock protein antibody levels in aging // *Exp. Geront.* 2001. Vol. 36. № 2. P. 341–352.
22. Schett G., Redlich K., Xu Q. et al. Enhanced expression of heat shock protein 70 (hsp70) and heat shock factor 1 (HSF1) activation in rheumatoid arthritis synovial tissue. Differential regulation of hsp70 expression and HSF1 activation in synovial fibroblasts by proinflammatory cytokines, shear stress, and antiinflammatory drugs // *J. clin. Invest.* 1998. Vol. 102. P. 302–311.
23. Shields A.M., Panayi G.S., Corrigall V.M. A new-age for biologic therapies: long-term drug-free therapy with BiP? // *Front. Immunol.* 2012. № 3. P. 17. doi: 10.3389/fimmu.2012.00017.
24. Yang R.C., Chang C.C., Sheen J.M. et al. Davallia bilabiata inhibits TNF- α -induced adhesion molecules and chemokines by suppressing IKK/NF-kappa B pathway in vascular endothelial cells // *Amer. J. chin. Med.* 2014. Vol. 42. № 6. P. 1411–1429. doi: 10.1142/S0192415X1450089X.
25. Yoda M., Sakai T., Mitsuyama H. et al. Geranylgeranylacetone suppresses hydrogen peroxide-induced apoptosis of osteoarthritic chondrocytes // *J. Orthop. Sci.* 2011. Vol. 16. № 6. P. 791–798. doi: 10.1007/s00776-011-0138-z.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 332–346

М. А. Кабалык

AGE-RELATED ASPECTS OF THE INVOLVEMENT OF HEAT SHOCK PROTEINS IN THE PATHOGENESIS OF OSTEOARTHRITIS

Pacific State Medical University, 2, Ostryakova av., Vladivostok, 690002, e-mail: maxi_maxim@mail.ru

The purpose of research — to establish features of heat shock proteins (*HSPs*) levels change, chemokines and collagen degradation marker in the blood of patients with osteoarthritis in the age aspect. The results of the study shown, *HSPs* participate in the pathogenesis of osteoarthritis is complex and multi-layered process. *HSP70* acts as an immunologic adjuvant reactions involving chemokine *CXCL17*, under the influence of external risk factors. Low levels of *HSPs* not allow them to act as autoimmune factor interaction with Toll-like receptors of immune cells, but obviously it contributes for *CXCL17*-dependent activation of dendritic cells and macrophages, which initiate local inflammation involving key cytokines, including *TNF- α* . Chondrocytes and osteoblasts, subjected cytokine attack, are not able to reply fully enhanced expression of *HSP70* and *HSP27* for whatever reason. With aging, the pathophysiology of osteoarthritis enters the phase of the local tissue reaction, where significant role have processes hypertrophic differentiation of chondrocytes and osteo-like cells of subchondral bone.

Key words: osteoarthritis, aging, chemokine *CXCL17*, tumor necrosis factor, heat shock protein, cartilage associated protein, pathogenesis

П. М. Маслюков¹, А. Ф. Будник², А. Д. Ноздрачев³**НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УЗЛОВ
МЕТАСИМПАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ОНТОГЕНЕЗЕ***

¹ Ярославский государственный медицинский университет, 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5; e-mail: mpm@yuma.ac.ru; ² Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова, 360004, Нальчик, ул. Чернышевского, 173; ³ Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

Нейрохимический состав метасимпатической нервной системы отличается значительной вариацией. Основная часть ганглионарных нейронов метасимпатической системы является холинергической. Наряду с холинергическими нейронами, в интрамуральных ганглиях выявлены нейроны, содержащие серотонин, гистамин, ГАМК, а также обнаружен целый ряд пептидов — холецистокинин, динорфин, энкефалины, галанин, гастрин-рилизинг пептид (бомбезин млекопитающих), нейропептид Y, нейротензин, соматостатин, тахикинины, нейрокинин A, вазоактивный интестинальный полипептид и пептид, родственные генту кальцитонина. В качестве нейротрансмиттеров выступают и молекулы газов, такие как NO, CO, H₂S. Отдельные группы нейронов отличаются по содержанию нейрональных кальций-связывающих белков, таких как кальбиндин, кальретинин и парвальбумин, а также нейрофиламентов — низкомолекулярных, со средней молекулярной массой и высокомолекулярных. Наиболее разнообразными по нейрохимическому составу являются нейроны узлов ЖКТ. Имеется видовая специфичность, в узлах крупных животных и человека встречается больше комбинаций химических посредников. Синтез основных нейротрансмиттеров происходит еще в эмбриональном периоде, и к моменту рождения большинство нейронов содержит ацетилхолин. В постнатальном онтогенезе в интрамуральных узлах ЖКТ и сердца происходит уменьшение доли нейронов, экспрессирующих NO-синтазу. Функциональное значение таких изменений остается неясным.

Ключевые слова: метасимпатическая нервная система, интрамуральные узлы, нейротрансмиттеры, нейропептиды, онтогенез

Подавляющее большинство нейронов метасимпатической нервной системы содержит медиатор ацетилхолин. Эти нейроны содержат холин-ацетилтрансферазу (ХАТ) и ацетилхолинэстеразу. Последние исследования свидетельствуют, что многие нейроны содержат одновременно несколько нейротрансмиттеров [4, 6–9, 12, 44, 45,

67, 94]. Наряду с холинергическими нейронами, в интрамуральных ганглиях выявлены нейроны, содержащие серотонин, гистамин, ГАМК. В нейронах метасимпатической нервной системы обнаружен и целый ряд пептидов — холецистокинин, динорфин, энкефалины, галанин, гастрин-рилизинг пептид (бомбезин млекопитающих), нейропептид Y (НПУ), нейротензин, соматостатин (СОМ), тахикинины, нейрокинин A, вазоактивный интестинальный полипептид (ВИП) и пептид, родственные генту кальцитонина (КГРП) [43, 44, 93]. В качестве нейротрансмиттеров выступают и молекулы газов — NO, CO, H₂S [57, 100].

Определенные группы нейронов центральной и периферической нервной системы отличаются по экспрессии определенных белков, в частности кальций-связывающих и нейрофиламентов. К наиболее распространенным и избирательно выявляющимся кальций-связывающим белкам в нервной системе относятся кальбиндин массой 28 кДа, кальретинин и парвальбумин [5, 18]. Выделяют три типа белков-нейрофиламентов — с молекулярной массой 68, 150 и 200 кДа [75].

Физиологические эффекты нейротрансмиттеров

Несмотря на обилие морфологических работ, доказывающих наличие разных типов нейротрансмиттеров и возможность одновременного выделения нескольких нейротрансмиттеров в одном нейроне, функциональная роль многих из них остается неясной. Одно и то же вещество может быть локализовано в популяциях нейронов, выполняющих диаметрально противоположные функции, но иннервирующих один и тот же орган-мишень. Например, НПУ обнаружен в симпатических нейронах, иннервирующих сердце, и метасимпатических нейронах сердечных интрамуральных узлов

* Работа поддержана РФФИ (грант 16-04-00538).

[80]. С другой стороны, две группы функционально сходных нейронов в миэнтеральном сплетении тонкой кишки морских свинок, содержащих динорфин и ВИП, аксоны которых проецируются на разные расстояния, содержат разные комбинации дополнительных пептидов [31].

Наибольшая популяция нейронов в метасимпатических узлах является холинергической. ХАТ — ключевой фермент синтеза ацетилхолина, катализирующий синтез медиатора из холина и ацетилкоэнзима А. В нейронах основное место синтеза медиатора — в нервных окончаниях. ХАТ является биомаркером холинергических нейронов, наравне с везикулярным транспортером ацетилхолина [9].

Стимуляция метасимпатической нервной системы может вызывать и ингибиторные синаптические неадрено-, нехолинергические потенциалы, которые опосредуются АТФ. В целом считается, что пуринергический компонент более выражен в дистальных отделах кишечника, преимущественно в несфинктерных участках [9, 45].

Серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ) представляет собой биогенный амин и, наряду с катехоламинами, относится к группе моноаминовых нейромедиаторов. Серотонинергические интрамуральные нейроны составляют лишь малую часть от общего числа интрамуральных нейронов пищеварительной системы, однако этот вид клеток дивергентно иннервирует другие нейроны интрамуральных сплетений. Большая их часть представлена холинергическими нейронами, которые формируют многочисленные синаптические связи далеко от тела нейрона. Влияние серотонина на гладкие мышцы дыхательных и мочевыводящих путей выражено слабо [62].

Нейропептиды образуются из крупных молекул предшественников, состоящих примерно из 300 аминокислот. В ходе созревания из одной молекулы предшественника может образовываться несколько нейропептидов [1]. Установлено, что нейропептиды в основном высвобождаются при высокой частоте стимуляции нервов (10–50 Гц). Передатчики других типов химических соединений выделяются при более низкой частоте <10 Гц [22, 55]. Доказано выделение нейропептидов при осуществлении ряда рефлексов [42, 71].

В отличие от классических нейротрансмиттеров, NO, CO и H₂S не высвобождаются путем экзоцитоза, а свободно диффундируют через мембраны клеток. Таким образом, они не связываются ни с какими рецепторами на поверхности клетки,

а взаимодействуют непосредственно с внутриклеточными белками. Благодаря своим особенностям, молекулы газов являются активными участниками несинаптических взаимодействий, опосредуя передачу сигнала на большие, по сравнению с шириной синаптической щели, расстояния, легко проникают через мембраны любых клеток. NO синтезируется NO-синтазой (NOS), которая участвует в превращении аминокислоты L-аргинина в L-цитруллин [92].

Дифференциальная экспрессия внутриклеточных нейрональных белков

Ca²⁺ является одним из универсальных регуляторов многочисленных процессов, происходящих в клетке. Существуют специальные транспортные системы, обеспечивающие поддержание низкой концентрации Ca²⁺ в цитоплазме. Выделяют свыше сотни различных кальций-связывающих белков [10, 11].

В настоящее время описаны Ca-связывающие белки, содержащие в своей структуре от двух до шести Ca-связывающих центров [2]. К наиболее распространенным в нервной системе, селективно экспрессирующимися в определенных популяциях нейронов, относятся кальбиндин массой 28 кДа (КБ), кальретинин (КР) и парвальбумин [18, 90]. Также они выявляются в нейронах автономной нервной системы [5, 12, 63–65]. Функции КБ, КР и парвальбумина в нервной системе до сих пор не выяснены, однако можно предположить, что они играют важную роль в регуляции физиологической концентрации Ca²⁺. Эти белки регулируют уровень внутриклеточного кальция и сами им регулируются. Например, они могут прямо или косвенно регулировать работу кальциевых каналов и блокировать вход Ca²⁺ в клетки как Ca-сенсорные белки. Отсутствие Ca²⁺-буферных белков приводит к заметным сбоям в функционировании клеток [11, 89].

Нейрофиламенты являются широко представленными структурными белками и экспрессируются исключительно в нейрональных клетках [74]. Белки, принимающие роль в формировании нейрофиламентов, различаются по молекулярной массе. Это низкомолекулярные белки нейрофиламентов NF-L с молекулярной массой 68–73 кДа, средние NF-M — 140–160 кДа и высокомолекулярные (NF-H) — 195–200 кДа [54, 87]. Соотношение данных белков является принципиальным условием для реализации функции нейрофиламентов. Сборка белков в общую структуру осуществляется

в перикарионе, после этого нейрофиламенты транспортируются в аксон и фосфорилируются. Уровень фосфорилирования белков нейрофиламентов отражает региональную специализацию цитоскелета в нейронах. В эмбриогенезе сначала начинают синтезироваться *NF-L* и *NF-M*, позднее возникает *NF-H* [87]. Показано, что высокомолекулярный компонент нейрофиламентов *NF-H* служит маркером нейронов, образующих миелиновые А-волокна (популяции проприоцептивных крупных и тактильных средних сенсорных спинномозговых нейронов) [14, 15]. Эта группа нейрофиламентов выявляется и в отдельных симпатических нейронах [12, 13], и в нейронах энтеральных ганглиев [37, 38].

**Кальбиндин-, кальретинин- и
NF-иммунопозитивные нейроны
в метасимпатической нервной системе ЖКТ**

У крыс и мышей КБ- и КР-содержащие нейроны представляют гетерогенную популяцию нейронов, включая клетки Догеля 1-го, 2-го типа, а также нейроны малого и среднего размера неопределенной формы [5, 76, 88]. Большинство КБ- и КР-иммунопозитивных нейронов является холинергическими [86, 98].

Нейроны 2-го типа Догеля проявляют иммунореактивность к *NF-H* в интрамуральных узлах тонкой кишки у мышей [77], морских свинок [82], овец [68], коров [19], свиней [20, 25] и человека [25]. Однако лишь часть (60%) *NF-H*-иммунопозитивных нейронов у морских свинок относится к сенсорным нейронам и обладает способностью связывать изолектин В4. Оставшаяся часть нейронов имеет короткие шиповидные дендриты. *NF-M* в нейронах 2-го типа Догеля не наблюдались.

Нейроны с короткими шиповидными дендритами и одним длинным аксоном, иммунопозитивные к *NOS*, являются также иммунопозитивными к *NF-H* и *NF-M* у морских свинок и человека в узлах межмышечного сплетения [25, 82]. Доля *NF-M*-позитивных нейронов в межмышечном сплетении морских свинок составляет 16–17%. В то же время, *NF-M*-иммунореактивные нейроны отсутствуют в подслизистом сплетении. *NF-H*-содержащие нейроны у морских свинок выявляются в подслизистом и межмышечном сплетении [82].

**Нейротрансмиссивный состав нейронов
энтеральных метасимпатических узлов**

Каждый из нейронов энтеральной части метасимпатической нервной системы может содержать

более чем один пептид. Так, в подслизистом сплетении у морских свинок большую часть нейронов составляют клетки, в которых, наряду с ХАТ, содержатся НПУ, холецистокинин и СОМ; в части клеток вместе с ХАТ обнаружена субстанция Р. В миэнтеральном сплетении сочетания нейропептидов, содержащихся в одном и том же нейроне, являются еще более разнообразными [44, 45, 94].

У млекопитающих orally проецирующиеся нейроны являются, главным образом, холинергическими, анально — *NOS*-эргическими [79, 94]. К основным возбуждающим нейротрансмиссиверам относят ацетилхолин и тахикинины, к тормозящим — АТФ, *NO*, *PASAP* (пептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза), ВИП [32, 41, 58, 69]. Есть данные об ингибиторных эффектах СО [78].

Возбуждающие моторные нейроны, иннервирующие мускулатуру, являются иммунореактивными к ХАТ и тахикининам. Некоторые из них также содержат опиоидные пептиды. Различие между мотонейронами, иннервирующими циркулярную и продольную мускулатуру, состоит в том, что последние являются иммунореактивными к КР [44, 45, 94].

Выделяют два типа ингибиторных ВИП/*NOS*-иммунореактивных мотонейронов: первые имеют короткие аксоны и также являются иммунореактивными к энкефалинам и НПУ, вторые имеют длинные волокна и содержат дополнительно гастрин-высвобождающий пептид и динорфин [44, 45, 94]. У мышей *NOS* выявляли в 29% энтеральных нейронов, большинство из которых принадлежало к 1-му типу Догеля. *NOS*-позитивные нейроны являются КР-негативными [77].

В отличие от грызунов, у крупных животных и человека СОМ-позитивные нейроны находятся не только в подслизистом сплетении, а равномерно распределены в подслизистом и межмышечном. У человека часть СОМ-положительных нейронов, иннервирующих слизистую оболочку, содержит вещество Р [45]. Такая комбинация не наблюдалась у свиней и морских свинок [27, 94].

В межмышечном сплетении человека КР и СОМ солокализированы в клетках Догеля 2-го типа, при этом солокализация отсутствовала в нейронах подслизистого сплетения. Во внутреннем подслизистом сплетении у человека присутствовало значительно больше СОМ-позитивных нейронов по сравнению с наружным подслизистым сплетением [60].

Еще отличия нейрохимического состава нейронов энтеральной части метасимпатической системы

у грызунов и крупных животных касаются собственных чувствительных нейронов. В отличие от морских свинок, у свиней и человека большинство нейронов этого типа расположено во внутреннем подслизистом сплетении. Собственные сенсорные нейроны подслизистого и межмышечного сплетений морских свинок являются ХАТ-, вещество *P*- и КБ-иммунореактивными [44, 45, 94]. У мышей, крупных животных и человека собственные афферентные нейроны являются КГРП-иммунореактивными, тогда как у морских свинок КГРП наблюдается только в секретомоторных нейронах, но отсутствует в сенсорных. Афферентные метасимпатические нейроны тонкой кишки морских свинок проявляют иммунореактивность к КБ, однако у свиней последний в тонкой кишке обнаруживают лишь в интернейронах и висцерофугальных нейронах [27].

Иммуногистохимическая характеристика нейронов сердечных узлов

У всех млекопитающих большая часть нейронов интрамуральных сердечных узлов — холинергические, они содержат фермент синтеза ацетилхолина — ХАТ. У мышей ХАТ содержит 83 % нейронов [85], у крыс она определяется в 100 % нейронов [80]. Часть (14 %) ХАТ-иммунореактивных нейронов мышцы содержит и фермент катехоламин-тирозингидроксилазу (ТГ) [85]. У крысы и морской свинки, в отличие от мыши, катехоламинергические нейроны в интрамуральных узлах сердца не обнаружены [93].

Все ХАТ-иммунопозитивные нейроны у крыс также являются НПУ-иммунопозитивными. СОМ в нейронах интрамуральных узлов у крыс отсутствует [81]. Однако у человека, наоборот, НПУ в нейронах интрамуральных сердечных узлов не определяется, но большое число нейронов содержит СОМ [46]. Приблизительно 20 % ХАТ-иммунопозитивных нейронов у крыс имеет большие размеры (25–50 мкм) и содержит ВИП [55]. Однако по другим данным, ВИП, *PASAP* не обнаружены в нейронах интрамуральных узлов у крыс [80].

КГРП отсутствовал в нейронах узлов сердца у мышей, крыс, морских свинок [60, 78, 91]. Вещество *P* не выявляли в ганглиях сердца у крыс и мышей [80, 93].

Доля нейронов сердца, экспрессирующих *NOS*, значительно варьирует между видами животных. У крыс их около 4 % [80], у морских свинок — 20–30 % [59], у собак — 30–40 % [17].

У человека приблизительно половина нейронов экспрессирует *NOS* [16]. У кроликов *NOS* выявляли лишь в небольших узлах, содержащих до 20 нейронов, расположенных, главным образом, вокруг легочных вен, а также в правом предсердии в области синусного узла [23].

У морских свинок большое число нейронов ганглиев сердца (свыше 80 %) содержало СОМ. Половина из этих нейронов проявляла иммунореактивность к динорфину *B*. Нейроны, солокализирующие СОМ и динорфин *B*, также одновременно были и иммунореактивными к веществу *P*. НПУ выявляли в 12 % СОМ-иммунопозитивных нейронов, содержащих динорфин *B*. Небольшое число СОМ-позитивных нейронов были *NOS*-иммунореактивными (5 %) [93]. ВИП обнаруживали в 3 % нейронов, причем все ВИП-позитивные нейроны солокализовали *NOS*, а $2/3$ из них — НПУ [73, 93].

КБ обнаруживали в небольшой доле (7 %) нейронов внутрисердечных узлов у крыс, причем нейроны такого типа не содержали *NOS*. КР в нейронах интрамуральных сердечных узлов у крыс не выявлен [80].

Иммуногистохимическая характеристика нейронов ганглиев трахеи

В трахеальных узлах млекопитающих подавляющее большинство нейронов является холинергическими. У морских свинок ХАТ содержит 100 % нейронов, ВИП и *nNOS* отсутствуют. У других млекопитающих, в том числе у человека, основная доля клеток является ХАТ-иммунореактивной, однако часть нейронов содержит ВИП и *nNOS*. У человека ВИП и *NOS* выявляют в малой части ХАТ-содержащих нейронов, а также в небольшой доле нейронов узлов трахеи, где ХАТ отсутствует [43].

В ганглиях перитрахеального и перибронхиального сплетения у хорьков основная масса нейронов является холинергическими (65 %), однако в межмышечном сплетении трахеи ХАТ выявляют лишь в 15 %. В отличие от ХАТ, ВИП обнаруживали в 75 % нейронов межмышечного сплетения трахеи и лишь в 10 % нейронов перитрахеального и перибронхиального сплетений у хорьков. Из нейронов межмышечного сплетения 11 % были иммунореактивны только к *NOS*, 20 % — только к ВИП, 5 % — только к веществу *P*, в 67 % отмечали солокализацию *NOS* и ВИП, в 40 % — ВИП и вещества *P* [35, 36].

В узлах трахеи у кошек, наряду с ХАТ, ВИП и веществом *P*, выявляли галанин, который в большом количестве нейронов солокализовался с ВИП [33, 34]. КБ отсутствовал в узлах трахеи у морских свинок [72].

Возрастные изменения нейрохимического состава нейронов интрамуральных энтеральных узлов

В эмбриональном периоде у мышей и крыс все нейроны, производные нервного гребня и колонизирующие переднюю кишку, транзиторно экспрессируют ТГ на стадиях E9,5–E12,5, однако впоследствии эти ТГ-позитивные нейроны не выявляются у взрослых животных [30, 102]. Пик появления ТГ-иммунореактивных нейронов в кишке отмечают у мышей на стадии E14,5 [21, 29].

При помощи радиоиммунных методов ацетилхолин в энтеральных нейронах у мышей выявляют на стадиях E10–E12, ХАТ-иммунореактивные нейроны определяют уже на стадии E10,5 [40, 83]. При этом на стадии E12,5 в тонкой кишке большинство ХАТ-позитивных нейронов проецируется в анальном направлении, тогда как у взрослых холинергические нейроны кишки проецируются орально [49]. Доля холинергических нейронов кишки достигает взрослого уровня на стадии E13,5 [40]. У крыс ХАТ-иммунореактивные нейроны в межмышечном сплетении кишки обнаружены на стадии E18, однако более ранние возрастные группы не исследовали [96].

Серотонинергические клетки в кишке у мышей выявляют уже на стадиях E10,5–E12,5. ВИП и НПУ в энтеральных нейронах у мышей выявляют на стадиях E13–E13,5 [24], вещество *P* — на стадиях E14–E14,5 [84]. В кишке у новорожденных уровень серотонина ниже по сравнению со взрослыми [103]. Первые КГРП-иммунореактивные энтеральные нейроны в кишке впервые выявляют у мышей на стадиях E11,5–E15,5, а максимальное число вновь образованных КГРП-позитивных нейронов отмечают на стадиях E12,5–E13,4. Пик появления *NF-M*-иммунореактивных нейронов приходится на стадии E12,5–E13,5, при этом первые *NF-M*-позитивные клетки отмечены у мышей на стадии E10,5 [21].

NOS-иммунореактивные нейроны у мышей появляются на стадии E11,5 [47, 49, 50]. Лишь 1% нейронов подслизистого сплетения взрослой мыши содержит *NOS*, однако в позднем эмбриональном и раннем постнатальном периодах 50% нейронов в подслизистом сплетении содержит *NOS* [69, 70, 101]. Таким образом, часть ней-

ронов межмышечного и подслизистого сплетений у мышей экспрессирует *NOS* транзиторно [21]. На стадии E12,5 у мыши 10% холинергических нейронов солокализируют *NOS*. В ходе возрастного развития эта доля снижается до 2–3% у взрослых [49]. В постнатальном онтогенезе у морских свинок число *NOS*-позитивных нейронов не изменяется. Однако в межмышечном сплетении у новорожденных отмечена большая доля *NOS*-ергических нейронов по сравнению с взрослыми. Также в онтогенезе уменьшалось соотношение между *NOS* и КБ [74].

У плода человека 21–26 нед *NOS*-содержащие нейроны располагались в виде небольших кластеров, преимущественно в межмышечном сплетении. *NOS*-иммунореактивные нейроны имеют округлое или овальное ядро, небольшой слой цитоплазмы и тонкие короткие отростки. В этом возрасте еще отсутствует обильная межганглионарная сеть *NOS*-позитивных волокон, которую выявляют у плода 32 нед жизни. У *NOS*-содержащих нейронов плода 32 нед появляются выраженные многочисленные дендриты. В этом возрасте наблюдают значительно больше *NOS*-позитивных нейронов в интрамуральных ганглиях по сравнению с показателями у двухмесячных детей. Отсутствует солокализация *NOS* и ВИП [95].

Плотность нейроцитов с НАДФН-диафороза-позитивностью в ободочной кишке значительно снижается до 5–6 лет жизни человека. Большинство ганглиев содержит 3–64 клетки. Плотность НАДФН-диафороза-позитивных клеток в подслизистом сплетении дистального отдела ободочной кишки с возрастом снижается, но общее число нейроцитов остается без изменений [97].

У старых крыс количество энтеральных нейронов метасимпатической системы снижается по сравнению с молодыми на 29%. В то же время, число *NO*-позитивных нейронов снижается в меньшей степени (на 14%) [99]. У старых крыс в межмышечном сплетении тонкой и толстой кишки отмечено снижение холинергических нейронов, а количество НАДФН-диафороза-позитивных нейронов не изменялось [76].

В постнатальном онтогенезе КБ и КР-иммунореактивные нейроны выявляют в межмышечном сплетении двенадцатиперстной кишки у крыс от новорожденных до старых. У новорожденных крысят в межмышечном сплетении доля КБ- и КР-позитивных нейронов была небольшой и не превышала 20–25%. Доля КР-иммунореактивных нейронов заметно увеличивалась в первые 10 сут жизни до 70%, снижалась до 50% у 20-суточных и далее

достоверно не изменялась, в том числе и у старых животных. Доля КБ-содержащих нейронов возрастала в первые 20 сут жизни до 50 % и далее незначительно снижалась до 45 % у 1–2-летних животных. В подслизистом сплетении у крыс КБ и КР-иммунореактивные нейроны обнаруживаются с 10-х суток. Их доля увеличивается в течение первых 2 мес и 20 сут, соответственно. Возрастной инволюции КБ- и КР-иммунопозитивных нейронов межмышечного сплетения двенадцатиперстной кишки у старых крыс не отмечают. На протяжении всей жизни у большинства нейронов, содержащих кальций-связывающие белки, наблюдают соломатизацию КБ и КР [3, 65].

Возрастные особенности нейрохимического состава сердечных ганглиев

Электрическая стимуляция сердца вызывала выделение ацетилхолина у куриных эмбрионов на стадии E12, однако спонтанное выделение ацетилхолина не отмечено на протяжении всего эмбрионального периода [33]. У мышей ХАТ-иммунопозитивные нейроны выявляют на стадии E12,5 и наблюдают на протяжении всех возрастных периодов, включая и постнатальный [52, 53].

В первые 10 дней жизни у крыс большинство нейронов сердечных узлов является ТГ-иммунопозитивными. ХАТ выявляют в меньшем количестве клеток (60–70 % от ТГ-позитивных). К 21-му дню жизни доля ХАТ нейронов значительно возрастает, достигая 90 % от всех нейронов узла [56].

НПУ-иммунопозитивные нейроны выявляют в сердечных интрамуральных узлах крыс уже на стадии E16. Количество НПУ-иммунореактивных нейронов возрастает в пренатальном периоде и после рождения в первые 3 нед жизни [56, 66]. Вначале НПУ-иммунопозитивные волокна появляются в области межпредсердной перегородки. В первые дни после рождения число и плотность нервных НПУ-иммунореактивных волокон в предсердиях возрастает, особенно в области узлов проводящей системы сердца. НПУ-иммунопозитивные волокна в желудочках появляются после 1-й недели жизни [91].

NOS-иммунореактивные нейроны в сердце у крыс выявляют на 3 дня позднее НПУ-иммунопозитивных, на 19-е сутки пренатального развития. Однако в онтогенезе число NOS-содержащих нейронов резко снижается с момента рождения, и у 7-дневных крысят определяют лишь одиночные NOS-иммунопозитивные нейроны. Такое распре-

деление NOS-содержащих нейронов сохраняется и у более взрослых крыс [91].

У человека ТГ-иммунопозитивные нейроны определяют уже на 7–10-й неделе, однако эта экспрессия носит транзиторный характер. СОМ в метасимпатических узлах сердца выявляют в пренатальном онтогенезе, на 10-й неделе гестации [46].

Возрастные особенности нейрохимического состава узлов трахеи

Нейроны, дающие положительную реакцию на ацетилхолинэстеразу, появляются в ганглиях трахеи лишь после рождения [39]. Однако нейроны, содержащие NO-синтазу, обнаруживают в ганглиях трахеи уже с 13–15-го дня внутриутробного развития, причем число нейронов и их локализация достоверно не отличаются от этих показателей у взрослых животных [47].

Функциональное значение возрастных изменений нейрохимического состава узлов метасимпатической нервной системы

Ингибиторная нейротрансмиссия к продольной мускулатуре кишки более выражена у новорожденных по сравнению с взрослыми морскими свинками. Задержка возбуждающей нейромышечной иннервации отмечена у крыс и мышей. Клинические данные свидетельствуют о том, что запоры более преобладают у новорожденных, а также что моторика кишечника менее выражена у недоношенных по сравнению с новорожденными. Это связано с усиленной выработкой NO в NO-ергических нейронах и нейромышечных синапсах у новорожденных по сравнению с взрослыми. У новорожденных отмечали больший уровень экспрессии NOS в синапсах к продольной мышце, а также большую долю NOS-ергических нейронов в межмышечном сплетении [44, 45, 48].

Литературные данные свидетельствуют о трофической роли НПУ в нервной и сердечно-сосудистой системах. НПУ стимулирует активацию, миграцию, пролиферацию эндотелиальных клеток. НПУ вызывает гипертрофию миокарда и обладает ангиогенным свойством. Есть данные об увеличении под влиянием НПУ плотности α - и β -адренорецепторов в сердечной мышце, что важно для становления симпатической иннервации сердца. Главным образом стимулирующее влияние на васкуляризацию осуществляется за счет Y_1 , Y_2 и Y_5 рецепторов [66]. Установлено, что НПУ требуется и для возрастного развития кальциевых каналов L-типа в миокарде [7, 8].

Литература

1. Ашмарин И.П., Стукалов П.В. Нейрохимия. М.: Ин-т биомед. химии РАН, 1996.
2. Гусев Н.Б. Внутриклеточные Ca-связывающие белки. Ч. 1. Классификация и структура // Сорос. образов. журн. 1998. № 5. С. 2–9.
3. Емануйлов А.И., Моисеев К.Ю., Филиппов И.В. и др. Возрастные особенности нейронов интрамуральных узлов тонкой кишки, содержащих различные типы кальций-связывающих белков // Морфология. 2014. Т. 146. № 6. С. 33–37.
4. Маслюков П.М., Емануйлов А.И., Ноздрачев А.Д. Возрастные изменения нейротрансмиттерного состава нейронов симпатических узлов // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 3. С. 442–453.
5. Маслюков П.М., Ноздрачев А.Д., Емануйлов А.И. Возрастные особенности экспрессии кальций-связывающих белков в нейронах ганглиев автономной нервной системы // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 2. С. 247–253.
6. Маслюков П.М., Корзина М.Б., Емануйлов А.И. и др. Нейромедиаторный состав нейронов краниального шейного и чревного симпатических узлов в постнатальном онтогенезе // Морфология. 2009. Т. 135. № 1. С. 30–34.
7. Ноздрачев А.Д., Маслюков П.М. Нейропептид Y и автономная нервная система // Журн. эволюц. биохим. 2011. Т. 47. № 2. С. 105–112.
8. Ноздрачев А.Д., Маслюков П.М. Возрастное развитие нейронов автономных ганглиев. СПб.: Информ-Навигатор, 2014.
9. Ноздрачев А.Д., Янцев А.В. Автономная передача. СПб.: Изд-во СПбГУ, 1995.
10. Пермьяков Е.А. Кальций-связывающие белки. М.: Наука, 1993.
11. Пермьяков Е.А. Металлсвязывающие белки: структура, свойства, функции. М.: Науч. мир, 2012.
12. Порсева В.В., Смирнова В.П., Корзина М.Б. и др. Возрастные изменения симпатических нейронов, содержащих нейрофиламент-200 КД, при химической деафферентации // Бюл. exper. биол. 2013. Т. 155. № 2. С. 237–240.
13. Порсева В.В., Шилкин В.В., Стрелков А.А. и др. Кальбиндин-содержащие нейроны вентрального рога серого вещества спинного мозга мышей // Морфология. 2014. Т. 146. № 4. С. 21–25.
14. Порсева В.В., Шилкин В.В., Корзина М.Б. и др. Особенности возрастных изменений НФ200+нейронов чувствительных узлов различных сегментарных уровней при химической деафферентации // Морфология. 2012. Т. 142. № 4. С. 37–42.
15. Чельшев Ю.А., Рагинов И.С., Гусева Д.С. Выживание и фенотипическая черта аксономированных нейронов спинальных ганглиев // Морфология. 2004. Т. 125. № 3. С. 45–49.
16. Шуклин А.В., Швалев В.Н. Распределение NO-синтазы во внутрисердечных нервных ганглиях человека // Кардиология. 2006. № 8. С. 26–28.
17. Armour J.A., Smith F.M., Losier A.M. et al. Modulation of intrinsic cardiac neuronal activity by nitric oxide donors induces cardiodynamic changes // Amer. J. Physiol. 1995. Vol. 268. № 2. P. R403–R413.
18. Baimbridge K.G., Celio M.R., Rogers J.H. Calcium-binding proteins in the nervous system // Trends Neurosci. 1992. Vol. 15. P. 303–308.
19. Balemba O.B., Mbassa G.K., Semuguruka W.D. et al. The topography, architecture and structure of the enteric nervous system in the jejunum and ileum of cattle // J. Anat. 1999. Vol. 195. №1. P. 1–9.
20. Barbiere M., Timmermans J.P., Adriaensen D et al. Topographical distribution and immunocytochemical features of colonic neurons that project to the cranial mesenteric ganglion in the pig // J. Auton. Nerv. Syst. 1993. Vol. 44. № 2–3. P. 119–127.
21. Bergner A.J., Stamp L.A., Gonsalvez D.G. et al. Birthdating of myenteric neuron subtypes in the small intestine of the mouse // J. comp. Neurol. Vol. 2014. Vol. 522. № 3. P. 514–527.
22. Bloom S.R., Edwards A.V. Vasoactive intestinal peptide in relation to atropine resistant vasodilatation in the submaxillary gland of the cat // J. Physiol. 1980. Vol. 300. № 1. P. 41–53.
23. Brack K.E. The heart's 'little brain' controlling cardiac function in the rabbit // Exp. Physiol. 2015. Vol. 100. № 4. P. 348–353.
24. Brancheck T.A., Gershon M.D. Time course of expression of neuropeptide Y, calcitonin gene-related peptide, and NADPH diaphorase activity in neurons of the developing murine bowel and the appearance of 5-hydroxytryptamine in mucosal enterochromaffin cells // J. comp. Neurol. 1989. Vol. 285. № 2. P. 262–273.
25. Brehmer A. The value of neurofilament-immunohistochemistry for identifying enteric neuron types — special reference to intrinsic primary afferent (sensory) neurons: New research on neurofilament proteins. New York: Nova Science, 2007.
26. Brehmer A., Schrödl F., Neuhuber W. Morphological phenotyping of enteric neurons using neurofilament immunohistochemistry renders chemical phenotyping more precise in porcine ileum // Histochem. Cell Biol. 2002. Vol. 117. № 3. P. 257–263.
27. Brown D.R., Timmermans J.P. Lessons from the porcine enteric nervous system // Neurogastroenterol. Motil. 2004. Vol. 16 (Suppl. 1). P. 50–54.
28. Burnstock G. Purinergic signalling in the gut // Adv. Exp. Med. Biol. 2016. Vol. 891. P. 91–112.
29. Chalazonitis A., Pham T.D., Li Z.S. et al. Bone morphogenetic protein regulation of enteric neuronal phenotypic diversity: Relationship to timing of cell cycle exit // J. comp. Neurol. 2008. Vol. 509. № 5. P. 474–492.
30. Cochard P., Goldstein M., Black I.B. Ontogenetic appearance and disappearance of tyrosine hydroxylase and catecholamines in the rat embryo // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 1978. Vol. 75. № 6. P. 2986–2990.
31. Costa M., Furness J.B., Gibbins I.L. Chemical coding of enteric neurons // Prog. Brain Res. 1986. Vol. 68. P. 217–239.
32. Crist J.R., He X.D., Goyal R.K. Both ATP and the peptide VIP are neurotransmitters in guinea-pig ileum circular muscle // J. Physiol. 1992. Vol. 447. P. 119–131.
33. Crossley D., Altamiras J. Ontogeny of cholinergic and adrenergic cardiovascular regulation in the domestic chicken (*Gallus gallus*) // Amer. J. Physiol. 2000. Vol. 279. № 3. P. R1091–R1098.
34. Dey R.D., Zhu W. Origin of galanin in nerves of cat airways and colocalization with vasoactive intestinal peptide // Cell Tiss. Res. 1993. Vol. 273. № 1. P. 193–200.
35. Dey R.D., Mayer B., Said S.I. Colocalization of vasoactive intestinal peptide and nitric oxide synthase in neurons of the ferret trachea // Neurosci. 1993. Vol. 54. № 4. P. 839–843.
36. Dey R.D., Altemus J.B., Rodd A. et al. Neurochemical characterization of intrinsic neurons in ferret tracheal plexus // Amer. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1996. Vol. 14. № 3. P. 207–216.
37. Eaker E.Y. Neurofilament and intermediate filament immunoreactivity in human intestinal myenteric neurons // Dig. Dis. Sci. 1997. Vol. 42. № 9. P. 1926–1932.
38. Eaker E.Y., Sallustio J.E. The distribution of novel intermediate filament proteins defines subpopulations of myenteric neurons in rat intestine // Gastroenterology. 1994. Vol. 107. P. 666–674.
39. El-Bermani A.W., Bloomquist E.I. Acetylcholinesterase- and norepinephrine- containing nerves in developing rat lung // J. Embryol. exp. Morphol. 1978. Vol. 48. № 1. P. 177–183.
40. Erickson C.S., Lee S.J., Barlow-Anacker A.J. et al. Appearance of cholinergic myenteric neurons during enteric nervous system development: comparison of different ChAT fluorescent mouse reporter lines // Neurogastroenterol. Motil. 2014. Vol. 26. № 6. P. 874–884.
41. Fahrenkrug J. Vasoactive intestinal polypeptide: measurement, distribution and putative neurotransmitter function // Digestion. 1979. Vol. 19. № 3. P. 149–169.
42. Fahrenkrug J., Haglund U., Jodal M. et al. Nervous release of vasoactive intestinal polypeptide in the gastrointestinal

- tract of cats: possible physiological implications // *J. Physiol.* 1978. Vol. 284. P. 291–305.
43. Fischer A., Canning B.J., Kummer W. Correlation of vasoactive intestinal peptide and nitric oxide synthase with choline acetyltransferase in the airway innervation // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1996. Vol. 805. № 1. P. 717–722.
44. Furness J.B. Types of neurons in the enteric nervous system // *J. Auton. Nerv. Syst.* 2000. Vol. 81. № 1. P. 87–96.
45. Furness J.B. The enteric nervous system. Oxford: Blackwell Publishing, 2006.
46. Gordon L., Polak J.M., Moscoso G.J. et al. Development of the peptidergic innervation of human heart // *J. Anat.* 1993. Vol. 183. Pt. 1. P. 131–140.
47. Guembe L., Villaro A.C. Histochemical demonstration of neuronal nitric oxide synthase during development of mouse respiratory tract // *Amer. J. Respir. Cell Molec. Biol.* 1999. Vol. 20. № 2. P. 342–51.
48. Hao M.M., Young H.M. Development of enteric neuron diversity // *J. Cell Molec. Med.* 2009. Vol. 13. № 7. P. 1193–1210.
49. Hao M.M., Bornstein J.C., Young H.M. Development of myenteric cholinergic neurons in ChAT-Cre;R26R-YFP mice // *J. comp. Neurol.* 2013. Vol. 521. № 14. P. 3358–3370.
50. Hao M.M., Moore R.E., Roberts R.R. et al. The role of neural activity in the migration and differentiation of enteric neuron precursors // *Neurogastroenterol. Motil.* 2010. Vol. 22. № 5. e127–e137.
51. Heizmann C.W., Braun K. Changes in Ca(2+)-binding proteins in human neurodegenerative disorders // *Trends Neurosci.* 1992. Vol. 15. № 7. P. 259–264.
52. Hildreth V., Anderson R.H., Henderson D.J. Autonomic innervation of the developing heart: origins and function // *Clin. Anat.* 2009. Vol. 22. № 1. P. 36–46.
53. Hildreth V., Webb S., Bradshaw L., Brown N.A. et al. Cells migrating from the neural crest contribute to the innervation of the venous pole of the heart // *J. Anat.* 2008. Vol. 212. № 1. P. 1–11.
54. Hoffman P.N., Lasek R.J. The slow component of axonal transport. Identification of major structural polypeptides of the axon and their generality among mammalian neurons // *J. Cell Biol.* 1975. Vol. 66. № 2. P. 351–366.
55. Hökfelt T., Broberger C., Xu Z.Q.D. et al. Neuropeptides — an overview // *Neuropharmacology.* 2000. Vol. 39. № 8. P. 1337–1356.
56. Horackova M., Slavikova J., Byczko Z. Postnatal development of the rat intrinsic cardiac nervous system: a confocal laser scanning microscopy study in whole-mount atria // *Tiss. Cell.* 2000. Vol. 32. № 5. P. 377–388.
57. Jimenez M. Hydrogen sulfide as a signaling molecule in the enteric nervous system // *Neurogastroenterol. Motil.* 2010. Vol. 22. № 11. P. 1149–1153.
58. Jin J.G., Katsoulis S., Schmidt W.E. et al. Transmission in tenia coli mediated by distinct vasoactive intestinal peptide and apamin-sensitive pituitary adenylate cyclase activating peptide receptors // *J. Pharmacol. exp. Ther.* 1994. Vol. 270. № 2. P. 433–439.
59. Klimaschewski L., Kummer W., Mayer B. et al. Nitric oxide synthase in cardiac nerve fibers and neurons of rat and guinea pig heart // *Circ. Res.* 1992. Vol. 71. № 6. P. 1533–1537.
60. Kustermann A., Neuhuber W., Brehmer A. Calretinin and somatostatin immunoreactivities label different human submucosal neuron populations // *Anat. Rec. (Hoboken).* 2011. Vol. 294. № 5. P. 858–869.
61. Li L., Hatcher J.T., Hoover D.B. et al. Distribution and morphology of calcitonin gene-related peptide and substance P immunoreactive axons in the whole-mount atria of mice // *Auton. Neurosci.* 2014. Vol. 181. P. 37–48.
62. Maeda T., Fujimiya M., Kitahama K. et al. Serotonin neurons and their physiological roles // *Arch. Histol. Cytol.* 1989. Vol. 52. (Suppl.). P. 113–120.
63. Masliukov P.M., Korobkin A.A., Nozdrachev A.D. et al. Calbindin-D28k immunoreactivity in sympathetic ganglionic neurons during development // *Auton. Neurosci.* 2012. Vol. 167. № 1–2. P. 27–33.
64. Masliukov P.M., Emanuilov A.I., Moiseev K. et al. Development of non-catecholaminergic sympathetic neurons in para- and prevertebral ganglia of cats // *Int. J. Dev. Neurosci.* 2015. Vol. 40. P. 76–84.
65. Masliukov P.M., Moiseev K., Budnik A.F. et al. Development of calbindin- and calretinin-immunopositive neurons in the enteric ganglia of rats // *Cell Molec. Neurobiol.* 2016. doi: 10.1007/s10571-016-0457-x.
66. Masliukov P.M., Moiseev K., Emanuilov A.I. et al. Development of neuropeptide Y-mediated heart innervation in rats // *Neuropeptides.* 2016. Vol. 55. P. 47–54.
67. Maslyukov P.M., Nozdrachev A.D., Timmermans J.P. Age-related characteristics of the neurotransmitter composition of neurons in the stellate ganglion // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2007. Vol. 37. № 4. P. 349–353.
68. Mazzuoli G., Mazzoni M., Albanese V. et al. Morphology and neurochemistry of descending and ascending myenteric plexus neurons of sheep ileum // *Anat. Rec.* 2007. Vol. 290. № 12. P. 1480–1491.
69. McConalogue K., Lyster D.J.K., Furness J.B. Electrophysiological analysis of the actions of pituitary adenylate cyclase activating peptide in the taenia of the guinea-pig caecum // *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1995. Vol. 352. № 5. P. 538–544.
70. Mongardi Fantaguzzi C., Thacker M., Chiocchetti R. et al. Identification of neuron types in the submucosal ganglia of the mouse ileum // *Cell Tiss. Res.* 2009. Vol. 336. № 2. P. 179–189.
71. Morris J.L., Gibbins I.L., Kadowitz P.J. et al. Roles of peptides and other substances in cotransmission from vascular autonomic and sensory neurons // *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* 1995. Vol. 73. № 5. P. 521–532.
72. Myers A.C. Anatomical characteristics of tonic and phasic postganglionic neurons in guinea pig bronchial parasympathetic ganglia // *J. comp. Neurol.* 2000. Vol. 419. № 4. P. 439–450.
73. Parsons R.L., Locknar S.A., Young B.A. et al. Presence and co-localization of vasoactive intestinal polypeptide with neuronal nitric oxide synthase in cells and nerve fibers within guinea pig intrinsic cardiac ganglia and cardiac tissue // *Cell Tiss. Res.* 2006. Vol. 323. № 2. P. 197–209.
74. Patel B.A., Dai X., Burda J.E. et al. Inhibitory neuromuscular transmission to ileal longitudinal muscle predominates in neonatal guinea pigs // *Neurogastroenterol. Motil.* 2010. Vol. 22. № 8. P. e909–e918.
75. Perrone Capano C., Pernas-Alonso R., di Porzio U. Neurofilament homeostasis and motoneurone degeneration // *BioEssays.* 2001. Vol. 23. № 1. P. 24–33.
76. Phillips R.J., Kieffer E.J., Powley T.L. Aging of the myenteric plexus: neuronal loss is specific to cholinergic neurons // *Auton. Neurosci.* 2003. Vol. 106. № 2. P. 69–83.
77. Qu Z.D., Thacker M., Castelucci P. et al. Immunohistochemical analysis of neuron types in the mouse small intestine // *Cell Tiss. Res.* 2008. Vol. 334. № 2. P. 147–161.
78. Rattan S., Chakder S. Effect of CO on internal anal sphincter heme oxygenase inhibitor inhibits NANC relaxation // *Amer. J. Physiol.* 1993. Vol. 265. № 4. P. G799–G804.
79. Reiche D., Schemann M. Ascending choline acetyltransferase and descending nitric oxide synthase immunoreactive neurons of the myenteric plexus project to the mucosa of the guinea pig gastric corpus // *Neurosci. Lett.* 1998. Vol. 241. № 1. P. 61–64.
80. Richardson R.J., Grkovic I., Anderson C.R. Immunohistochemical analysis of intracardiac ganglia of the rat heart // *Cell Tiss. Res.* 2003. Vol. 314. № 3. P. 337–350.
81. Richardson R.J., Grkovic I., Allen A.M. et al. Separate neurochemical classes of sympathetic postganglionic neurons project to the left ventricle of the rat heart // *Cell Tiss. Res.* 2006. Vol. 324. № 1. P. 9–16.
82. Rivera L.R., Thacker M., Furness J.B. High- and medium-molecular-weight neurofilament proteins define specific neuron types in the guinea-pig enteric nervous system // *Cell Tiss. Res.* 2009. Vol. 335. № 3. P. 529–538.

83. Rothman T.P., Gershon M.D. Phenotypic expression in the developing murine enteric nervous system // *J. Neurosci.* 1982. Vol. 2. № 3. P. 381–393.
84. Rothman T.P., Nilaver G., Gershon M.D. Colonization of the developing murine enteric nervous system and subsequent phenotypic expression by the precursors of peptidergic neurons // *J. comp. Neurol.* 1984. Vol. 225. № 1. P. 13–23.
85. Rysevaite K., Saburkina I., Pauziene N. et al. Immunohistochemical characterization of the intrinsic cardiac neural plexus in whole-mount mouse heart preparations // *Heart Rhythm.* 2011. Vol. 8. № 5. P. 731–738.
86. Sang Q., Young H.M. Chemical coding of neurons in the myenteric plexus and external muscle of the small and large intestine of the mouse // *Cell Tiss. Res.* 1996. Vol. 284. № 1. P. 39–53.
87. Sawant L.A., Hasgekar N.N., Vyasarayani L.S. Developmental expression of neurofilament and glial filament proteins in rat cerebellum // *Int. J. Dev. Biol.* 1994. Vol. 38. № 3. P. 429–437.
88. Sayegh A.I., Ritter R.C. Morphology and distribution of nitric oxide synthase-, neurokinin-1 receptor-, calretinin-, calbindin-, and neurofilament-M-immunoreactive neurons in the myenteric and submucosal plexuses of the rat small intestine // *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell Evol. Biol.* 2003. Vol. 271. № 1. P. 209–216.
89. Schwaller B. The continuing disappearance of «pure» Ca^{2+} buffers // *Cell. Molec. Life Sci.* 2009. Vol. 66. P. 275–300.
90. Schwaller B., Meyer M., Schiffmann S. «New» functions for «old» proteins: the role of the calcium-binding proteins calbindin D-28k, calretinin and parvalbumin, in cerebellar physiology. Studies with knockout mice // *Cerebellum.* 2002. Vol. 1. № 4. P. 241–258.
91. Shoba T., Tay S.S. Nitroergic and peptidergic innervation in the developing rat heart // *Anat. Embryol. (Berl).* 2000. Vol. 201. № 6. P. 491–500.
92. Schuman E.M., Madison D.V. Nitric oxide and synaptic function // *Ann. Rev. Neurosci.* 1994. Vol. 17. № 1. P. 153–183.
93. Steele P.A., Gibbins I.L., Morris J.L. et al. Multiple populations of neuropeptide-containing intrinsic neurons in the guinea-pig heart // *Neurosci.* 1994. Vol. 62. № 1. P. 241–250.
94. Timmermans J.-P., Adriaensen D., Cornelissen W. et al. Structural organization and neuropeptide distribution in the mammalian enteric nervous system, with special attention to those components involved in mucosal reflexes // *Comp. Biochem. Physiol.* 1997. Vol. 118. № 2. P. 331–340.
95. Timmermans J.P., Barbiere M., Scheuermann D.W. et al. Distribution pattern, neurochemical features and projections of nitroergic neurons in the pig small intestine // *Ann. Anat.* 1994. Vol. 176. № 6. P. 515–525.
96. Vannucchi M.G., Faussone-Pellegrini M.S. Differentiation of cholinergic cells in the rat gut during pre- and postnatal life // *Neurosci. Lett.* 1996. Vol. 206. № 2. P. 105–108.
97. Wester T., O'Brian S., Puri P. Morphometric aspects of the submucous plexus in whole-mount preparations of normal human distal colon // *J. Pediatr. Surg.* 1998. Vol. 33. № 4. P. 619–622.
98. Wilhelm M., Lawrence J.J., Gabriel R. Enteric plexuses of two choline-acetyltransferase transgenic mouse lines: Chemical neuroanatomy of the fluorescent protein-expressing nerve cells // *Brain Res. Bull.* 2015. Vol. 111. P. 76–83.
99. Wu M., Nassauw L.V., Kroese A.B.A. et al. Myenteric nitroergic neurons along the rat esophagus: evidence for regional and strain differences in age-related changes // *Histochem. Cell Biol.* 2003. Vol. 119. № 5. P. 395–403.
100. Xue L., Farrugia G., Miller S.M. et al. Carbon monoxide and nitric oxide as coneurotransmitters in the enteric nervous system: evidence from genomic deletion of biosynthetic enzymes // *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97. № 4. P. 1851–1855.
101. Young H.M., Ciampoli D. Transient expression of neuronal nitric oxide synthase by neurons of the submucous plexus of the mouse small intestine // *Cell Tiss. Res.* 1998. Vol. 291. № 3. P. 395–401.
102. Young H.M., Jones B.R., McKeown S.J. The projections of early enteric neurons are influenced by the direction of neural crest cell migration // *J. Neurosci.* 2002. Vol. 22. № 14. P. 6005–6018.
103. Zhao H., Sovadinova I., Swope V.M. et al. Postnatal development of the serotonin signaling system in the mucosa of the guinea pig ileum // *Neurogastroenterol. Motil.* 2011. Vol. 23. P. 161–168.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 347–355

P.M. Masliukov¹, A.F. Budnik², A.D. Nozdrachev³

DEVELOPMENTAL CHANGES OF NEUROTRANSMITTER PROPERTIES IN SYMPATHETIC NEURONS

¹ Yaroslavl State Medical Academy, 5, Revolucionnaya str., Yaroslavl, 150000; e-mail: mpm@yma.ac.ru;

² H.M. Berbekov Kabardino-Balkarian State University, 173, Chernyshevskogo str., Nalchik, 360004;

³ Saint-Petersburg State University, 7–9, Universitetskaya emb., St. Petersburg, 199034

Neurochemical composition of metasympathetic nervous system is characterized by a large variation. The main part of the intramural ganglionic neurons is cholinergic. Along with cholinergic neurons, there are ganglionic neurons containing serotonin, histamine, GABA, and several peptides: cholecystokinin, dynorphin, enkephalin, galanin, gastrin-releasing peptide (bombesin in mammals), neuropeptide Y, neurotensin, somatostatin, tachykinins, neurokinin A, vasoactive intestinal polypeptide and calcitonin gene related peptide. Gases as NO, CO, H₂S, also act as neurotransmitters. Separate groups of neurons differ in the content of neuronal calcium-binding proteins, such as calbindin, calretinin and parvalbumin and neurofilaments: low molecular weight, a medium molecular weight and high molecular weight. Neurons of the enteric ganglia are the most different by their neurochemistry. There is a species difference in the ganglia of large animals and humans there are more combinations of chemical transmitters. Synthesis of neurotransmitters takes place even in the embryonic period and by the time of birth the most of neurons contain acetylcholine. In postnatal ontogenesis, the proportion of neurons expressing the NO-synthase decreases in the enteric and cardiac intramural ganglionic neurons. The functional significance of these changes is unclear.

Key words: metasympathetic neurons, intramural ganglia, neurotransmitters, neuropeptides, ontogenesis

А. А. Викторов¹, Г. М. Жаринов², Н. Ю. Некласова², Е. Е. Морозова³

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ОСНОВЕ КИНЕТИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ

¹ Государственный научный центр Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна ФМБА России, 123182, Москва, ул. Живописная, 46; e-mail: a-victorov@mail.ru; ² Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 70; e-mail: asatur15@mail.ru; ³ Центральная детская клиническая больница ФМБА России, 115309, Москва, ул. Москворечье, 20; e-mail: ev.e.morozova@mail.ru

На основе кинетической теории старения биологических систем разработана методика прогнозирования продолжительности жизни (ПЖ) у пациентов после комбинированного лечения рака предстательной железы. ПЖ (время дожития) рассчитывается как решение дифференциального уравнения скорости старения пациента, учитывающего основные этапы жизни, начиная с рождения, — «нормальную» жизнь и жизнь с установленным диагнозом рака предстательной железы (в процессе лечения и после его завершения). В основе идеологии обсуждаемой методики — установленная статистическая корреляция между скоростью увеличения уровня простатического специфического антигена (время его удвоения — ВУПСА) до терапии и временем дожития: чем выше ВУПСА, тем больше ПЖ. Адекватность прогноза продемонстрирована удовлетворительным согласием расчетов с экспериментальными данными работы по выживаемости когорт пациентов, сгруппированных с учетом «быстрых» и «медленных» значений ВУПСА. Погрешность математического прогноза «групповой» ПЖ обусловливается полнотой и надежностью основных исходных медико-демографических данных и требует детального мониторинга основных показателей здоровья на протяжении всей жизни каждого человека в анализируемой группе. Отсутствие такой детальной информации для отдельной личности обуславливает невозможность прогноза ПЖ для конкретного физического лица.

Ключевые слова: прогноз, продолжительность жизни, рак предстательной железы, лечение, скорость процесса, кинетическая теория старения

На протяжении последних десятилетий повышение эффективности лучевой терапии онкологических больных связывали с основным принципом современной конформной лучевой терапии — введением максимально высоких доз облучения на раковое образование при условии минимального воздействия на здоровые ткани. Это обеспечивали усовершенствованием методов ви-

зуализации, внедрением новой техники облучения и компьютерных технологий. Сегодня в арсенале врача-радиолога имеются высокоточные методы клинической диагностики, компьютерная техника для планирования, ускорители с системами высокоточного наведения [1, 5].

В XXI в. стало ясно, что увеличение поглощенной дозы в опухоли уже не сопровождается улучшением показателей длительной выживаемости больных, а увеличение эффективности лечения не соответствует росту его стоимости. Назрела настоятельная необходимость смены парадигмы лечения в связи с недостаточностью используемых критериев оценки его эффективности.

Реальной целью лечения должно быть увеличение продолжительности жизни, которая является несомненным и основным критерием эффективности лечения онкологических больных. При решении вопроса о выборе метода лечения первостепенной является прогностическая оценка последующей продолжительности жизни.

В настоящее время прогнозирование исходов онкологического заболевания представляет собой самостоятельное направление научных исследований. Онколог должен оценивать вероятность излечения и рецидива, а также предполагаемую ПЖ онкологического больного. Повышение надежности прогноза и уменьшение погрешности оценки продолжительности жизни улучшает баланс между пользой и вредом комбинированной терапии онкологических образований, позволяет использовать критерий «эффективность—стоимость», выбирать альтернативные комбинации компонентов лечения [6, 7]. Методы индивидуального и группового прогноза требуют большого объема статистической информации о состоянии здоровья пациентов до и после комбинированной терапии онколо-

гических образований, медико-демографических данных о повозрастных показателях общей и причинной смертности, заболеваемости и численности населения разных регионов и областей проживания, поиска и исследования кинетики наиболее распространенных онкологических заболеваний, развития математических моделей прогноза на основе моделирования скоростей процессов, определяющих частоту и смертность от злокачественных новообразований, в условиях действия детерминированных и/или случайных факторов влияния различной природы, интенсивности и длительности, в том числе терапевтического воздействия [8–10].

Долгосрочной целью настоящей работы является разработка методики прогнозирования продолжительности жизни пациентов после комбинированной терапии злокачественных новообразований на основе выявления и определения скорости их роста до начала лечения и использования математической модели скорости старения человека [8] с учетом различных периодов его жизни. В данной работе предложен подход к прогнозу на примере пациентов, прошедших лечение в ФГБУ РНЦРХТ (Санкт-Петербург) по поводу рака предстательной железы (РПЖ).

Материалы и методы

Каждому этапу жизни соответствуют свои параметры математической модели старения, которые определяются на основании статистической обработки показателей здоровья, собранных в банке исходных данных Г. М. Жаринова [1–3] и медико-демографических данных Росстата ЦДИ РЭШ [4], при определенных допущениях. Математическая модель кинетической теории старения живых систем [8] описывает весь процесс старения от рождения до смерти при разрушающем влиянии общей напряженности биологической системы с учетом действия негативных факторов окружающей среды и адаптации биологической системы. Базовое кинетическое уравнение (КУ) старения представляет собой аналитическую функцию скорости отклика биологической системы на состояние внешней и внутренней среды. Описание скорости старения является особенностью и основным достоинством математической модели, так как скорость процесса позволяет рассчитывать любые интегральные показатели старения, учитывая, в том числе, возможные изменения факторов влияния во времени.

Базовое КУ [8] основано на двух утверждениях: любая биологическая система находится в динамическом состоянии, эквивалентном конкуренции двух противоположно направленных процессов — разрушения и восстановления структурно-функциональных связей; скорости процессов разрушения и восстановления этих связей описывают уравнения химической кинетики. В безразмерных величинах базовое КУ имеет следующий вид:

$$\frac{\partial D}{\partial \tau} = (1-D)^{m_d} \cdot \exp\left[\frac{\mu(\tau)}{1-\theta D}\right] - k \cdot D^{m_r} \cdot (1-D)^{m_{em}}, \quad (1)$$

где D — кумулятивная функция распределения смертности биологической системы ($0 \leq D \leq 1$); $\tau = C \cdot t$ — безразмерное, а t — календарное время; C — константа, имеющая размерность, обратную календарному времени; μ — безразмерный параметр, отражающий внешнее воздействие окружающей среды и внутреннее состояние системы; k — константа члена восстановления связей, учитывающего адаптацию организма; q — коэффициент, учитывающий наблюдаемое уменьшение скорости смертности с увеличением возраста; $m_{d,r} \geq 0$ — порядки степеней членов уравнений, описывающих разрушение и восстановление структурно-функциональных связей, соответственно; $m_{em} > 0$ — показатель степени члена, учитывающего истощение адаптационных резервов биологической системы с увеличением степени старения D . Таким образом, первый член уравнения описывает разрушение структурно-функциональных связей биологической системы, второй — их восстановление с учетом истощения адаптационных резервов. В соответствии с принятыми определениями [2], численные значения D определяют биологический возраст биологической системы, изменяющийся от 0 (рождение) до 1 (смерть). Календарный возраст биологической системы, соответствующий определенному значению биологического возраста D , определяется временем t , используя функциональную зависимость $D = f(t)$.

КУ (1) позволяет получить различные интегральные и дифференциальные вероятностные показатели старения:

$$D(\tau) = \int_0^{\tau} \left(\frac{\partial D}{\partial \tau}\right)_{\partial \tau} d\tau \text{ — вероятность смерти в возрасте}$$

не более τ (или кумулятивная функция распределения смертности), определяющая биологический возраст биологической системы; $S(\tau) = (1 - D(\tau))$ — вероятность прожить время τ (или кумулятивная функция дожития); $\partial D / \partial \tau$ — плотность вероят-

ности смерти; $\tau_{mb} = \int_0^1 \partial D / \left[(1-D) \exp(\mu/(1-\theta D)) - \kappa D^m (1-D)^m \right]$ — время жизни биологической системы.

В основу решения поставленной задачи прогноза положено решение базового КУ старения биологической системы (1) с начальными условиями для отдельных периодов жизни человека — «нормальной» жизни и жизни с установленным диагнозом РПЖ (в процессе и после лечения).

Физическая постановка задачи в общем виде заключается в следующем. Группы больных РПЖ из общей когорты в 636 человек (средний возраст $66,5 \pm 7,5$ года) подвергли гормональной и лучевой терапии в РНЦРХТ Минздрава РФ (Санкт-Петербург) в период 1994–2012 гг. [1]. Преимущественно все больные постоянно проживали в Ленинграде (Санкт-Петербурге) и области (численность населения в городе примерно в 3 раза больше, чем в области). Необходимо оценить кумулятивную функцию распределения смертности групп из этой когорты в зависимости от времени жизни, различающихся значениями времени удвоения уровня простатического специфического антигена, степенью распространённости РПЖ, временем начала заболевания РПЖ (то есть оценить биологический возраст D в зависимости от календарного времени t), или, другими словами, спрогнозировать изменение биологического возраста «пациента», усредненного по группе, со временем его проживания $D=f(t)$, состоящего из периода здоровой жизни, болезни и последующего дожития. На основании этой зависимости определить время жизни пациента после терапии РПЖ, выполненной в возрасте 66,5 лет.

Ввиду существующих непреодолимых неопределенностей в физической постановке задачи в математической постановке введены определенные положения и допущения. Период «нормальной», или здоровой, жизни без РПЖ будем считать от рождения до возраста t_0 , для определенности в рассматриваемом случае выбраны $t_0=46,5$ года и 56,5 года, соответствующие 20- и 10-летнему дожитию до начала лечения в возрасте 66,5 лет у больных с установленным диагнозом РПЖ. Кинетику здоровой жизни всех пациентов РНЦРХТ будем считать соответствующей средней для населения Санкт-Петербурга, которую можно отыскать обработкой медико-демографических данных ЦДИ РЭШ по коэффициентам смертности населения Санкт-Петербурга и возрастной численности населения. Период жизни после установления диагноза РПЖ будем счи-

тать от принятого начала болезни t_0 до момента начала лечения в 66,5 лет. Дополнительная кинетика старения от начала заболевания до 66,5 лет находится по кинетике смертности по причине РПЖ по аналогичным демографическим данным ЦДИ РЭШ для имеющейся статистики по РФ, которая не отличается принципиально по годам и регионам наблюдения. Эта кинетика, как общестатистическая, является усредненной для всех значений времени удвоения уровня простатического специфического антигена. Период жизни больных РПЖ, прошедших лечение, в возрасте старше 66,5 лет описывается аналитическими функциями кинетики старения, найденными математической обработкой статистических экспериментальных данных работы [1].

Общая математическая постановка задачи может быть сформулирована следующим образом. Пусть известны КУ трех стадий жизни пациента: 1) до заболевания РПЖ; 2) с момента установления диагноза РПЖ; 3) после завершения специфического лечения РПЖ:

$$\text{КУ}_1: \frac{\partial D_1}{\partial t} = C_1 \cdot (1-D_1)^2 \cdot \left[\exp\left[\frac{\mu_1}{1-\theta_1 D_1}\right] - \kappa_1 \right], t \geq 0, \quad (2)$$

$$\text{КУ}_2: \frac{\partial D_2}{\partial t} = C_2 \cdot (1-D_2)^2 \cdot \left[\exp\left[\frac{\mu_2}{1-\theta_2 D_2}\right] - \kappa_2 \right], t \geq t_0, \quad (3)$$

$$\text{КУ}_3: \frac{\partial D_3}{\partial t} = C_3 \cdot (1-D_3)^2 \cdot \left[\exp\left[\frac{\mu_3}{1-\theta_3 D_3}\right] - \kappa_3 \right], t \geq 66,5. \quad (4)$$

Здесь подразумевается, что $\partial D_i / \partial t = C_3 \cdot \partial D_i / \partial t$. Индексы у переменных 1, 2, 3 соответствуют рассматриваемым трем стадиям жизни пациента.

Примем, что t_{mb} соответствует уровню кумулятивной функции распределения смертности $D=0,97$, тогда продолжительность жизни после терапии РПЖ (или время дожития) Δt_{mb} определяется как $\Delta t_{mb} = [t_{mb}(D_3=0,97) - 66,5]$ лет. Из этого условия следует, что

$$\Delta t_{mb} = \int_x^{0,97} \partial D_3 / \left[C_3 \cdot (1-D_3)^2 \cdot \left[\exp\left[\frac{\mu_3}{1-\theta_3 D_3}\right] - \kappa_3 \right] \right], \quad (5)$$

где нижний предел интегрирования:

$$x = D_1(t_0) + D_2(66,5), \quad (6)$$

$$D_1(t_0) = \int_0^{t_0} \frac{\partial D_1}{\partial t} dt, \quad (7)$$

размерность $t = [\text{год}]$.

Результаты и обсуждение

Вид и параметры исходных КУ скорости старения для первых трех периодов жизни групп больных, найденных математической обработкой ука-

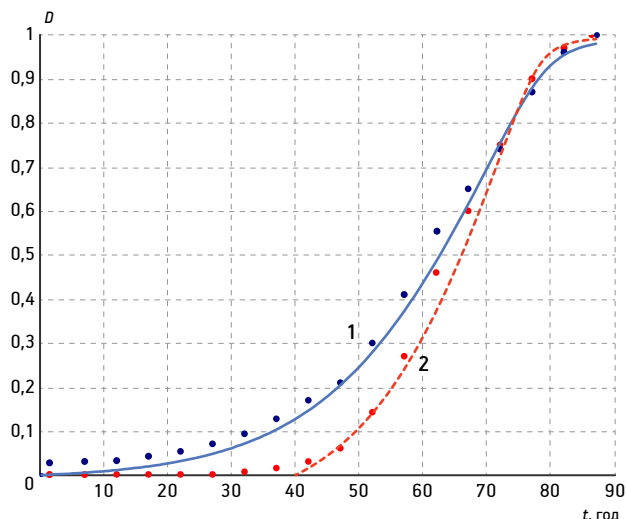


Рис. 1. Зависимость кумулятивной функции распределения смертности D от возраста мужского населения t ; точками обозначены статистические демографические данные ЦДИ РЭШ, соответствующие середине табличных (пятилетних) возрастных интервалов, линиями — результаты аналитического расчета по кинетическим моделям смертности (табл. 1): для населения Санкт-Петербурга 1989 г. (кривая 1) и населения в РФ по причине смерти от рака предстательной железы в 2006 г. (кривая 2)

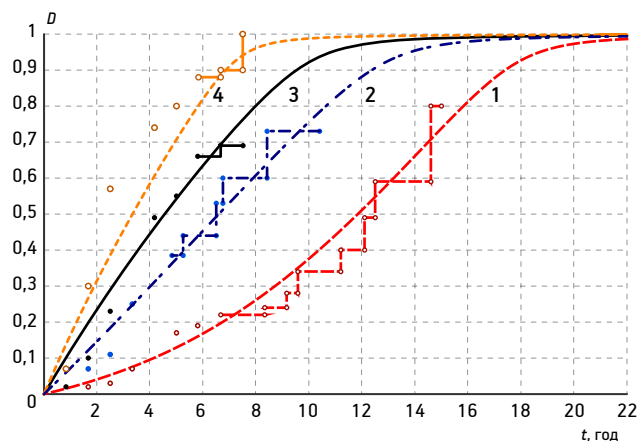


Рис. 2. Зависимость от времени кумулятивной функции распределения смертности больных с локализованным и генерализованным раком предстательной железы в РНЦРХТ $D=f(t)$ при $t \geq 66,5$ лет с «быстрым» и «медленным» временем удвоения уровня простатического специфического антигена; полученные расчетом в настоящей работе (линии) и экспериментально (точки и «ступеньки» — эмпирические функции распределения) в работе [1]; параметры кинетических уравнений приведены в табл. 2

Таблица 1

Параметры кинетических уравнений (KU_1 и KU_2), используемые в расчетах кумулятивной функции распределения смертности мужского населения Санкт-Петербурга и РФ по причине смерти от рака предстательной железы

| Параметр | Население Санкт-Петербурга | Рак предстательной железы в РФ |
|----------|----------------------------|--------------------------------|
| m | 1,62 | 1,75 |
| q | 0,76 | 0,76 |
| k | 5,0 | 5,0 |
| C | $1,15 \cdot 10^{-2}$ | $1,25 \cdot 10^{-2}$ |

Таблица 2

Параметры кинетических уравнений у пациентов от времени дожития после терапии с учетом распространенности и скорости роста рака предстательной железы (РПЖ)

| Параметр уравнений | $\frac{\partial D}{\partial \tau} = C \cdot (1 - D)^2 \cdot \exp\left[\frac{\mu(\tau)}{1 - \theta D}\right] - k \cdot (1 - D)^2$ | | | |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------|---------------------|
| | Пациенты с локализованным РПЖ, $n=360$ | | Пациенты с генерализованным РПЖ, $n=276$ | |
| № кривой | Время удвоения уровня простатического специфического антигена | | | |
| | «медленное» | «быстрое» | «медленное» | «быстрое» |
| m | 1,62 | 1,62 | 1,62 | 1,72 |
| q | 0,76 | 0,76 | 0,76 | 0,76 |
| k | 4,5 | 2,5 | 1,0 | 0,5 |
| C | $3,12 \cdot 10^{-2}$ | $2,78 \cdot 10^{-2}$ | $3,07 \cdot 10^{-2}$ | $3,4 \cdot 10^{-2}$ |

занных выше медико-демографических данных, представлены на рис. 1, 2 и в табл. 1, 2.

Следует отметить, что полную кинетику смертности населения в зависимости от возраста удается смоделировать только двумя различного вида кинетическими уравнениями, относящимися к описанию детского и юношеского возраста примерно до 25 лет [9] и последующего взрослого периода жизни. На приведенном рис. 1 обозначена только кинетика, хорошо аппроксимирующая статистические данные смертности населения, начиная с воз-

раста около 35 лет до момента смерти. Для выполнения нижеследующего прогноза это не имеет принципиального значения, так как он рассчитывается для возраста более 40 лет.

Анализ результатов работы [1] позволил получить значения параметров KU_3 . Результаты расчетов в сравнении с экспериментальными данными работы [1] представлены на рис. 2.

Результаты расчетов по изложенному подходу представлены на рис. 3 и 4.

Данные о продолжительности жизни после терапии РПЖ в возрасте 66,5 лет с учетом длительности заболевания до начала лечения приведены в табл. 3.

В работе изложен методический подход к прогнозированию до начала специфического лечения РПЖ возрастного изменения кумулятивной функции распределения смертности групп населения с тремя этапами их жизни — нормальной, соответствующей демографическим данным без выделения причин смертности; этапам жизни с установленным диагнозом РПЖ (в процессе и после лечения), а также оценке продолжительности жизни после лечения и без него. Кумулятивная функция распределения смертности, определяю-

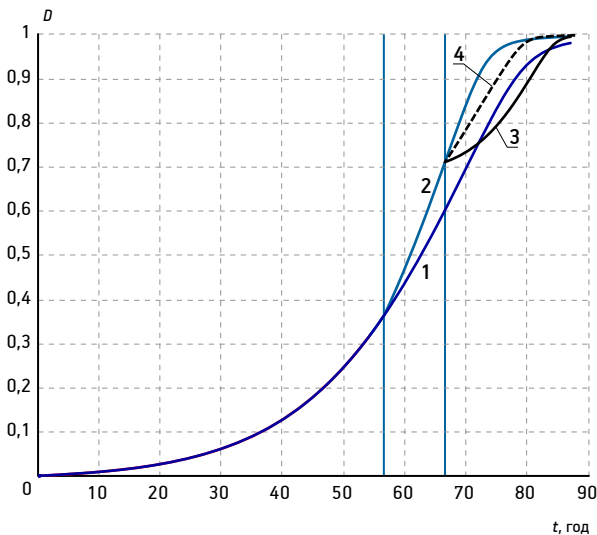


Рис. 3. Прогнозируемая зависимость $D=f(t)$ (изменение биологического возраста) больных с локализованным раком предстательной железы в РНЦРХТ с тремя этапами жизни — «нормальным» до 56,5 лет (кривая 1), в период жизни с 56,5 лет до 66,5 лет (кривая 2) и дожитием после терапии в возрасте 66,5 лет при «медленном» (кривая 3) и «быстром» (кривая 4) времени удвоения уровня простатического специфического антигена. Вертикальными линиями обозначен возраст начала болезни (56,5 лет) и начала лечения (66,5 лет)

щая уровень старения и изменяющаяся от 0 до 1, рассматривается как безразмерный биологический возраст человека. В основу подхода положено математическое моделирование кинетики старения живых систем.

Реализация подхода продемонстрирована на выборке в 636 больных с РПЖ (РНЦРХТ, Санкт-Петербург). Прогноз выполнен для «усредненного по группам» жителя Санкт-Петербурга, прошедшего эти три этапа жизни, кинетика старения для которых была найдена обработкой медико-демографических данных населения Санкт-Петербурга, РФ и пациентов РНЦРХТ.

Выводы

Проведено сравнение найденных математических кинетических моделей и времен дожития пациентов с разными локализациями рака предстательной железы и скоростями их роста с экспериментальными статистическими данными

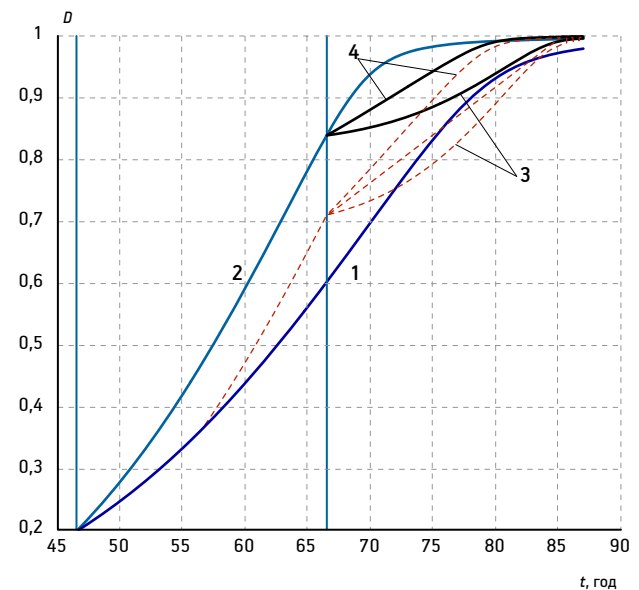


Рис. 4. Прогнозируемая зависимость $D=f(t)$ (изменение биологического возраста) больных с локализованным раком предстательной железы в РНЦРХТ с тремя этапами жизни — «нормальным» до 46,5 лет (кривая 1), в период жизни с 46,5 до 66,5 лет и далее (кривая 2) и дожитием после лечения в возрасте 66,5 лет при «медленном» (кривая 3) и «быстром» (кривая 4) времени удвоения уровня простатического специфического антигена; пунктиром обозначены приведенные для сравнения кривые дожития после заболевания раком предстательной железы в возрасте 56,5 лет (рис. 3); вертикальными линиями обозначены возраст диагностики данной патологии (46,5 лет) и начало его лечения (66,5 лет)

Продолжительность жизни после терапии рака предстательной железы (РПЖ) в возрасте 66,5 лет в зависимости от продолжительности болезни до начала лечения с учетом распространенности и скорости роста опухоли

| $t(D=0,97)$, лет | Пациенты с локализованным РПЖ, $n=360$ | | Пациенты с генерализованным РПЖ, $n=276$ | |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------|------------------------------------------|-----------|
| | Время удвоения уровня простатического специфического антигена | | | |
| | «медленное» | «быстрое» | «медленное» | «быстрое» |
| $t_0=46,5$ | 16 | 11 | 8,2 | 6 |
| $t_0=56,5$ | 18 | 12,5 | 9,6 | 7 |
| Медиана выживаемости [1] | 12,6 | 6,5 | 4,1 | 1,95 |
| Наблюдаемое время дожития [1] | 14,5–15 | 8,5–10,5 | 10–12 | 7,5 |

ми РНЦРХТ. Показано, что в рамках сделанных предположений при математической постановке задачи наблюдаются одинаковые тенденции расчетных и экспериментальных результатов и удовлетворительное согласие продолжительности жизни в зависимости от распространенности рака предстательной железы и времени удвоения уровня простатического специфического антигена. Определено, что продолжительность жизни пациентов после комбинированной терапии онкологических образований зависит от длительности периода болезни рака предстательной железы, ранняя диагностика и лечение способствуют увеличению показателей выживаемости больных. Важным замеченным результатом моделирования для рассмотренных локализаций рака предстательной железы является существенное уменьшение биологического возраста пациента сразу после комбинированной терапии онкологических образований по сравнению с вариантом продолжения жизни без данной терапии и последующее систематическое его сближение со средним биологическим возрастом жителей Санкт-Петербурга. При этом отмечается, что биологический возраст «здорового» петербуржца к 66,5 годам прогнозируется равным 0,6, в то время как заболевшего раком предстательной железы пациента на 20 и 10 лет раньше составит к этому возрасту 0,84 и 0,71, соответственно. Без лечения продолжительность жизни таких людей (при $D=0,97$) составит около 78 и 75 лет, соответственно, однако при этом их биологический возраст будет до смерти существенно превышать биологический возраст «здорового» петербуржца со средней продолжительностью жизни (при $D=0,97$), равной 85 годам.

Дальнейшее развитие предложенного подхода направлено на реализацию индивидуального прогноза, что связано с необходимостью иметь подробную информацию по мониторингу основных приоритетных параметров здоровья физиче-

ских лиц как до, так и после лечения. Это прежде всего относится к статистическим данным времени удвоения уровня простатического специфического антигена, так как для создания индивидуальной кинетической математической модели кумулятивной функции смертности человека, соответствующей конкретным значениям времени удвоения уровня простатического специфического антигена, число экспериментальных точек должно быть адекватным (более двух). Индивидуальное прогнозирование представляет собой самостоятельную научную задачу, требующую трудоемкой обработки статистических, в том числе малодоступных и неполных, данных и их анализа и является предметом дальнейших исследований авторов.

В настоящее время отношение к скринингу рака предстательной железы остается неоднозначным [11–14], так как увеличение выживаемости соответственно результатам скрининга отмечают не во всех исследованиях. Настоящее исследование позволяет полагать, что длительный (с 45 лет) мониторинг простатического специфического антигена в процессе скрининга является практически единственным инструментом для индивидуального прогнозирования «естественной истории развития» рака предстательной железы.

Литература

1. Жаринов Г.М., Богомолов О.А. Исходное время удвоения простатспецифического антигена: клиническое и прогностическое значение у больных раком предстательной железы // Онкоурология. 2014. № 1. С. 44–48.
2. Богомолов О.А., Жаринов Г.М., Школьник М.И. Динамика концентрации простатспецифического антигена — кинетика роста рака предстательной железы? // Вопр. онкол. 2014. Т. 60. № 4. С. 437–448.
3. Жаринов Г.М. База данных больных раком предстательной железы: Свидетельство о регистрации базы данных № 2016620331. Правообладатель: Жаринов Геннадий Михайлович (RU). Дата государственной регистрации в Реестре баз данных 14 марта 2016 г.
4. Центр демографических исследований Российской экономической школы (ЦДИ РЭШ). Сайт: demogr.nes.ru.

5. Климанов В.А. Радиобиологическое и дозиметрическое планирование лучевой и радионуклидной терапии: Учеб. пособие. М.: НИЯУ МИФИ, 2011.

6. Демин В.Ф., Голиков В.Я., Иванов Е.В. и др. Нормирование и сравнение риска здоровью человека от разных источников вреда // Атом. энергия. 2001. Т. 90. Вып. 5. С. 385–397.

7. Котенко К.В., Соловьев В.Ю., Бушманов А.Ю., Перминова В.А. Перспективы использования бинарных технологий в медицине // Мед. радиол. и радиац. безопасность. 2012. Т. 57. №3. С. 66–70.

8. Викторов А.А., Холоднов В.А. Кинетическая теория старения живых систем // Успехи геронтол. 2013. Т. 26. № 1. С. 58–65.

9. Викторов А.А., Гладких В.Д., Ксенофонтов А.И., Морозова Е.Е. Прогнозирование экологических рисков здоровью населения на основе кинетической теории старения живых систем // Успехи геронтол. 2014. Т. 27. № 1. С. 37–43.

10. Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины: Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты: Сб. науч. тр. / Под ред. Г.И. Марчука и др. М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2007.

11. La Rochelle J., Amling C.L. Prostate cancer screening: what we have learned from the PLCO and ERSPC trials // Curr. Urol. Rep. 2010. Vol. 11. № 3. P. 198–201.

12. Hoffman R.M. Randomized trial results did not resolve controversies surrounding prostate cancer screening // Curr. Opin. Urol. 2010. Vol. 20. № 3. P. 189–193.

13. Sandblom G., Varenhorst E., Rosell J. et al. Randomised prostate cancer screening trial: 20 — year follow-up // Brit. med. J. 2011. № 342. P. 1539.

14. Schröder F.H., Hugosson J., Roobol M.J. et al. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up // Lancet. 2014. Vol. 384. № 9959. P. 2027–2035.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 356–362

A.A. Viktorov¹, G.M. Zharinov², N. Ju. Neklasova², E.E. Morozova³

**PREDICTION OF LIFE EXPECTANCY FOR PROSTATE CANCER PATIENTS
BASED ON THE KINETIC THEORY OF AGING OF LIVING SYSTEMS**

¹ State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency (SRC-FMBC), 46, Zhivopisnaya str., Moscow, 123182; e-mail: a-victorov@mail.ru; ² Federal State Budget Institution Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies, 70, Leningradskaya str., Pesochny, St. Petersburg, 197758; e-mail: asatur15@mail.ru; ³ Central Children's Clinical Hospital, Russian Federal Medical and Biological Agency, 20, Moskvorech'e str., Moscow, 115309; e-mail: ev.e.morozova@mail.ru

The article presents a methodical approach for prediction of life expectancy for people diagnosed with prostate cancer based on the kinetic theory of aging of living systems. The life expectancy is calculated by solving the differential equation for the rate of aging for three different stage of life — «normal» life, life with prostate cancer and life after combination therapy for prostate cancer. The mathematical model of aging for each stage of life has its own parameters identified by the statistical analysis of health-care data from the Zharinov's databank and Rosstat CDR NES databank. The core of the methodical approach is the statistical correlation between growth rate of the prostate specific antigen level (PSA-level) or the PSA doubling time (PSA DT) before therapy, and lifespan: the higher the PSA DT is, the greater lifespan. The patients were grouped under the «fast PSA DT» and «slow PSA DT» categories. The satisfactory matching between calculations and experiment is shown. The prediction error of group life expectancy is due to the completeness and reliability of the main data source. A detailed monitoring of the basic health indicators throughout the each person life in each analyzed group is required. The absence of this particular information makes it impossible to predict the individual life expectancy.

Key words: forecast, life expectancy, prostate cancer, treatment, process speed, kinetic theory of aging of living systems

О. В. Армашевская¹, М. А. Иванова¹, Л. Ю. Чучалина²

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЗДОРОВЬЯ ЖЕНЩИН ВО ВРЕМЯ ПЕРИ- И ПОСТМЕНОПАУЗЫ

¹ Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения, 127254, Москва, ул. Добролюбова, 11; e-mail: ova19@yandex.ru; ² Нижневартковская городская больница, 626600, Нижневартковск, ул. Ленина, 9/3

Анализ состояния здоровья 500 женщин в периоды перименопаузы и постменопаузы (возрастные группы 44–49 лет и 50–64 года), проживающих в условиях региона с особыми климатогеографическими условиями и низкой плотностью населения, и 411 460 причин обращения за медицинской помощью показали наличие у каждой женщины в среднем до семи соматических патологий в анамнезе ($p \leq 0,005$), развивающихся в процессе старения. Знание совокупностей возрастных изменений здоровья женщин определяет индивидуальный подход при оказании медицинской помощи в среднем и пожилом возрасте. Результаты анализа свидетельствуют о потребности в должности врача акушера-гинеколога со знаниями возрастной патологии женщин и необходимости пересмотра модуля обучения врачей акушеров-гинекологов по возрастной патологии у женщин в пременопаузальном и климактерическом периодах.

Ключевые слова: женщины, перименопауза, постменопауза, соматическая патология, возрастные изменения, врачи акушеры-гинекологи

Старение — сложная проблема медицины и биологии, представляющая постепенную инволюцию ткани и функций организма [1, 2, 6, 9, 10]. Остается не до конца изученной степень тяжести одного из процессов старения — климактерического синдрома у женщин, проживающих в регионе с дискомфортными климатогеографическими условиями. В то же время, известно, что на фоне снижения уровня половых гормонов могут обостряться хронические и проявляться скрытые заболевания [7].

Так, климактерическая миокардиодистрофия, проявляющаяся кардиалгией вкуче с такими проявлениями климактерического синдрома, как приливы, потливость, раздражительность, свидетельствует о дисфункции вегетативной нервной системы, вызванной повышенной активностью гипоталамуса и ретикулярной формации мозга. При этом большинство пациенток отмечают обилие жалоб при отсутствии объективных

клинических признаков коронарной или сердечной недостаточности [4, 12–14]. Применяемая в этом случае гормональная терапия в период менопаузы и прием поливитаминов в постменопаузе более 1 года улучшают хронотропную, инотропную состоятельность и аэробную способность системы кровообращения, приводят к повышению физической выносливости пациенток [8].

Одним из значимых проявлений возрастных гормональных изменений в организме женщин является снижение психосоциальной адаптации, сопровождающейся нарушением сна, аппетита, возбудимостью или апатией, аногенитальным зудом, а иногда и суицидальными мыслями и канцерофобией. Все это провоцируется психоэмоциональным напряжением [3]. На первом месте по показаниям к гормональной терапии в период менопаузы являются вазомоторные симптомы с изменением настроения, нарушением сна [7].

Гормональная терапия в период менопаузы является наиболее эффективным методом лечения вазомоторных симптомов и соответствует уровню доказательности А [7]. Клинические рекомендации «Менопаузальная гормональная терапия и сохранение здоровья женщин в зрелом возрасте» определяют методы обследования (общие, обязательные и условные) для оценки состояния здоровья женщин этой категории и решения вопроса о возможности данной терапии.

Согласно положению Глобального консенсуса, решение о гормональной терапии в период менопаузы принимается индивидуально с учетом жалоб, симптомов эстрогенного дефицита, качества жизни и общих показателей здоровья, а также учитывая индивидуальные факторы риска, такие как возраст, длительность постменопаузы, риск венозной тромбоэмболии, инсульт, ИБС и рак молочной железы. Негативные изменения показателей здоровья населения и состояния среды обитания

определяют актуальность изучения проблемы возрастных изменений в организме женщин среднего и пожилого возраста [7, 11].

Цель исследования — установление потребности в организации приема врача акушера-гинеколога для женщин среднего и пожилого возраста, определение степени тяжести климактерического синдрома в периоды пери- и постменопаузы, возраста наступления менопаузы у женщин, проживающих в регионе с дискомфортными климатогеографическими условиями, наличия в анамнезе соматической патологии.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ оказания медицинской помощи врачами акушерами-гинекологами за 2010–2014 гг., который включил 411 460 посещений врачей — специалистов женской консультации Нижневартовска, с разбивкой по возрастным группам женщин. Предметом исследования явилась организация оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» в единственной женской консультации города с населением свыше 250 тыс. человек. Проанализировано состояние здоровья 500 пациенток 1952–1962 г. рождения в периоды пери- и постменопаузы, обратившихся к врачу акушеру-гинекологу в бюджетные медицинские организации Ханты-Мансийского автономного округа Югры. Данные получены путем выкопировки из медицинской карты амбулаторного пациента ф025/у. Во всех случаях определяли следующие анамнестические данные: характеристику менструальной функции, средний возраст наступления менопаузы, наличие соматических заболеваний, состояние молочных желез, оценку индекса Куппермана. Использовали статистический, аналитический и описательный методы. Статистический анализ осуществляли с помощью программы Statistica 6.0 («StatSoftInc.»). Количественные показатели представляли в виде среднего значения и стандартного отклонения.

Распределение возрастных групп женщин проведено с учетом среднего возраста наступления менопаузы в РФ, который составляет 50–51 год [5], а также с учетом репродуктивного возраста женщины, продолжающегося с 15 до 44–49 лет. 1-ю группу составили женщины 44–49 лет ($n=229$), 2-ю — 50–64 лет ($n=271$). У каждой пациентки оценивали степень тяжести климактерического синдрома путем определе-

ния индекса Куппермана и вероятной ошибки ρ ($\rho \leq 0,005$). Чтобы оценить возможности организации кабинета для амбулаторного посещения врача акушера-гинеколога женщинами в период перименопаузы и старшей возрастной группы, нами был проведен расчет прогнозируемых показателей посещений врачей акушеров-гинекологов в женской консультации методом наименьших квадратов с использованием электронной программы (<http://mednet.ru/statistika/organizacziionno-metodicheskie-aterialy.html?lang=ru>).

Результаты и обсуждение

Анализ выявил, что наибольшее количество (42,8 %) в структуре всех посещений женской консультации Нижневартовска приходится на болезни мочеполовой системы (N00–N99). 39,8 % обращений в медицинские организации города были связаны с обстоятельствами, относящимися к репродуктивной функции (Z30–Z39), 53,1 % — посещений в связи с беременностью, которые до 13,3 % включали посещения рожениц и родильниц (O00–O99). Доля обращений по поводу новообразований (C00–D48) составила 3,5 %, обращений в связи с другими обстоятельствами (Z70–Z76) — 0,6 %. В структуре обращений по классу болезней доля болезней мочеполовой системы (N00–N99) составила 42,8 %, доброкачественной дисплазии молочной железы (N60) — 1 %, воспалительных болезней женских половых органов (N70–N77) — 16,1 %, сальпингита и оофорита (N70) — 1,1 %, эндометриоза (N80) — 0,5 %, эрозии, эктропиона шейки матки (N86) — 6,5 %, расстройств менструаций (N91–N94) — 5,9 %.

Проанализирована также структура посещений врачей акушеров-гинекологов женской консультации с учетом возрастных групп женщин. В структуре посещений по поводу нарушения менопаузы и нарушений в период около менопаузы доля возрастных групп выглядела следующим образом: женщины 45–49 лет — 14 %, 50–54 лет — 37,5 %, 55–59 лет — 59,7 %, 60–64 лет — 68,4 %, 65–69 лет — 71,8 %, 70–74 лет — 72,6 %, 75–79 лет — 75,1 %. Для более старших возрастных групп эти данные не рассматривали в связи с единичными обращениями их представителей к врачу акушеру-гинекологу за пятилетний период исследования. Однако следует отметить, что в группах женщин 80–84 лет и 85–89 лет посещения по поводу нарушения менопаузы и нарушений в пе-

риод около менопаузы составили 64,6 и 64,3 %, соответственно. В данных возрастных группах обращения по поводу новообразований (С00–D48) составили 1 и 14,3 %, соответственно, обращения в другие медицинские организации города по другим обстоятельствам (Z70–Z76) составили 7,1 и 1,8 %, соответственно. Следует обратить внимание, что кратность посещений по одному обращению в связи с нарушением менопаузы и периода около менопаузы составила 1,4, что свидетельствует, с одной стороны, об отсутствии приверженности пациенток к терапии, с другой — об ограничении доступности специализированной медицинской помощи для женщин среднего и старшего возраста в женской консультации.

Чтобы оценить возможности организации кабинета врача акушера-гинеколога для оказания медицинской помощи при нарушениях менопаузы и других нарушениях в период около менопаузы, нами проведен расчет прогнозируемых показателей посещений врачей акушеров-гинекологов в женской консультации. Методом наименьших квадратов установлено, что количество посещений соответствует функции врачебной должности врача акушера-гинеколога. Результаты данного расчета представлены в *таблице*.

Таким образом, организация кабинета врача акушера-гинеколога для оказания медицинской помощи при нарушениях менструального цикла и других нарушениях в период около менопаузы обоснована и подтверждена статистически достоверными расчетами для городов с численностью населения более 250 тыс. человек ($p \leq 0,005$).

Результаты анализа состояния здоровья 500 женщин, обратившихся к врачу акушеру-гинекологу женской консультации, показали, что возрастные изменения во многом связаны с менструальным циклом и климактерическим синдромом. Причем нарушения, связанные с менструальным циклом, были выявлены у каждой пятой женщины (20,8 %); они проявлялись в виде олигоменореи с дебютом в 46,1±3,9 года у 42,2 %, гиперменореи — у 7,8 % в 45,7±4,2 года, ме-

троррагии — у 5,2 % в 44,9±4,1 года, полименореи — у 4,8 % в 45,1±4 года, аменореи — у 0,8 % пациенток в 52,5±2,2 года. У 45,8 % женщин средний возраст наступления менопаузы составил 48±4,1 года ($p \leq 0,005$), что требует дальнейшего исследования причин нарушения в данном возрасте, так как средний возраст наступления менопаузы в России приходится на 50–51 год. Вероятно, одной из причин столь выраженной разницы в возрасте наступления менопаузы являются особые климатогеографические условия. Этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Нарушения менструальной функции происходили на фоне таких гинекологических заболеваний, как миома матки (45,8 %), аденомиоз (12,2 %). У 40 % женщин воспалительные заболевания органов малого таза проявлялись хроническим сальпингитом и оофоритом. Мастопатия выявлена у 29,6 % женщин, из них диффузная форма — у 15,8 %, железисто-кистозная — у 9,4 %, фиброзная — у 3,2 %, узловая — у 1,2 %.

Анализ антропометрических показателей у женщин выявил следующие данные: средний рост — 162,3±5,5 см (минимальный — 148 см, максимальный — 180 см), средняя масса тела — 74,6±14,6 кг (минимальная — 44 кг, максимальная — 133 кг). Соответственно, среднее значение ИМТ составило 28,3±5,2 (минимальное — 17,9, максимальное — 47,2). У 65 % пациенток ИМТ был ≥ 26 — превышал нормальное значение (норма 18,5–25).

Анализ анамнестических данных позволил определить среднее количество заболеваний в исследуемых группах женщин. Так, в группе женщин 44–49 лет структура нозологических групп выглядела следующим образом: хронический холецистит (K81.1) — 18,6 %; болезни, характеризующиеся повышенным АД (I10–I15), — 12,1 %; хронический тонзиллит (J35.0) — 8 %; гастрит и дуоденит (K29) — 9 %; заболевания щитовидной железы (E00–E07) — 10,2 %; хронический пиелонефрит (N11.0–N11.1) — 4 %; хронический описторхоз (B66.0) — 4 %; остеохондроз позво-

Расчет прогнозируемых показателей посещений врачей акушеров-гинекологов в женской консультации методом наименьших квадратов

| Показатель | Фактические показатели | | | | | Прогноз | | |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 2010 г. | 2011 г. | 2012 г. | 2013 г. | 2014 г. | 2015 г. | 2016 г. | 2017 г. |
| Нарушение менопаузы и другие нарушения в период около менопаузы | 4154 | 5743 | 6164 | 5083 | 3877 | 4640 | 4519 | 4397 |

ночника (M42) — 3,4%; мочекаменная болезнь (N20–N23) — 3,1%; хронический бронхит (J41–J42) — 2,5%; язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки (K25–K26) — 2,8%; ИБС (I20–I25) — 1,9%; другие болезни поджелудочной железы (K86) — 2,2%; нарушения рефракции и аккомодации (H52) — 1,5%; хронический вирусный гепатит (B18) — 1,2%; прочие — 15,5%. Лишь менее 1/3 (23,9%) пациенток не имели соматических заболеваний в анамнезе. Среднее значение заболеваний в данной группе женщин составило 1,4±1,1. Анализ синдрома путем определения индекса Куппермана показал отсутствие признаков климактерического синдрома у 2,8% (0 баллов), легкую степень его выраженности — у 16,8% (до 10 баллов) пациенток. Средняя степень тяжести его проявления выявлена у 45,6% (до 20 баллов) и тяжелая степень — у 34,8% (более 20 баллов), соответственно. При всех признаках $p \leq 0,005$.

При сравнительном анализе структуры соматических заболеваний (рисунки) у женщин 50–64 лет, на долю которых приходилось до 54%, и женщин 44–49 лет установлена высокая доля заболеваемости хроническим холециститом (21,7 против 18,6%). Аналогичную ситуацию наблюдали по заболеваемости хроническим тонзиллитом (9,8 против 8%). Меньшую долю в структуре соматических заболеваний у женщин 50 лет

и старше занимали гастрит и дуоденит (7,8 против 9%), заболевания щитовидной железы (5,7 против 10,2%). В то же время, болезни, характеризующиеся повышенным АД, чаще встречались в группе женщин 50 лет и старше (см. рисунок). Среднее число заболеваний в группе женщин 50–64 лет составило 1,4±1,3, с максимальным значением 7 и минимальным 1 ($p \leq 0,005$).

Результаты исследования свидетельствуют о необходимости более внимательного отношения врачей акушеров-гинекологов при назначении терапии женщинам 50 лет и старше. Особое внимание следует уделить сбору анамнеза и уточнению соматических заболеваний, поскольку в данной возрастной категории у 100% женщин имеется соматическая патология, требующая индивидуального подхода к выбору гормональной терапии в менопаузе.

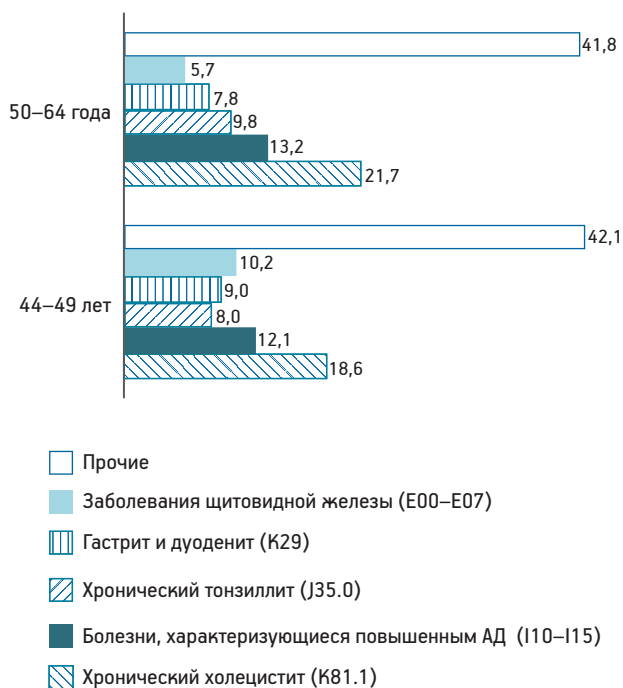
Частота выявления гинекологических и соматических заболеваний в исследуемой группе женщин, наличие у большинства избыточной массы тела, а также потребности в применении гормональной терапии в период менопаузы у 80,4% в связи с развитием средней и тяжелой степени климактерического синдрома, свидетельствуют о необходимости повышения знаний врача акушера-гинеколога об особенностях состояния здоровья и оказания квалифицированной медицинской помощи женщинам среднего и пожилого возраста.

Заключение

Установлена потребность в организации кабинета врача акушера-гинеколога для оказания медицинской помощи женщинам среднего и пожилого возраста в связи с частой встречаемостью нарушений менструального цикла и соматических заболеваний, развивающихся в пре- и постклимактерическом возрасте.

Анализ состояния здоровья 500 женщин 44–49 и 50–64 лет в периоды пери- и постменопаузы, проживающих в условиях региона с особыми климатогеографическими условиями и низкой плотностью населения, выявил наличие у каждой из них в среднем до семи соматических патологий ($p \leq 0,005$).

Сравнительный анализ соматической патологии у женщин 44–49 лет показал превалирование гастрита, дуоденита и заболеваний щитовидной железы, в то время как у женщин 50–64 лет доминировали болезни, характеризующиеся по-



Структура соматических заболеваний у женщин исследуемых групп

вышенным АД, а также хронический холецистит и хронический тонзиллит.

Нарушения менструальной функции происходили на фоне таких гинекологических заболеваний, как миома матки, воспалительных заболеваний органов малого таза в виде хронического сальпингита и оофорита, мастопатии разных форм.

Результаты исследования свидетельствуют о необходимости индивидуального подхода врачей акушеров-гинекологов к назначению гормональной терапии женщинам в пре- и постклимактерическом периодах, особенно при тяжести климактерического синдрома ≥ 20 баллов, которая выявлена более чем у $1/3$ женщин ($p \leq 0,005$). Пересмотр модуля обучения врачей акушеров-гинекологов по возрастной патологии женщин в данных периодах позволит повысить знания специалистов не только по профилактике преждевременного старения, но и улучшить качество жизни женщин зрелого и пожилого возраста.

Авторы выражают свою благодарность директору ЦНИИОИЗ Минздрава России докт. мед. наук проф. академику РАН заслуженному врачу России В.И. Стародубову и главному врачу Нижневартовской городской больницы заслуженному врачу РФ С.В. Золотухиной.

Литература

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003.
2. Анисимов В.Н. Можно ли отменить старение // Наука из первых рук. 2012. Т. 1. № 43. С. 30–33.
3. Василенко Т.И., Ольховская К.Б. Терапия хронического аногенитального зуда // Вестн. последиплом. мед. образования. 2016. № 3. С. 81.
4. Зайдиева Я.З. Гормонотерапия в перименопаузе // Акуш. и гин. 2015. № 3. С. 28–30.
5. Кулаков В.И., Сметник В.П. Руководство по климактерию. М.: МИА, 2001.
6. Лабезник Л.Б., Верткин А.Л., Конев Ю.В. и др. Старение. Профессиональный подход: Национальное рук. М.: ЭКСМО, 2014.
7. Менопаузальная гормональная терапия и сохранение здоровья женщин в зрелом возрасте: Клини. рекомендации. М., 2015. С. 6–12.
8. Попкова А.С. Оптимизация тактики ведения женщин с коморбидной патологией в климактерии // Вестн. последиплом. мед. образования. 2016. № 3. С. 93–95.
9. Хавинсон В.Х. Пептидная регуляция старения // Вестн. РАМН. 2001. № 12. С. 16–20.
10. Хавинсон В.Х., Рыжак Г.А. Механизмы гепатопротекторного действия пептидов. М., 2011. С. 39.
11. DeVilliers T.J., Gass M.L., Haines C.J. et al. Global consensus statement on menopausal hormone therapy // Climacteric. 2013. № 16. P. 203–205.
12. Gambacciani M., Spinetti A., Orlandi R. et al. Effect of new estrogen/ progestin combination in postmenopausal syndrome // Maturitas. 2014. № 22. P. 115–120.
13. Grodstein F., Chen J., Pollen D.A. et al. Postmenopausal hormone therapy and cognitive function in healthy older women // J. Amer. Geriatr. Soc. 2013. № 8. P. 746–752.
14. Practice Bulletin № 141: Management of Menopausal Symptoms // Obstet. Gynec. 2014. Vol. 123 (Iss. 1). P. 202–216.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 363–367

O. V. Armashevskaya¹, M. A. Ivanova¹, L. U. Chuchalina²

AGE WOMEN HEALTH SPECIALITIES IN PERI- AND POSTMENOPAUSAL PERIOD

¹ Federal Research Institute for Health Organization and Informatics, 11, Dobrolyubov str., Moscow, 127254; e-mail: ova19@yandex.ru; ² Nizhnevartovsk city hospital, 9/3, Lenina str., Nizhnevartovsk, 626600

Analysis of the health status of 500 women in the period of perimenopause and postmenopause (age groups 44–49 and 50–64 years) living in a region with special climatic and geographical conditions and low population density, as well as a study of 411 460 reasons for seeking medical help, showed the presence at each woman had an average of up to seven somatic abnormalities in the anamnesis ($p \leq 0,005$) developing during the aging process. The results of the analysis testify to the need for the post of obstetrician-gynecologist with knowledge of the age-related pathology of women in perimenopause and postmenopause. Knowledge of the aggregates of age-related changes in women's health determines the individual approach to the provision of medical care in the middle and old age, and the necessity of updating the module for training obstetricians and gynecologists in age-related pathology (somatic and gynecological).

Key words: women, perimenopause, postmenopause, somatic pathology, age-related changes, obstetrician-gynecologists

Н. Н. Голубцова, Ф. Н. Филиппов, А. Г. Гунин

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА ЛАМИНА В В ФИБРОБЛАСТАХ ДЕРМЫ ЧЕЛОВЕКА *

Чувашский государственный университет, 428015, Чебоксары, Московский пр., 15; e-mail: histol@mail.ru

Целью работы стало исследование содержания рецепторов ламина В в фибробластах дермы человека в разные возрастные периоды (от 20 нед беременности до 85 лет) в сопоставлении с их пролиферативной активностью. Рецепторы ламина В, ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA) выявляли в срезах кожи непрямим иммуногистохимическим методом. Результаты показали, что увеличение доли фибробластов, имеющих положительное окрашивание на рецепторы ламина В, и уровня экспрессии рецепторов ламина В в ядрах фибробластов происходит от 0 до 20 лет по сравнению с другими возрастными периодами. Общее число фибробластов и фибробластов с положительной окраской на PCNA в дерме с возрастом уменьшалось наиболее значительно с 20 лет. Увеличение содержания рецепторов ламина В в фибробластах дермы, наблюдаемое от рождения до 20 лет, можно рассматривать в качестве одного из пусковых моментов, приводящих к возрастному снижению числа фибробластов в дерме человека.

Ключевые слова: старение, онтогенез, кожа, дерма, фибробласты, рецептор ламина В, PCNA

С возрастом кожа человека становится дряблой, растянутой, морщинистой, содержит меньше воды, то есть приобретает необратимые признаки старения. Практически каждый человек хоть раз задумывался о том, как предотвратить или замедлить старение кожи. Эта проблема уже давно привлекает внимание исследователей и целый ряд специалистов-практиков.

Для предотвращения старения кожи необходимо знать фундаментальные закономерности, лежащие в основе возрастных изменений. К настоящему времени выявлен ряд таких механизмов. Было установлено, включая данные нашей лаборатории, что в онтогенезе в дерме существенно снижается численность фибробластов [7, 8]. Этот феномен можно рассматривать в качестве определяющего фактора, приводящего к клиническому старению кожи, так как именно фибробласты в полной мере

обеспечивают обмен межклеточного вещества дермы. Однако механизмы, управляющие уменьшением численности фибробластов в дерме человека, до сих пор окончательно неизвестны.

Возможно, что процессы, происходящие в клеточном ядре, играют важную роль в возрастном изменении поведения популяции фибробластов дермы. Одними из компонентов ядра являются белки ламина и ассоциированные с ними молекулы, которые регулируют деятельность хроматина. В плане участия ламинов в старении организма наиболее показательна роль ламина А, при нарушении сплайсинга которого развивается патология, именуемая прогерией и проявляющаяся необычно ранним развитием процессов старения [16]. При прогерии наблюдают также раннее старение кожи [16]. В нашей лаборатории установлено, что содержание ламина А в фибробластах дермы планомерно уменьшается с возрастом [2]. Уровень ламин-ассоциированного полипептида 2α, который связывается с ламинем А и определяет его содержание в нуклеоплазме, увеличивается в возрастном аспекте [2].

Экспрессия другого вида ламинов — ламина В1 также подвержена возрастным изменениям [4, 6]. Деградиацию ламина В1 рассматривают в качестве раннего признака апоптоза [15]. Снижение уровня ламина В1 было зарегистрировано в процессе старения культивируемых фибробластов у мыши [5]. Было установлено, что содержание ламина В1 в фибробластах дермы человека уменьшается в промежутке от рождения до 40 лет [1], а содержание ламина В2 в фибробластах дермы не выявило возрастных изменений [1].

В структуре внутренней ядерной мембраны имеется белок — рецептор ламина В [11]. К настоящему времени четко установлено, что рецептор ламина В участвует в постмитотической трансформации клеточного ядра, в перестройках в структуре

* Работа поддержана РФФИ 16-44-210018.

ядра и распределении гетерохроматина в интерфазе [14]. Полагают, что рецептор ламина В определяет периферическую локализацию хроматина в течение раннего эмбриогенеза и в малодифференцированных клетках [13], а в дифференцированных клетках периферическую локализацию хроматина определяет ламин А [13]. Однако при уменьшении содержания ламина А периферическое расположение хроматина может поддерживаться за счет увеличения уровня рецептора ламина В [13]. Ламины группы В могут связываться с рецепторами ламина В, предполагается, что с ними также может связываться ламин А [11]. Кроме того, с рецепторами ламина В могут взаимодействовать и другие белки, ассоциированные с гетерохроматином, такие как связывающийся с метилированной ДНК протеин (*MeCP2*), протеин *HP1* [9, 11].

В литературе накапливаются данные о взаимодействии рецепторов ламина В с различными регуляторными молекулами, локализованными в ядре [11]. Последствием связывания ламинов с рецепторами ламина В является перераспределение хроматина в ядре с увеличением доли примембранного гетерохроматина. Однако более детальные сведения о биологической роли рецептора ламина В в настоящее время крайне недостаточны. Тем не менее, известно, что рецепторы ламина В участвуют в некоторых возрастных изменениях в организме человека и животных. Показано, что содержание рецепторов ламина В снижается в момент индукции старения, что является необходимым для открепления хроматина от ядерной ламины, это сопровождается изменениями экспрессии генов [10]. Однако фенотип стареющих культивируемых клеток не характеризуется снижением экспрессии рецепторов ламина В [10]. Полагают, что снижение экспрессии рецепторов ламина В представляет собой своеобразный триггер старения клетки [10]. В культивируемых *HeLa* клетках распределение рецепторов ламина В изменялось при индукции старения 5-бромодезоксиуридином [3]. Авторы показали, что в пролиферирующих *HeLa* клетках рецепторы ламина В сконцентрированы около внутренней ядерной мембраны, а при индукции старения они оказываются распределенными диффузно в нуклеоплазме и даже в цитоплазме [3].

В литературе имеются некоторые данные об участии рецепторов ламина В в возрастных изменениях эпидермиса. Показано, что у животных с мутацией гена ламина А и фенотипом прогерии была выявлена повышенная экспрессия рецепторов ламина В в шиповатом слое эпидермиса [12].

Животные с гиперэкспрессией рецепторов ламина В в эпидермисе характеризовались гипоплазией эпидермиса, сниженной экспрессией кератина 10 и нарушенной дифференцировкой кератиноцитов [12]. Данные об участии рецепторов ламина В в возрастных изменениях в дерме полностью отсутствуют.

Целью данной работы — исследование содержания рецепторов ламина В в фибробластах дермы человека в разные возрастные периоды в сопоставлении с их пролиферативной активностью.

Материалы и методы

Исследование проведено на кусочках кожи, извлеченных при аутопсии из нижней части передней поверхности шеи у плодов человека и людей, умерших от разных причин от 20 нед беременности и до 85 лет. В области забора кусочков кожи для исследования не было повреждений и патологических изменений. Исследование одобрено этическим комитетом медицинского факультета Чувашского ГУ им. И. Н. Ульянова (протокол № 3/4 от 31.01.14). Кусочки кожи фиксировали в 4 % параформальдегиде и заливали в парафин. Из блоков изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм.

Рецепторы ламина В, ядерный антиген пролиферирующих клеток (*PCNA*) выявляли непосредственным иммуногистохимическим методом. Все препараты проводили по этапам иммуногистохимической реакции одномоментно. В качестве первых антител использовали поликлональные мышинные антитела против рецепторов ламина В (H00003930-B01P, «Abnova», Тайвань) в разведении 1:50 и поликлональные кроличьи антитела против *PCNA* (АНР1419, «AbD Serotec», Великобритания) в разведении 1:100 на 0,05 М трис-буфере с рН 7,4 с добавлением 0,15 М натрия хлорида. Визуализацию антигенов проводили с помощью системы «EnVision», конъюгированной с пероксидазой (К 4002, «DakoCytomation», Дания). Выявление пероксидазы проводили с использованием 3,3-диаминобензидина. Продукт реакции окрашивался в коричневый цвет. В качестве контроля специфичности окрашивания применяли такую же процедуру обработки срезов, но вместо первых антител использовали нормальную кроличью сыворотку в конечной концентрации 1 %.

На первом этапе анализа результатов в срезах определяли уровень экспрессии рецепторов ламина В в фибробластах и число фибробластов с по-

ложительной окраской на рецепторы ламина В. Для этого препараты сначала фотографировали при ув. 40 с помощью микроскопа «Olympus CX-21» и цифровой камеры «Olympus Camedia 4040z». В каждом случае было сфотографировано как минимум 3–5 случайно выбранных полей зрения. Далее фотографии анализировали в программе Sigma Scan Pro 5.0 («Systat Software Inc.», США). Уровень экспрессии рецепторов ламина В устанавливали по интенсивности окраски ядер, её определяли по показателю оптической плотности, которую находили путем сравнения интенсивности окрашивания положительно окрашенных структур — F и фона препарата — F_0 (неокрашенные структуры ткани) с использованием круглого программного зонда диаметром 19 пикселей. Таким образом, в процессе анализа измеряли интенсивность окраски одинакового по площади участка препарата в окрашенной и неокрашенной частях. Оптическую плотность рассчитывали по формуле $D = \lg(F_0/F)$ и выражали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.). Для определения числа фибробластов с положительной окраской на рецептор ламина В сначала с помощью программы Sigma Scan pro 5.0 подсчитывали площадь анализируемого фрагмента препарата, затем в нем подсчитывали окрашенные на рецепторы ламина В фибробласты. В результате, вычисляли число фибробластов с положительной окраской на 1 мм^2 ткани.

На втором этапе анализа результатов проводили подсчет общего числа фибробластов в дерме. Для этого препараты, окрашенные иммуногистохимически на рецепторы ламина В, дополнительно докрасивали гематоксилином. При окраске в ткани окрашиваются все ядра, включая ядра фибробластов. Далее в препаратах находили те же участки, которые были сфотографированы ранее для определения числа клеток с положительной окраской на рецепторы ламина В, и снова фотографировали. В полученных фотографиях определяли площадь анализируемого участка препарата и подсчитывали общее число фибробластов, после чего вычисляли число фибробластов на 1 мм^2 ткани. После определения числа фибробластов на 1 мм^2 ткани с положительной окраской на рецепторы ламина В и общего числа фибробластов, рассчитывали долю фибробластов с положительной окраской на рецепторы ламина В.

Для определения доли фибробластов с положительной окраской на PCNA в дерме сначала препараты фотографировали при ув. 40. В каждом случае было сфотографировано как минимум 3–5 слу-

чайно выбранных полей зрения. Далее с помощью программы Sigma Scan pro 5.0 подсчитывали окрашенные на PCNA ядра фибробластов и общее число фибробластов в выбранном участке препарата. В результате, вычисляли долю фибробластов с положительной окраской на PCNA.

Результаты группировали по возрастному принципу: 1-я группа — 20–40 нед беременности; 2-я — 0–20 лет; 3-я — 21–40 лет; 4-я — 41–60 лет; 5-я — 61–85 лет. Для исследования рецепторов ламина В и общего числа фибробластов было использовано 124 кусочка кожи 55 женщин и 69 мужчин: 1-я группа — 20 образцов кожи; 2-я — 27; 3-я — 29; 4-я — 21; 5-я — 27. Для исследования доли PCNA-положительных фибробластов было использовано 139 кусочков кожи 35 женщин и 104 мужчин: 1-я группа — 25 образцов кожи; 2-я — 33; 3-я — 40; 4-я — 26; 5-я — 15. По каждой группе данных рассчитывали средние арифметические величины (M) и их стандартные ошибки (m). Достоверность влияния возраста на исследуемые параметры кожи оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

Результаты и обсуждение

Специфическое окрашивание на рецепторы ламина В имели ядра фибробластов, которые присутствовали во всей толщине дермы как плодов, так и людей всех исследованных групп (рис. 1, 2). В 1-й группе (20–40 нед) доля фибробластов дермы с позитивной окраской на рецепторы ламина В составляла $84,1 \pm 3,9\%$ ($M \pm m$). Во 2-й группе (0–20 лет) количество иммунопозитивных к рецепторам ламина В фибробластов дермы увеличилось до $93,9 \pm 1\%$. В 3-й группе (21–40 лет) $86,8 \pm 2,5\%$ фибробластов дермы имело положительное окрашивание на рецепторы ламина В. Этот показатель не изменился в 4-й группе (41–60 лет) и составил $86,7 \pm 2,7\%$. В 5-й группе (61–85 лет) $84,8 \pm 2,4\%$ фибробластов дермы имело положительное окрашивание на рецепторы ламина В. Однофакторный дисперсионный анализ выявил наличие достоверного влияния ($p < 0,001$) возраста на изменение доли фибробластов дермы, положительно окрашенных на рецепторы ламина В.

Интенсивность специфического окрашивания фибробластов дермы на рецепторы ламина В в 1-й группе составляла $0,069 \pm 0,006$ ед. опт. пл. (см. рис. 2). Во 2-й группе уровень экспрессии рецепторов ламина В в фибробластах

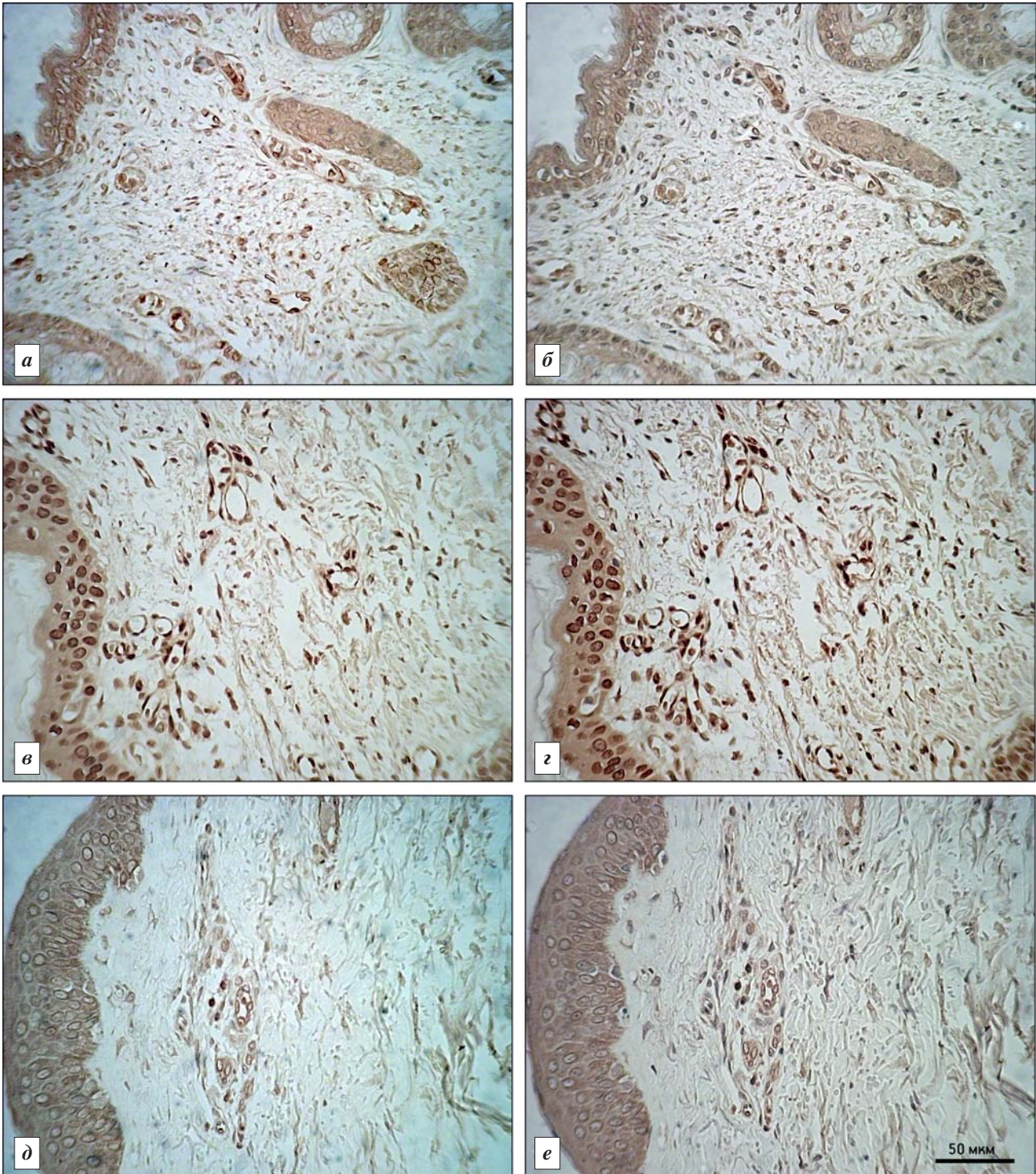


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание на рецептор ламина В в коже плодов человека и людей разного возраста без докраски гематоксилином (а, в, д) и с докраской (б, г, е):

а, б — кожа плода женского пола на сроке 27 нед беременности; в, г — кожа девочки 3 лет; д, е — кожа мужчины 81 года

дермы повысился до $0,093 \pm 0,006$ ед. опт. пл. В 3-й группе уровень экспрессии рецепторов ламина В в фибробластах дермы был меньше по сравнению со 2-й группой и составил $0,078 \pm 0,004$ ед. опт. пл. В 4-й и 5-й группах уровень экспрессии рецепторов ламина В в фибробластах дермы был равен $0,008 \pm 0,004$ и $0,078 \pm 0,004$ ед. опт. пл.,

соответственно. Однофакторный дисперсионный анализ выявил наличие достоверного влияния ($p < 0,001$) возраста на уровень экспрессии рецепторов ламина В в фибробластах дермы человека.

Нами выявлено, что общее число фибробластов в дерме уменьшается с возрастом. Наиболее значительное уменьшение числа фибробластов

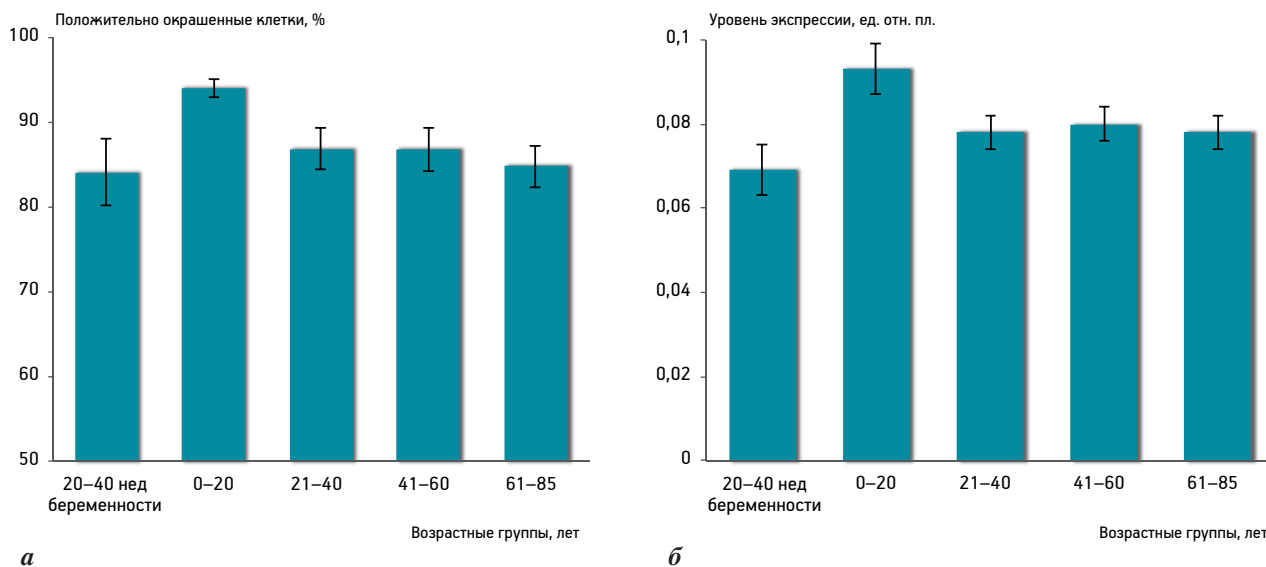


Рис. 2. Процент фибробластов с положительной окраской на рецептор ламина В (а), интенсивность окраски ядер фибробластов на рецептор ламина В в дерме плодов человека и людей разного возраста (б); $\rho < 0,001$ — однофакторный дисперсионный анализ

нами было отмечено на протяжении от пренатального периода до 20 лет (рис. 3). Однофакторный дисперсионный анализ также выявил достоверный возрастзависимый характер уменьшения числа фибробластов в дерме ($\rho < 0,001$). Подсчеты показали, что количество PCNA-положительных фибробластов прогрессивно уменьшается с возрастом (см. рис. 3). Однофакторный дисперсионный анализ установил наличие достоверного влияния ($\rho < 0,001$) возраста на изменение численности PCNA-положительных фибробластов в дерме.

Проанализированы половые различия для возрастных изменений параметров дермы. Для этого был выполнен однофакторный дисперсионный анализ, где в качестве фактора использована половая принадлежность. Результаты этого анализа не установили достоверного ($\rho < 0,05$) влияния пола на изменение численности и степени окрашивания фибробластов дермы на рецепторы ламина В, общего количества и доли PCNA-положительных фибробластов.

Таким образом, нами установлено, что наибольшее содержание рецепторов ламина В в фибробластах дермы обнаруживается в 0–20 лет по сравнению с другими возрастными периодами. Как и в случае с изменением содержания любого другого вещества в организме, повышение уровня рецепторов ламина В может зависеть от активации его синтеза в клетке, замедления распада или от сочетания обоих процессов. Регуляция синтеза и распада рецепторов ламина В в настоящее время совершенно не охарактеризована. Поэтому ме-

ханизм обнаруженного нами повышения уровня рецепторов ламина В в ядрах фибробластов дермы в возрастном промежутке от рождения до 20 лет невозможно идентифицировать.

Наибольшая доля фибробластов и уровень экспрессии рецепторов ламина В совпадают с периодом начала спада пролиферативной активности фибробластов в дерме человека. Известно, что рецепторы ламина В встроены во внутреннюю ядерную мембрану, способны связывать ламины и некоторые другие внутриядерные белки [11]. В свою очередь, ламины способны образовывать связи с хроматином [16]. Таким образом, результатом взаимодействия рецепторов ламина В и ламин является перераспределение хроматина в ядре с увеличением доли пристеночного гетерохроматина [13]. Клетки, ядра которых имеют много пристеночного гетерохроматина, характеризуются низкой пролиферативной и функциональной активностью. Как показывают наши результаты, в фибробластах, пролиферативная активность которых начала снижаться с момента рождения, накапливаются рецепторы ламина В. Следовательно, возрастание уровня рецепторов ламина В, вероятно, приводит к перераспределению хроматина в ядрах фибробластов с увеличением доли пристеночного гетерохроматина, что делает фибробласты менее функционально активными.

Данное предположение находит подтверждение в работе по изучению значения рецепторов ламина В для старения культивируемых клеток [10]. Авторы этого исследования зафиксировали умень-

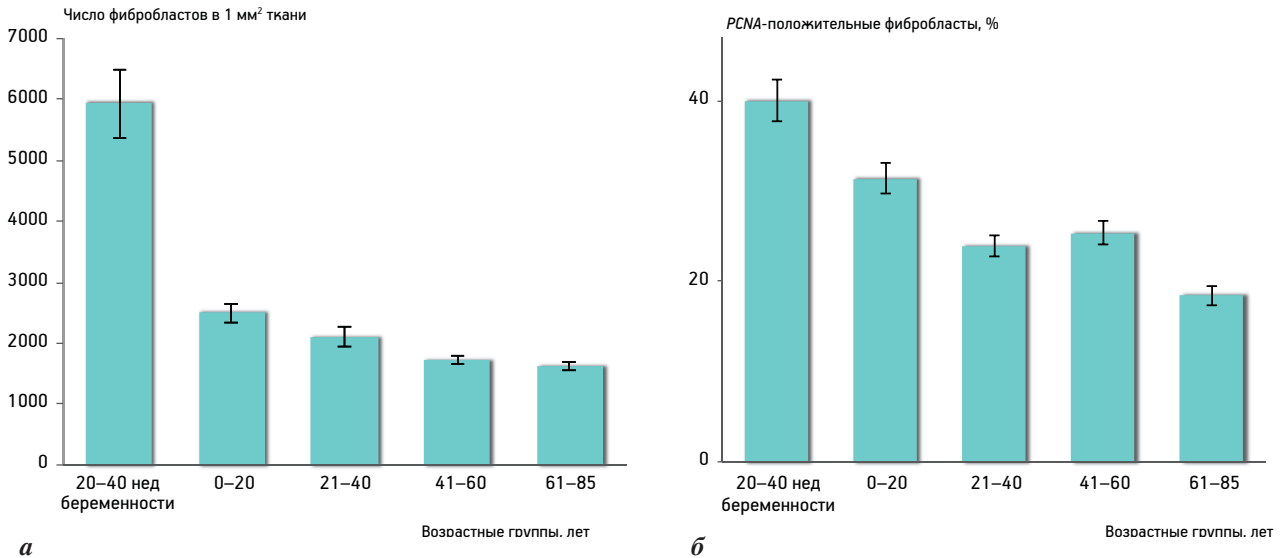


Рис. 3. Общее число фибробластов в дерме человека в разные возрастные периоды (а), процентное соотношение PCNA-положительных фибробластов к общему числу фибробластов в дерме людей разного возраста (б), $M \pm m$; $p < 0,001$ — однофакторный дисперсионный анализ

шение уровня рецепторов ламина В в момент начала старения культивируемых клеток с последующим возрастанием их концентрации. Они предположили, что для индукции старения нужно перераспределение хроматина в ядре, которое опосредуется рецепторами ламина В [10]. Другие исследователи продемонстрировали, что у мышей с прогерией, характеризующихся преждевременным старением кожи и гипоплазией эпидермиса, имеется повышенная экспрессия рецепторов ламина В в эпидермисе [12].

Проведенное нами ранее исследование показало, что уровень ламина В1 снижается в фибробластах дермы человека с момента рождения и остается сниженным до 40 лет [1]. Настоящая работа выявила, что от 0 до 20 лет происходит увеличение уровня рецепторов ламина В в фибробластах дермы человека. Таким образом, содержание ламина В1 снижено в интервале от рождения до 40 лет, а концентрация рецепторов ламина В повышается только в интервале от рождения до 20 лет. То есть, на фоне кратковременного увеличения уровня рецепторов ламина В происходит длительное снижение содержания ламина В1. Возможно, именно увеличение концентрации рецепторов ламина В приводит к снижению уровня ламина В1. Не исключено, что связывание ламина В1 с рецепторами ламина В приводит к ускорению деградации ламина В1. Снижение уровня ламина В1 в клетке рассматривают в качестве признака старения фибробластов и угнетения их функциональной

активности [4–6, 15]. Полученные в настоящей работе данные дополняют сложившееся представление ролью рецепторов ламина В. Возможно, что возрастание содержания рецепторов ламина В является первичным в цепи определенных внутриядерных событий, приводящих к снижению пролиферативной активности и численности фибробластов в дерме человека.

Заключение

Увеличение доли фибробластов в дерме человека с положительной окраской на рецептор ламина В и повышение уровня экспрессии рецептора ламина В в ядрах фибробластов, наблюдаемое от 0 до 20 лет, совпадает с началом резкого снижения пролиферативной активности и численности фибробластов в дерме человека. Это сопоставление позволяет предположить участие рецептора ламина В в возрастном снижении пролиферации и численности фибробластов в дерме человека.

Литература

1. Голубцова Н.Н., Филиппов Ф.Н., Гунин А.Г. Ламин В1 и ламин В2 в коже человека в процессе старения // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 2. С. 222–228.
2. Голубцова Н.Н., Филиппов Ф.Н., Гунин А.Г. Ламин А и ламин-ассоциированный полипептид 2 (LAP-2) в фибробластах кожи человека при старении // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 4. С. 577–585.
3. Arai R., En A., Ukekawa R. et al. Aberrant localization of lamin B receptor (LBR) in cellular senescence in human cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2016. Vol. 473. № 4. P. 1078–1083.

4. Barton L.J., Soshnev A.A., Geyer P.K. Networking in the nucleus: a spotlight on LEM-domain proteins // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2015. Vol. 34. P. 1–8.
5. Butin-Israeli V., Adam S.A., Jain N. et al. Role of lamin B1 in chromatin instability // *Molec. Cell Biol.* 2015. Vol. 35. № 5. P. 884–898.
6. Freund A., Laberge R.M., Demaria M. et al. Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker // *Molec. Biol. Cell.* 2012. Vol. 23. P. 2066–2075.
7. Gunin A.G., Kornilova N.K., Vasilieva O.V., Petrov V.V. Age-related changes in proliferation, the numbers of mast cells, eosinophils, CD45 positive cells in human dermis // *J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2011. Vol. 66. № 4. P. 385–392.
8. Gunin A.G., Petrov V.V., Golubtsova N.N. et al. Age-related changes in angiogenesis in human dermis // *Exp. Geront.* 2014. Vol. 55. P. 143–151.
9. Hirano Y., Hizume K., Kimura H. et al. Lamin B receptor recognizes specific modifications of histone H4 in heterochromatin formation // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287. № 51. P. 42654–42663.
10. Lukasova E., Kovařík A., Bačíková A. et al. Loss of lamin B receptor is necessary to induce cellular senescence // *Biochem. J.* 2017. Vol. 474. № 2. P. 281–300.
11. Olins A.L., Rhodes G., Welch D.B. et al. Lamin B receptor: multi-tasking at the nuclear envelope // *Nucleus.* 2010. Vol. 1. № 1. P. 53–70.
12. Sola Carvajal A., McKenna T., Wallen Arzt E. et al. Overexpression of Lamin B receptor results in impaired skin differentiation // *PLoS One.* 2015. Vol. 10. № 6. P. e0128917.
13. Solovei I., Wang A.S., Thanisch K. et al. LBR and lamin A/C sequentially tether peripheral heterochromatin and inversely regulate differentiation // *Cell.* 2013. Vol. 152. № 3. P. 584–598.
14. Tseng L.C., Chen R.H. Temporal control of nuclear envelope assembly by phosphorylation of lamin B receptor // *Molec. Biol. Cell.* 2011. Vol. 22. № 18. P. 3306–3317.
15. Tu J.B., Ma R.Z., Dong Q. et al. Induction of apoptosis in infantile hemangioma endothelial cells by propranolol // *Exp. Ther. Med.* 2013. Vol. 6. № 2. P. 574–578.
16. Xie W., Burke B. Lamins // *Curr. Biol.* 2016. Vol. 26. № 9. P. R348–R350.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 368–374

N.N. Golubtsova, F.N. Filippov, A.G. Gunin

AGE-RELATED CHANGES IN THE EXPRESSION OF LAMIN B RECEPTORS IN FIBROBLASTS OF HUMAN DERMIS

Chuvash State University, 15, Moskovsky pr., Cheboksary, 428015; e-mail: histol@mail.ru

The aim of this work was to study lamin B receptors in human skin at different ages. Lamin B receptors, proliferating cells nuclear antigen (PCNA) were detected in sections of the skin by indirect immunohistochemistry. Our results showed that both portion of dermal fibroblasts with positive staining for lamin B receptors and intensity of staining of fibroblasts for lamin B receptors were maximal from birth to 20 years as compared to all other examined age-periods (from 20 weeks of pregnancy to 85 years old). General number of fibroblasts and number of fibroblasts with positive staining for PCNA in dermis were diminished with age. The most significant decrease in the number of fibroblasts and PCNA positive fibroblasts were observed from 20 years old. An increase in the level of lamin B receptors in dermal fibroblasts observed from birth to 20 years old may be regarded as one of start events leading to age-dependent decrease in the number of fibroblasts in human dermis.

Key words: aging, ontogenesis, skin, dermis, fibroblasts, lamin B receptors, PCNA

Н. Н. Голубцова, Ф. Н. Филиппов, А. Г. Гунин

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СИРТУИНА 1 В ФИБРОБЛАСТАХ ДЕРМЫ ЧЕЛОВЕКА*

Чувашский государственный университет, 428015, Чебоксары, Московский пр., 15; e-mail: histol@mail.ru

Целью исследования стало изучение локализации и уровня экспрессии сиртуина 1 (*SIRT1*) в фибробластах дермы человека в разные стадии онтогенеза, а также выяснение роли *SIRT1* в старении кожи. Работа проведена на аутопсийном материале кожи плодов, умерших антенатально от 20 до 40 нед гестации, и людей, умерших от разных причин в возрасте от рождения до 85 лет. *SIRT1*, ядерный антиген пролиферирующих клеток (*PCNA*) выявляли непрямым иммуногистохимическим методом. Результаты исследования показали, что в период от рождения до 85 лет происходит снижение уровня *SIRT1* в фибробластах дермы, а также планомерно уменьшаются пролиферативная активность и численность фибробластов дермы. Уменьшение содержания *SIRT1* в фибробластах дермы с возрастом достоверно коррелирует со снижением их пролиферативной активности и может рассматриваться в качестве одного из механизмов ингибирования пролиферации фибробластов дермы.

Ключевые слова: старение, онтогенез, кожа, дерма, фибробласты, сиртуин 1, *PCNA*

К настоящему времени известно множество веществ, препятствующих возникновению возрастных изменений в организме. Одним из них является сиртуин 1 (*SIRT1*), который обладает способностью деацетилировать гистоны и другие протеины [2]. Функции *SIRT1* связаны с регуляцией метаболизма, стабильностью генома, репарацией ДНК, ремоделированием хроматина, стрессовой реакцией. Мыши с отсутствием гена *SIRT1* умирают перинатально и имеют множественные аномалии развития сердца, почек, нарушенный гаметогенез, задержку роста плодов [12].

SIRT1 представляет собой деацетилазу, которая участвует в регуляции адипогенеза, стабильности генома, функции митохондрий [12]. Получены множественные доказательства того, что *SIRT1* является ключевым регулятором продолжительности жизни у некоторых видов организмов, пролиферации и дифференцировки клеток [1, 2]. Активатор *SIRT1* ресвератрол повышал

продолжительность жизни у дрожжей, червей, мух. Ресвератрол также способствовал большей выживаемости эмбриональных фибробластов мыши и угнетению апоптоза в процессе их культивирования [17]. Стимулирование активности *SIRT1* увеличивало продолжительность жизни и улучшало состояние здоровья мышей [10, 12].

С другой стороны, ранее нами было установлено, что блокирование деацетилаз способствует активации пролиферации и развитию предопухолевых состояний в матке мышей [3]. *SIRT1* в высоких концентрациях присутствует в эмбриональных стволовых клетках, а по мере дифференцировки его экспрессия снижается. Дифференцировка и пролиферация гемопоэтических стволовых клеток зависит во многом от *SIRT1*. У мышей с нокаутным геном *SIRT1* снижена пролиферация и продолжительность жизни гемопоэтических стволовых клеток [10, 16]. Было показано, что *SIRT1* способствовал пролиферации и дифференцировке стволовых клеток скелетной мышечной ткани [15].

Проведенные ранее исследования установили, что сосудистый эндотелиальный фактор роста усиливает миграцию и пролиферацию эндотелиальных стволовых клеток. Синтез *SIRT1* усиливается сосудистым эндотелиальным фактором роста в эндотелиальных стволовых клетках [9]. Установлено, что выключение гена *SIRT1* в эндотелиальных стволовых клетках ингибировало их пролиферацию и миграцию [9]. Ресвератрол значительно тормозит стимулирующее действие трансформирующего фактора роста-β на синтез сосудистого эндотелиального фактора роста в остеобластах. Активация *SIRT1* также блокировала стимулирующее действие трансформирующего фактора роста-β на продукцию сосудистого эндотелиального фактора роста остеобластами [6]. *SIRT1* приводит к повышению функциональной активности интерстициальных фибробластов поч-

* Работа поддержана РФФИ 16-44-210018.

ки мышей, что проявляется повышенной выработкой коллагена, фибронектина, гладкомышечного актина- α [14].

Исследования *SIRT1* в коже ограничиваются несколькими работами, выполненными на культивируемых фибробластах дермы. Показано, что *SIRT1* блокирует выработку фибробластами дермы матриксных металлопротеиназ 1 и 3 [13]. В модели индуцированного ультрафиолетовым облучением старения кожи было установлено, что *SIRT1* блокирует выработку матриксной металлопротеиназы-9 фибробластами кожи мышей [7].

Таким образом, имеющиеся данные о *SIRT1* показывают его большое значение для процессов старения организма. Анализ литературы выявил практически полное отсутствие сведений о локализации, уровне экспрессии и возрастных изменениях *SIRT1* в коже человека. Поэтому целью нашего исследования стало изучение локализации и уровня экспрессии *SIRT1* в структурах кожи человека в разные стадии онтогенеза, а также выяснение роли *SIRT1* в старении кожи, что, надеемся, позволит не только раскрыть новые биологические закономерности возрастных перестроек в коже, а также определить подходы для предотвращения этих изменений.

Материалы и методы

Исследование проведено на аутопсийном материале кожи нижней части передней поверхности шеи у плодов человека и людей, умерших от различных причин от 20 нед беременности и до 85 лет. В области забора кусочков кожи для исследования не было повреждений, признаков воспаления и других патологических изменений. Исследование одобрено этическим комитетом медицинского факультета Чувашского государственного университета им. И. Н. Ульянова (протокол № 3/4 от 31.01.14). Кусочки кожи фиксировали в 4 % параформальдегиде и заливали в парафин, затем изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм.

SIRT1, ядерный антиген пролиферирующих клеток (*PCNA*) выявляли непрямым иммуногистохимическим методом. Все препараты проводили по этапам иммуногистохимической реакции одновременно. В качестве первых антител использовали поликлональные кроличьи антитела против *SIRT1* (ab32441, «Abcam», Великобритания) в разведении 1:50 и поликлональные кроличьи антитела против *PCNA* (АНР1419, «AbD Serotec», Великобритания) в разведении 1:100

на 0,05 М трис-буфере с pH 7,4 с добавлением 0,15 М натрия хлорида [4]. В качестве вторых антител использовали визуализирующую систему «EnVision», конъюгированную с пероксидазой (К 4002, «DakoCytomation», Дания). Выявление пероксидазы проводили с использованием 3,3-диаминобензидина. Продукт реакции окрашивался в коричневый цвет. В качестве контроля специфичности окрашивания применяли такую же процедуру обработки срезов, где вместо первых антител использовали нормальную кроличью сыворотку в конечной концентрации 1 %.

В срезах определяли интенсивность окрашивания фибробластов дермы на *SIRT1*. Для этого препараты фотографировали при ув. 40 с помощью микроскопа «Olympus CX-21» и цифровой камеры «Olympus Camedia 4040z». В каждом случае было сфотографировано как минимум 3–5 случайно выбранных полей зрения. Далее фотографии анализировали в программе Sigma Scan Pro 5.0 («Systat Software Inc», США). Интенсивность окраски на *SIRT1* определяли по показателю оптической плотности, которую находили путем сравнения интенсивности окрашивания положительно окрашенных структур — F и фона препарата — F_0 (неокрашенные структуры ткани) с использованием круглого программного зонда диаметром 19 пикселей. Оптическую плотность рассчитывали по формуле $D = \lg(F_0/F)$ и выражали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.).

Для определения количества фибробластов с положительной окраской на *PCNA* в дерме сначала препараты фотографировали при ув. 40. В каждом случае было сфотографировано как минимум 3–5 случайно выбранных полей зрения. Далее с помощью программы Sigma Scan pro 5.0 подсчитывали окрашенные на *PCNA* ядра фибробластов и общее число фибробластов в выбранном участке препарата. В результате, вычисляли долю фибробластов с положительной окраской на *PCNA*.

Результаты группировали по возрастному принципу: 1-я группа — 20–40 нед беременности; 2-я — 0–20 лет; 3-я — 21–40 лет; 4-я — 41–60 лет; 5-я — 61–85 лет. Для исследования *SIRT1* и общего числа фибробластов было использовано 124 кусочка кожи 55 женщин и 69 мужчин: 1-я группа — 20 образцов кожи; 2-я — 27; 3-я — 29; 4-я — 21; 5-я — 27. Для исследования доли *PCNA*-положительных фибробластов было использовано 139 кусочков кожи 35 женщин и 104 мужчин: 1-я группа — 25 образцов; 2-я —

33; 3-я — 40; 4-я — 26; 5-я — 15. По каждой группе данных рассчитывали средние арифметические величины (M) и их стандартные ошибки (m). Достоверность влияния возраста на исследуемые параметры кожи оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Взаимосвязи возраста и параметров кожи оценивали с применением непараметрического рангового корреляционного анализа Спирмена. Корреляционный анализ выполняли без разделения данных на возрастные группы. Достоверными считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Фибробласты с положительной окраской на *SIRT1* были выявлены нами в дерме человека во всех возрастных группах (рис. 1). Интенсивность специфического окрашивания на *SIRT1* в 1-й группе (20–40 нед беременности) составила $0,077 \pm 0,006$ ед. опт. пл. (см. рис. 1; рис. 2).

Во 2-й группе (0–20 лет) уровень экспрессии *SIRT1* в фибробластах дермы понижался на 11,77 % по сравнению с данными 1-й группы. Интенсивность окрашивания фибробластов на *SIRT1* во 2-й группе была равна $0,068 \pm 0,004$ ед. опт. пл. (см. рис. 1, 2). В 3-й группе (21–40 лет) степень окрашивания фибробластов на *SIRT1* была меньше по сравнению с 1-й группой и практически равна аналогичному значению 2-й группы. В этой группе степень окрашивания фибробластов дермы на *SIRT1* составила $0,067 \pm 0,004$ ед. опт. пл. (см. рис. 1, 2). В 4-й группе (41–60 лет) уровень экспрессии *SIRT1* в фибробластах дермы был равен $0,058 \pm 0,004$ ед. опт. пл., то есть он понижался на 13,23 % по сравнению с данными предыдущей группы. Уровень экспрессии *SIRT1* в фибробластах дермы в 5-й группе (61–85 лет) был практически равным показателю 4-й группы. Интенсивность окраски фибробластов дермы 5-й группы была равна $0,059 \pm 0,003$ ед. опт. пл. Однофакторный дисперсионный анализ выявил

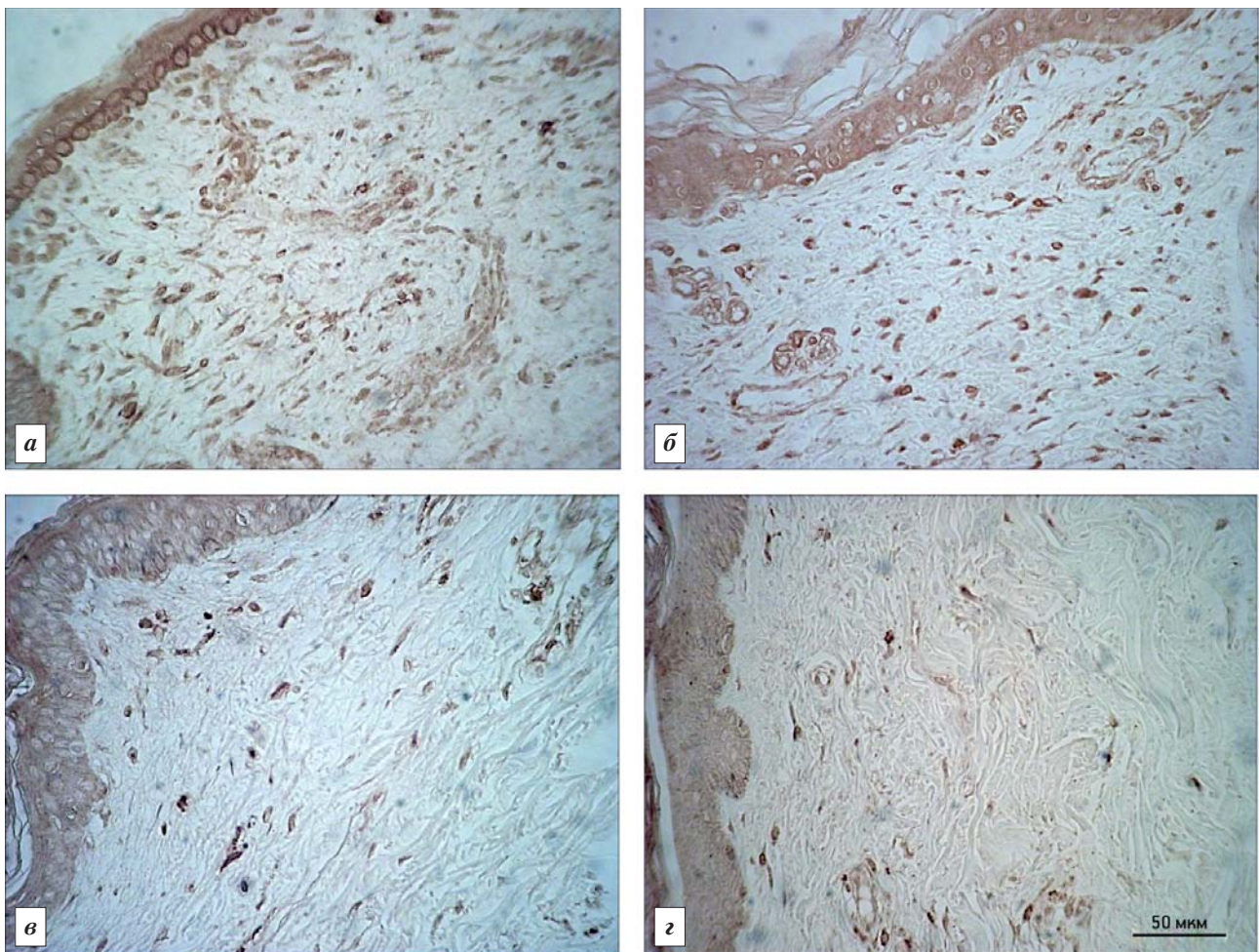


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание на сиртуин 1 в коже плода человека и людей разного возраста.

а — кожа плода мужского пола на сроке 28 нед беременности; б — кожа мальчика 4 лет; в — кожа мужчины 51 года; г — кожа мужчины 72 лет

наличие достоверного влияния ($p < 0,001$) возраста на изменение интенсивности окраски фибробластов дермы человека на *SIRT1*. Корреляционный анализ показал наличие отрицательной достоверной связи между увеличением возраста и уменьшением содержания *SIRT1* в фибробластах дермы человека ($r = -0,26$; $p < 0,05$). Корреляционный анализ выявил наличие достоверной ($r = 0,31$; $p < 0,05$) положительной корреляции между возрастным снижением уровня *SIRT1* и уменьшением численности фибробластов в дерме человека.

Подсчет общего числа фибробластов в дерме показал, что численность этих клеток уменьшалась с возрастом. Наиболее существенное уменьшение численности фибробластов нами было отмечено на протяжении от 20 нед беременности до 20 лет (рис. 3). Однофакторный дисперсионный анализ также выявил достоверное влияние возраста на снижение числа фибробластов в дерме ($p < 0,001$). Изучение численности *PCNA*-положительных фибробластов также выявило прогрессивное уменьшение числа популяции данных клеток с возрастом (см. рис. 3). Наиболее заметное уменьшение численности *PCNA*-позитивных фибробластов наблюдается с 21 года. Однофакторный дисперсионный анализ выявил наличие достоверного влияния ($p < 0,001$) возраста на уменьшение доли *PCNA*-положительных фибробластов в дерме человека.

Нами был проведен анализ по определению значения пола для различий в возрастных изменениях параметров дермы. Для этого мы провели однофакторный дисперсионный анализ, где в каче-

стве фактора была использована половая принадлежность. Результаты этого анализа не выявили достоверного ($p < 0,05$) влияния пола на изменение численности и степени окрашивания фибробластов дермы на *SIRT1*, общего числа и доли *PCNA*-положительных фибробластов.

Таким образом, результаты работы показали, что в период от рождения до 85 лет происходит снижение уровня *SIRT1* в фибробластах дермы. Наиболее резкое его снижение наблюдается между 1-й и 2-й возрастной группой. В этот же временной интервал происходит существенное снижение пролиферативной активности фибробластов. С 41 года снова наблюдается существенное уменьшение уровня *SIRT1* в фибробластах дермы. В этот же период также происходит заметное уменьшение пролиферативной активности фибробластов.

О влиянии *SIRT1* на процессы роста, пролиферации тканей, апоптоза имеются различные данные. Одна группа работ демонстрирует стимулирующее влияние *SIRT1* на пролиферацию разных типов клеток, включая фибробласты [2, 8, 14]. Помимо активации пролиферации для *SIRT1*, имеются сведения о его блокирующем влиянии на процесс клеточного деления и прохождения клеток по клеточному циклу. *SIRT1* ингибировал пролиферацию и миграцию культивируемых гладкомышечных клеток кровеносных сосудов [5]. Установлено, что ресвератрол дозозависимо ингибировал пролиферацию клеток рака желудка путем нарушения прохождения клеток по G1-периоду клеточного цикла [18]. Гиперэкспрессия *SIRT1*, обусловленная применением ресвератрола, сопровождалась угнетением пролиферации и активации апоптоза культивируемых клеток микроглии [8]. Стимулятор синтеза *SIRT1* ресвератрол уменьшал пролиферацию и самообновление нейронов в гиппокампе, нейрональных стволовых клеток у мышей, а у мутантных мышей без гена *SIRT1* эти процессы протекали активнее [11]. Ранее нами было установлено, что блокирование деацетилаз способствует активации пролиферации и развитию предопухолевых состояний в матке у мышей [3]. Наши данные однозначно показали, что снижение активности пролиферации фибробластов дермы сочетается с уменьшением содержания в них *SIRT1*. Следовательно, в физиологических условиях в фибробластах дермы *SIRT1* оказывает активирующее влияние на пролиферацию, а снижение его уровня сопровождается снижением активности пролиферативных процессов.

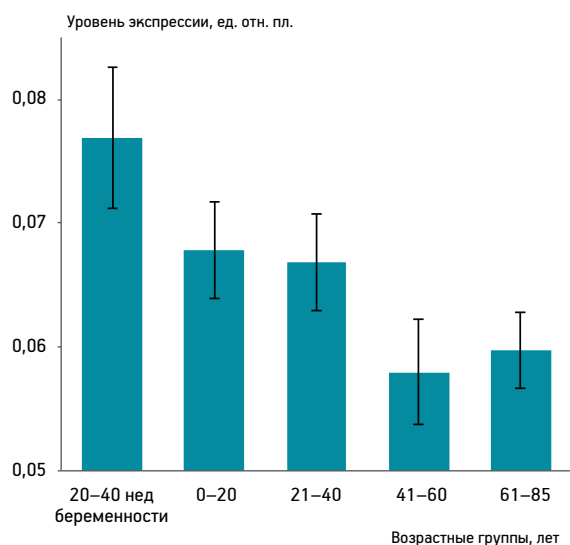


Рис. 2. Интенсивность окраски фибробластов дермы плодов человека и людей разного возраста на сиртуин 1; $M \pm m$; $p < 0,001$ — однофакторный дисперсионный анализ

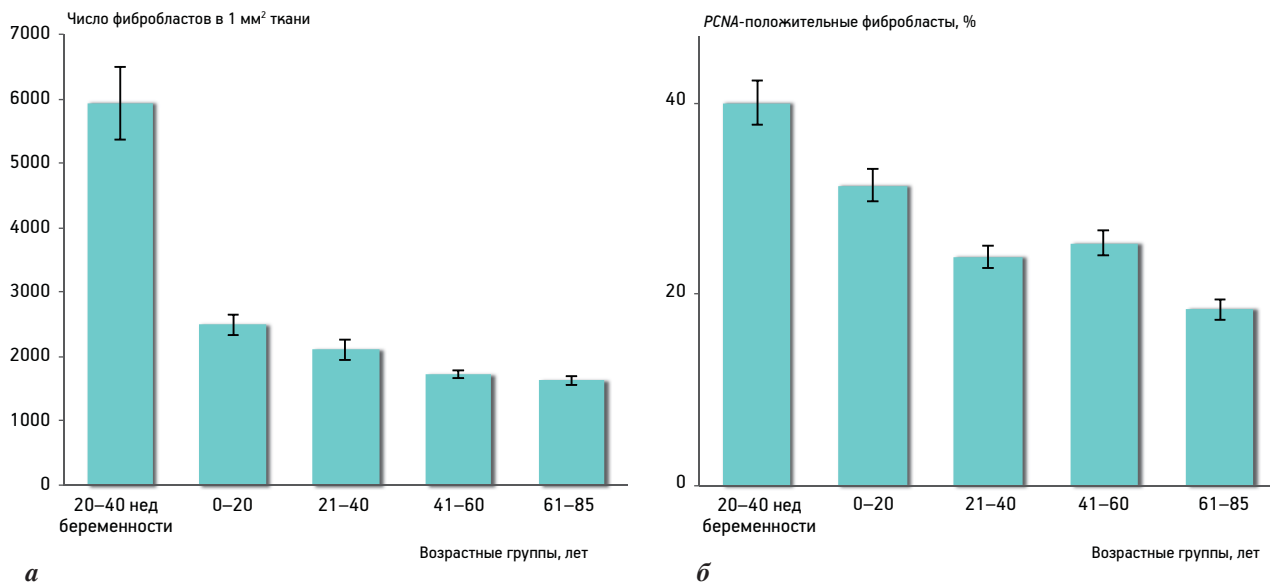


Рис. 3. Общее число (а) и доля (б) PCNA-положительных фибробластов в дерме человека в разные возрастные периоды; $M \pm t$; $p < 0,001$ — однофакторный дисперсионный анализ

Выводы

Уменьшение содержания *SIRT1* в фибробластах дермы, происходящее от рождения до 85 лет и совпадающее со снижением их пролиферативной активности, может рассматриваться в качестве одного из механизмов ингибирования пролиферации фибробластов дермы, что способствует развитию клинических признаков старения кожи.

Литература

1. Braidy N., Poljak A., Grant R. et al. Differential expression of sirtuins in the aging rat brain // *Front. Cell. Neurosci.* 2015. Vol. 9. P. 167.
2. Ghosh S., Zhou Z. SIRTain regulators of premature senescence and accelerated aging // *Protein Cell.* 2015. Vol. 6. № 5. P. 322–333.
3. Gunin A.G., Kapitova I.N., Suslonova N.V. Effects of histone deacetylase inhibitors on estradiol-induced proliferation and hyperplasia formation in the mouse uterus // *J. Endocr.* 2005. Vol. 185. P. 539–549.
4. Gunin A.G., Petrov V.V., Golubtsova N.N. et al. Age-related changes in angiogenesis in human dermis // *Exp. Gerontol.* 2014. Vol. 55. P. 143–151.
5. Hwang J.S., Ham S.A., Yoo T. et al. Sirtuin 1 mediates the actions of peroxisome proliferator-activated receptor δ on the oxidized low-density lipoprotein-triggered migration and proliferation of vascular smooth muscle cells // *Molec. Pharmacol.* 2016. Vol. 90. № 5. P. 522–529.
6. Kuroyanagi G., Otsuka T., Yamamoto N. et al. Resveratrol suppresses TGF- β -induced VEGF synthesis in osteoblasts: Inhibition of the p44/p42 MAPKs and SAPK/JNK pathways // *Exp. Ther. Med.* 2015. Vol. 9. № 6. P. 2303–2310.
7. Lee J.S., Park K.Y., Min H.G. et al. Negative regulation of stress-induced matrix metalloproteinase-9 by Sirt1 in skin tissue // *Exp. Dermatol.* 2010. Vol. 19. № 12. P. 1060–1066.
8. Li L., Sun Q., Li Y. et al. Overexpression of SIRT1 induced by resveratrol and inhibitor of miR-204 suppresses activation and proliferation of microglia // *J. Molec. Neurosci.* 2015. Vol. 56. № 4. P. 858–867.
9. Li W., Du D., Wang H. et al. Silent information regulator 1 (SIRT1) promotes the migration and proliferation of endothelial progenitor cells through the PI3K/Akt/eNOS signaling pathway // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015. Vol. 8. № 3. P. 2274–2287.
10. Liu B., Ghosh S., Yang X. et al. Resveratrol rescues SIRT1-dependent adult stem cell decline and alleviates progeroid features in laminopathy-based progeria // *Cell. Metab.* 2012. Vol. 16. № 6. P. 738–750.
11. Ma C.Y., Yao M.J., Zhai Q.W. et al. SIRT1 suppresses self-renewal of adult hippocampal neural stem cells // *Development.* 2014. Vol. 141. № 24. P. 4697–4709.
12. Mercken E.M., Mitchell S.J., Martin-Montalvo A. et al. SIRT1 extends survival of male mice on a standard diet and preserves bone and muscle mass // *Aging Cell.* 2014. Vol. 13. № 5. P. 787–796.
13. Ohguchi K., Itoh T., Akao Y. et al. SIRT1 modulates expression of matrix metalloproteinases in human dermal fibroblasts // *Brit. J. Dermatol.* 2010. Vol. 163. № 4. P. 689–694.
14. Ponnusamy M., Zhuang M.A., Zhou X. et al. Activation of sirtuin-1 promotes renal fibroblast activation and aggravates renal fibrogenesis // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2015. Vol. 354. № 2. P. 142–151.
15. Rathbone C.R., Booth F.W., Lees S.J. SIRT1 increases skeletal muscle precursor cell proliferation // *Europ. J. Cell. Biol.* 2009. Vol. 88. № 1. P. 35–44.
16. Rimmele P., Bigarella C.L., Liang R. et al. Aging-like phenotype and defective lineage specification in SIRT1-deleted hematopoietic stem and progenitor cells // *Stem Cell Reports.* 2014. Vol. 3. № 1. P. 44–59.
17. Ulakcsai Z., Bagamery F., Vincze I. et al. Protective effect of resveratrol against caspase 3 activation in primary mouse fibroblasts // *Croat. Med. J.* 2015. Vol. 56. № 2. P. 78–84.
18. Yang Q., Wang B., Zang W. et al. Resveratrol inhibits the growth of gastric cancer by inducing G1 phase arrest and senescence in a Sirt1-dependent manner // *PLoS One.* 2013. Vol. 8. № 11. P. e70627.

N. N. Golubtsova, F. N. Filippov, A. G. Gunin

AGE-RELATED CHANGES IN THE CONTENT OF SIRTUIN 1 IN FIBROBLASTS OF HUMAN DERMIS

Chuvash State University, 15, Moskovsky pr., Cheboksary, 428015; e-mail: histol@mail.ru

The goal of our work was to examine content of sirtuin 1 in human skin at different ages to uncover a role of sirtuin 1 in aging of human skin. Sirtuin 1, proliferating cells nuclear antigen (*PCNA*) were detected by indirect immunohistochemistry in sections of the skin of human fetuses died antenatally from 22 to 40 weeks of pregnancy and humans from birth to 85 years old, died from various causes. Our results showed that the level of sirtuin 1 in dermal fibroblasts was decreased from prenatal period to 85 years old. Both the number of fibroblasts and their proliferative activity were also decreased through life. Age-related decrease in sirtuin 1 content in dermal fibroblasts is statistically significant correlated with age-dependent decrease in proliferation. Therefore, lowering of sirtuin 1 content in dermal fibroblasts occurring with age can be regarded as a mechanism which leads to inhibition of proliferation of dermal fibroblasts.

Key words: *aging, ontogenesis, skin, dermis, fibroblasts, sirtuin 1, PCNA*

И. А. Золотовская, И. Л. Давыдкин

КОГНИТИВНО-ЦИТОКИНОВЫЙ ЭФФЕКТ НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА С ОСТЕОАРТРОЗОМ

Самарский государственный медицинский университет, Россия, 4430999, Самара, ул. Чапаевская, 89;
e-mail: zolotovskay@list.ru

Цель исследования — изучение влияния длительной терапии нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП) на динамику степени выраженности когнитивного дефицита и ее ассоциацию с изменением уровня цитокинов у пациентов пожилого возраста с остеоартрозом (ОА). Проспективное наблюдательное исследование в течение $540 \pm 5,5$ дня проходило в два этапа: I — этап активной лекарственной терапии НПВП; II — этап немедикаментозной коррекции ОА. В исследование были включены 128 больных 65–75 лет (средний возраст $70 \pm 4,6$ года, 10,2% мужчин, 89,8% женщин) с ОА. Пациентов основной группы разделили на четыре подгруппы: 1-я ($n=30$) — получала эторикоксиб (60 мг/сут); 2-я ($n=32$) — целекоксиб (200 мг/сут); 3-я ($n=32$) — нимесулид (200 мг/сут); 4-я ($n=34$) — мелоксикам (7,5 мг/сут). Контрольную группу составили 40 человек с ОА и аналогичными клинико-демографическими характеристиками, не принимавших НПВП в течение предыдущих 6 мес и в ходе исследования. Исходно определяли индексы боли и скованности по WOMAC, а также во время всех визитов оценивали состояние пациентов по Монреальской шкале когнитивной оценки (MoCA) и проводили лабораторную диагностику содержания в сыворотке крови трансформирующего ростового фактора $\beta 1$, $IL-1\beta$ и $IL-6$. У всех пациентов основной группы отмечено статистически значимое снижение уровня цитокинов в период 1–3-го визита, также наблюдали увеличение показателя когнитивных функций по шкале MoCA с высокой степенью корреляции по отношению к показателям цитокинов к концу исследования. Результаты исследования позволяют говорить о возможности влияния на когнитивные функции терапии НПВП у пациентов пожилого возраста с ОА в условиях реальной клинической практики.

Ключевые слова: остеоартроз, нестероидные противовоспалительные препараты, цитокины, когнитивные функции

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) — один из самых часто используемых классов лекарственных средств. Несмотря

на колоссальный клинический опыт применения НПВП и их доказанную анальгетическую, противовоспалительную и жаропонижающую активность, они привлекают пристальное внимание. Не угасает и интерес к изучению новых возможностей их применения в реальной клинической практике.

Основной механизм действия НПВП — ингибирование двух изоформ фермента циклооксигеназы (ЦОГ) — ЦОГ-1 и ЦОГ-2, которые первыми участвуют в каталитических процессах, направленных на синтез простагландина и тромбоксана. Дальнейший каскад биохимических реакций регулируется этими важнейшими эйкозаноидами, влияющими на самый широкий спектр физиологических процессов, в числе которых воспаление, участие в изменении тонуса гладких мышц бронхов, мочеполовой и сосудистой систем, ЖКТ, при этом направленность изменений различна и зависит, в частности, от типа простагландинов и условий реализации происходящих реакций.

В последние годы особый интерес вызывают эпидемиологические исследования, где показана возможность влияния НПВП на предупреждение развития ассоциированных с возрастом заболеваний, в частности болезни Альцгеймера (БА) [7]. Социально-экономическое бремя ущерба от БА обусловлено прогрессированием когнитивного дефицита и деменции. С учетом изменения демографической ситуации во всем мире, увеличением продолжительности жизни уже к 2050 г. будут иметь место серьезные популяционные «вызовы», обусловленные значительным числом лиц с дементными расстройствами [12]. В связи с постарением населения ведутся самые активные поиски фармакологически активных лекарственных молекул не только для лечения уже верифицированной

БА, но для возможности предотвращения и/или более поздней временной инициации развития деменции любого типа у лиц пожилого и старческого возраста.

Особый интерес для исследования представляют НПВП с определенной профилактической эффективностью в отношении риска развития БА. Результаты ряда экспериментальных работ продемонстрировали значимость ЦОГ-2 на этапах развития БА [13, 22]. Более того, рассматривают вопрос о том, что ингибирование ЦОГ-2 с опосредованным влиянием через простагландин *E* на растворимый β -амилоид дает возможность уменьшить и предотвратить развитие деменции [16, 21]. Накопленные данные позволяют предполагать, что НПВП с их воздействием на нейрональную ЦОГ-2 могут быть применены для ранней профилактики деменции. Изучение данного вопроса лежит не только в плоскости научного интереса, но способствует стратегически иному обоснованию применения НПВП.

Сложность клинических исследований в реальной клинической практике связана с формированием однородной выборки пациентов старшей возрастной группы, которым показана и обоснована длительная терапия НПВП, в том числе с учетом коморбидной патологии, включающей, в первую очередь, сердечно-сосудистые заболевания. В качестве такой группы нами рассмотрены пациенты с остеоартрозом (ОА). Это заболевание высоко ассоциировано с возрастом и требует включения НПВП в схемы коррекции [8]. При этом назначение НПВП (выбор, доза, длительность применения) зависит от многих индивидуальных параметров больного, а также от показаний, представленных в инструкции к препарату, и должно соответствовать Российским клиническим рекомендациям по оптимизации рациональных подходов к назначению НПВП [1].

Целью исследования явилась оценка влияния длительной терапии НПВП на динамику степени выраженности когнитивного дефицита и ее ассоциацию с изменением уровня цитокинов у пациентов пожилого возраста с ОА.

Материалы и методы

Проспективное наблюдательное исследование в течение $540 \pm 5,5$ дня было проведено в два этапа: I — этап активной лекарственной терапии НПВП; II — этап немедикаментозной коррекции ОА. В I этап были включены 128 больных

65–75 лет с ОА (средний возраст $70 \pm 4,6$ года, 13 (10,2%) мужчин, 115 (89,8%) женщин) — основная группа. Длительность этого этапа составила в среднем $180,5 \pm 5,5$ дня, он охватил первые три визита (точки наблюдения — Т): Т1 — период включения в исследование; Т2 — наблюдение через 90 ± 3 дня после включения; Т3 — наблюдение через 180 ± 3 дня, а также Т0 — период скрининга. Наблюдение за пациентами после завершения лечения НПВП представлено двумя визитами II этапа: Т4 — через 360 ± 3 дня и Т5 — через 540 ± 3 дня от начала включения в исследования. На II этапе всем больным рекомендованы методы лечебной физкультуры и кинезиотерапии по разработанным программам самостоятельно и/или в условиях отделения восстановительного лечения амбулаторно.

Схема исследования предполагала жесткие условия включения для формирования, в первую очередь, однородных групп больных. Критериям включения отвечали: 1) амбулаторные пациенты с верифицированным диагнозом ОА коленных суставов в соответствии с критериями, опубликованными R. Altman и соавт. [4], и объективной информацией, подтвержденной данными автоматизированной системы АИС «Поликлиника»; 2) больные, в анамнезе которых обращение в данном календарном году по поводу болевого синдрома было первым и которые ранее, в течение предыдущих 6 мес, не принимали НПВП по какому-либо поводу; 3) мужчины и женщины старше 65 лет; 4) больные с когнитивным статусом 24 балла и более по Монреальской шкале когнитивной оценки (MoCA); 5) пациенты, которые подписали добровольное информированное согласие на использование и обработку персональных данных. Критерии исключения: 1) перенесенный ранее инсульт и/или транзиторная ишемическая атака; 2) эрозивно-язвенные изменения слизистой оболочки желудка или двенадцатиперстной кишки; 3) активное желудочно-кишечное кровотечение; 4) цереброваскулярное или иное кровотечение; 5) воспалительные заболевания кишечника (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит) в фазе обострения; 6) гемофилия и другие нарушения свертываемости крови; 7) выраженная сердечная недостаточность (II–IV ФК по классификации NYHA); 8) выраженная печеночная недостаточность (>9 баллов по шкале Чайлда–Пью) или активное заболевание печени; 9) почечная недостаточность тяжелой степени (клиренс креатинина <30 мл/мин), прогрессирующие заболевания почек; 9) период после

аортокоронарного шунтирования; 10) клинически выраженная ИБС; 11) стойко сохраняющиеся значения АД > 140/90 мм рт. ст.; 12) прием в режиме постоянной терапии лекарственных средств, относящихся к классу антиоксидантов, ноотропов и нейропротекторов.

В качестве лекарственной терапии были выбраны следующие НПВП: эторикоксиб, целекоксиб, нимесулид и мелоксикам.

Методом конвертов пациенты основной группы были рандомизированы на четыре подгруппы, сопоставимые по клинико-демографическим показателям (данные представлены в табл. 1). Больные 1-й подгруппы ($n=30$) получали эторикоксиб в дозе 60 мг/сут, 2-й ($n=32$) — целекоксиб (200 мг/сут), 3-й ($n=32$) — нимесулид (100 мг/сут), 4-й ($n=34$) — мелоксикам (7,5 мг/сут). Контрольную группу составили 40 человек с ОА и аналогичными клинико-демографическими характеристиками, не принимавших НПВП в течение предыдущих 6 мес и в ходе исследования. Длительность терапии составила $179 \pm 2,8$ дня.

Во время Т0 (скрининг) проводили процедуру тщательного последовательного ознакомления пациентов со схемой исследования, информировали их о всевозможных побочных эффектах терапии НПВП, пациенты подписывали доброволь-

ное информированное согласие на использование и обработку персональных данных и участие в исследовании. Также все пациенты были извещены, что в любой момент они могут выйти из исследования по любой причине. Для пациентов контрольной группы дополнительным условием выхода из исследования являлась возникшая по любому поводу необходимость приема НПВП (за исключением ацетилсалициловой кислоты) длительно — более 14 дней.

Во время Т1 определяли значения индекса WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities) — высокоинформативного показателя, который можно использовать для оценки эффективности медикаментозного лечения больных ОА [5]. Тест WOMAC представляет собой опросник для самостоятельного заполнения больными (в течение 5–7 мин) из 24 вопросов, характеризующих выраженность боли (5 вопросов), скованность (2 вопроса) и функциональную способность больных (17 вопросов).

Во время всех визитов оценивали когнитивный статус по Монреальской шкале (The Montreal Cognitive Assessment — MoCA), содержащей разделы оценки зрительно-пространственного восприятия, называния предметов, внимания, речи, абстрагирования, ориентации и отсроченного воспроизведения символов. Максимальное значе-

Таблица 1

Основные клинико-демографические показатели у больных с остеоартрозом на момент включения в исследование (Т1)

| Характеристика больных | Подгруппы | | | | Контрольная группа, $n=40$ |
|------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------------------|
| | 1-я, $n=30$ | 2-я, $n=32$ | 3-я, $n=32$ | 4-я, $n=34$ | |
| Возраст, лет | 69,21±6,35 | 70,13±5,58 | 71,52±6,81 | 69,54±5,99 | 70,5±5,11 |
| Женщины, абс. число (%) | 27 (90) | 29 (90,6) | 28 (87,5) | 31 (91,2) | 35 (87,5) |
| Мужчины, абс. число (%) | 3 (10) | 3 (9,4) | 4 (12,5) | 3 (8,8) | 5 (12,5) |
| Средняя длительность остеоартроза, лет | 8,9±3,56 | 9,8±4,61 | 10,2±4,27 | 9,5±3,85 | – |
| ИМТ, кг/м ² | 30,42±1,09 | 31,23±1,07 | 30,92±1,11 | 31,38±1,06 | 31,92±1,18 |
| Боль по WOMAC, мм | 289,35±32,84 | 292,44±32,31 | 299,87±31,65 | 290,26±30,52 | – |
| Индекс по WOMAC, мм | 1086,18±49,67 | 1075,52±51,33 | 1069,71±56,24 | 1083,32±49,28 | – |
| Опросник MoCA, баллы | 25,3±0,6 | 24,6±0,3 | 24,8±0,5 | 25,5±0,7 | 25,3±0,9 |
| Артериальная гипертензия, абс. число (%) | 30 (100) | 32 (100) | 32 (100) | 34 (100) | 40 (100) |
| Сахарный диабет, абс. число (%) | 10 (30,3) | 12 (37,5) | 11 (34,3) | 10 (29,4) | 13 (32,5) |
| Стенокардия напряжения, абс. число (%) | | | | | |
| I ФК | 24 (80) | 27 (84,4) | 26 (81,3) | 25 (73,5) | 33 (82,5) |
| II ФК | 6 (20) | 5 (15,6) | 6 (18,8) | 9 (26,5) | 7 (17,5) |

ние составляет 30 баллов, рекомендованное нормальное значение — 26 баллов и более [18]. Для оценки реализации противовоспалительной активности проводили лабораторные исследования: определение содержания в сыворотке крови трансформирующего фактора роста $\beta 1$ ($TGF-\beta 1$), $IL-1\beta$ и $IL-6$, применяли метод иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов на фотометре для микропланшет 680 («Bio-Rad Laboratories», США) и программного обеспечения Microplate Manager (Япония). Концентрацию $TGF-\beta 1$ определяли иммуноферментным методом в строгом соответствии с инструкцией производителя. Для количественного определения $TGF-\beta 1$ в сыворотке крови использовали тест-системы («DRG Instruments GmbH», Германия) с порогом чувствительности 1,9 пг/мл.

Полученные данные обрабатывали с помощью стандартной программы Microsoft Excel и пакета статистических программ Statistica 6.0 for Windows. Описание нормально распределенных количественных признаков приведено с указанием среднего значения признака и среднего квадратичного отклонения ($M \pm SD$). Для анализа использована описательная статистика с применением параметрического t -критерия Стьюдента. Сравнение групп проводили по методам непараметрической статистики — ранговому тесту Манна—Уитни (для связанных групп) и критерию Вилкоксона (для несвязанных групп). Для исследования взаимосвязи количественных признаков использован ранговый коэффициент корреляции Спирмена (r). Различия между изучаемыми параметрами признавали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской декларации. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Самарского ГМУ.

Результаты и обсуждение

Исследование завершили 113 (88,3%) больных основной группы, 15 (11,7%) больных были из исследования из-за отказа принимать НПВП или соблюдения условий протокола. В контрольной группе завершили исследование 35 (87,5%) пациентов, 5 (12,5%) человек отказались от дальнейшего наблюдения и/или были исключены по причине несоблюдения условий протокола.

Полученные данные анализа групп пациентов на момент включения в исследование свидетельствовали, что пациенты старшей возрастной группы с ОА — это люди с выраженной коморбидной патологией, а именно с наличием артериальной гипертензии, сахарного диабета, ИБС (см. табл. 1). Больные в подгруппах по представленным характеристикам статистически достоверно ($p > 0,05$) не различались между собой.

Средний балл по шкале MoCA (табл. 2) на начало исследования, в том числе в контрольной группе, соответствовал умеренным и легким когнитивным нарушениям. По анализу данных опросника MoCA, у пациентов обеих групп были отмечены преимущественно нейродинамические мнестические расстройства в виде снижения параметров, отражающих, в первую очередь, оперативную память и внимание, на фоне относительно сохранных модальностей, характеризующих зрительно-пространственные функции, называние, ориентацию, речь, абстракцию. Эти данные являются ожидаемыми с учетом фактора возраста. Показатели свидетельствовали, что наличие ОА не дало статистически значимых различий в представленных выборках по уровню когнитивного дефицита.

Полученные в период приема НПВП результаты в динамике сравнения (Т1—Т3) показали, что имелась незначительная тенденция улучшения когнитивных функций у пациентов всех под-

Динамика когнитивного статуса у больных

| Показатель | Подгруппы, n на Т1/Т2/Т3 | | | | | |
|----------------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------------|----------|-----------|
| | 1-я, n=30/29/28 | | | 2-я, n=32/30/28 | | |
| Опросник MoCA, баллы | 25,3±0,6 | 25,2±0,4 | 26,7±0,8* | 24,6±0,3 | 24,4±0,5 | 25,7±0,8* |
| | Подгруппы, n на Т4/Т5 | | | | | |
| | 1-я, n=27/26 | | | 2-я, n=28/27 | | |
| | 27,3±0,9* | 27,9±0,5* | 26,0±0,9* | 26,4±0,9* | | |

Примечание. Здесь и табл. 3, 4: * статистически достоверные различия при $p < 0,05$; Т — точка наблюдения (визит).

групп, которая была статистически недостоверна, за исключением пациентов 1-й и 2-й подгрупп, где показатель по шкале МоСА был статистически значимо лучше на Т3, чем на Т2: для 1-й подгруппы — $26,7 \pm 0,8$ балла ($\rho=0,032$), для 2-й — $25,7 \pm 0,8$ балла ($\rho=0,037$). В контрольной группе показатель когнитивной функции — без существенной динамики. В период дальнейшего наблюдения за больными всех четырех подгрупп была отмечена положительная динамика когнитивного статуса с достоверным увеличением балла по шкале МоСА в сравнении между Т3–Т4 и Т4–Т5. Следует отметить, что полученные результаты в контрольной группе за 1,5 года наблюдения продемонстрировали следующее: за 6 мес не было отмечено динамики показателя когнитивного статуса, статистически значимые результаты ухудшения когнитивных функций выявлены на Т4 ($23,1 \pm 0,8$ балла, $\rho=0,024$) и Т5 ($22,1 \pm 0,7$ балла, $\rho=0,038$).

В результате лабораторных исследований (табл. 3) статистически значимо более высокую концентрацию цитокинов наблюдали на начало исследования у пациентов всех подгрупп по сравнению с контрольной. Так, у пациентов 1-й подгруппы отмечены статистически значимо высокие показатели $TGF-\beta 1$ ($\rho=0,001$), $IL-1\beta$ ($\rho=0,0013$), $IL-6$ ($\rho=0,0024$) по сравнению с аналогичными параметрами цитокинового статуса у лиц контрольной группы. У пациентов 2-й подгруппы также получены результаты, отражающие статистически значимо высокие $TGF-\beta 1$ ($\rho=0,0012$), $IL-1\beta$ ($\rho=0,0012$), $IL-6$ ($\rho=0,0023$) по сравнению с аналогичными параметрами цитокинового статуса у лиц контрольной группы. Для пациентов 3-й подгруппы показатели $TGF-\beta 1$ ($\rho=0,003$), $IL-1\beta$ ($\rho=0,003$), $IL-6$ ($\rho=0,002$) и 4-й подгруппы — $TGF-\beta 1$ ($\rho=0,001$), $IL-1\beta$ ($\rho=0,001$), $IL-6$ ($\rho=0,002$) статистически значимо выше по срав-

нению с аналогичными параметрами цитокинового статуса у лиц контрольной группы.

На фоне лечения во всех подгруппах было отмечено статистически значимое уменьшение $TGF-\beta 1$, $IL-1\beta$, $IL-6$ через 3 и 6 мес терапии, тогда как достоверной разницы в динамике этих показателей в контрольной группе не выявлено (табл. 4). В период дальнейшего наблюдения при сравнении Т3 и Т4 имелась тенденция к снижению уровня исследуемых цитокинов во всех четырех подгруппах больных. Следует отметить, что к окончанию исследования (Т5) в двух подгруппах пациентов выявлено достоверное снижение (по сравнению с показателями, определяемыми в Т3) уровня всех цитокинов у больных, получавших эторикокиб: $TGF-\beta 1$ — $16,12 \pm 4,59$ пг/мл, $\rho=0,021$; $IL-1\beta$ — $7,5 \pm 2,09$ пг/мл, $\rho=0,018$; $IL-6$ — $9,4 \pm 3,15$ пг/мл, $\rho=0,027$ — и нимесулид: $TGF-\beta 1$ — $16,2 \pm 3,27$ пг/мл, $\rho=0,038$; $IL-1\beta$ — $8,2 \pm 3,05$ пг/мл, $\rho=0,025$; $IL-6$ — $9,2 \pm 2,05$ пг/мл, $\rho=0,041$. У пациентов 2-й подгруппы (целекоксиб) отмечено статистически значимое снижение уровня только $TGF-\beta 1$ ($\rho=0,043$), а у пациентов 4-й подгруппы (мелоксикам) — только $IL-1\beta$ ($\rho=0,046$).

Для уточнения влияния изменения уровня цитокинов на когнитивные функции проведен корреляционный анализ в каждой подгруппе больных. Нами установлено, что в Т3 и Т5 показатель шкалы МоСА у пациентов 1-й подгруппы коррелировал с показателем уровня $TGF-\beta 1$, $IL-1\beta$, $IL-6$, то есть у них через 6 и 18 мес наблюдения на фоне снижения уровня всех определяемых цитокинов отмечалось улучшение когнитивных функций. В Т3 выявлена статистически высоко значимая корреляционная связь с $IL-1\beta$ ($r=-0,68$; $\rho=0,00012$), $IL-6$ ($r=0,71$; $\rho=0,0053$), $TGF-\beta 1$ ($r=-0,69$; $\rho=0,0042$). На Т5 оценена как умеренная сила корреляционной связи с $IL-1\beta$ ($r=-0,54$;

Таблица 2

остеоартрозом во время Т1–Т3 и Т4–Т5

| Подгруппы, n на Т1/Т2/Т3 | | | | | | Контрольная группа, n=40/40/37 на Т1/Т2/Т3 | | |
|--------------------------|-----------|----------|-----------------|----------|----------|--------------------------------------------|-----------|----------|
| 3-я, n=32/31/31 | | | 4-я, n=34/34/34 | | | | | |
| 24,8±0,5 | 24,8±0,7 | 25,2±0,3 | 25,5±0,7 | 25,2±0,5 | 25,9±0,4 | 25,3±0,9 | 25,1±0,5 | 24,9±0,6 |
| Подгруппы, n на Т4/Т5 | | | | | | Контрольная группа, n=37/35 на Т4/Т5 | | |
| 3-я, n=29/28 | | | 4-я, n=34/32 | | | | | |
| 26,2±0,8* | 26,9±0,7* | 25,6±0,9 | 26,7±0,7* | | | 23,1±0,8* | 22,1±0,7* | |

Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови

| Показатель | Подгруппы, n на T1/T2/T3 | | | | | |
|-----------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | 1-я, n=30/29/28 | | | 2-я, n=32/30/28 | | |
| <i>TGF-β1</i> , пг/мл | 33,3±8,12 | 23,04±5,34* <i>p</i> =0,008 | 18,07±6,81* <i>p</i> =0,042 | 35,1±6,24 | 26,2±3,09* <i>p</i> =0,003 | 21,9±5,93* <i>p</i> =0,029 |
| <i>IL-1β</i> , пг/мл | 18,2±5,91 | 12,1±4,88* <i>p</i> =0,005 | 9,3±3,76* <i>p</i> =0,035 | 17,8±4,36 | 11,2±3,41* <i>p</i> =0,011 | 10,4±3,52* <i>p</i> =0,042 |
| <i>IL-6</i> , пг/мл | 21,5±2,12 | 15,3±4,78* <i>p</i> =0,001 | 11,2±3,02* <i>p</i> =0,022 | 20,2±2,85 | 14,1±2,53* <i>p</i> =0,005 | 10,3±3,66* <i>p</i> =0,008 |

Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови

| Показатель | Подгруппы, n на T4/T5 | | | |
|-----------------------|-----------------------|-------------|--------------|-------------|
| | 1-я, n=27/26 | | 2-я, n=28/27 | |
| <i>TGF-β1</i> , пг/мл | 17,01±5,41 | 16,12±4,59* | 19,54±5,03 | 18,13±4,12* |
| <i>IL-1β</i> , пг/мл | 8,5±2,86 | 7,5±2,09* | 9,2±3,18 | 8,25±3,18 |
| <i>IL-6</i> , пг/мл | 10,2±3,01 | 9,4±3,15* | 10,1±3,13 | 9,11±3,07 |

$\rho=0,003$), *IL-6* ($r=-0,58$; $\rho=0,028$), *TGF-β1* ($r=0,60$; $\rho=0,035$).

Аналогичная ситуация по степени выраженности корреляционных связей выявлена у пациентов 2-й подгруппы: у них в T3 и T5 на фоне снижения всех определяемых цитокинов улучшились когнитивные функции; при этом уровня высокой статистической значимости в T3 достигла корреляционная связь с *IL-1β* ($r=-0,71$; $\rho=0,0045$), *IL-6* ($r=-0,68$; $\rho=0,027$), *TGF-β1* ($r=0,62$; $\rho=0,031$), также в T5 оценена как умеренная сила корреляционной связи с *IL-1β* ($r=-0,54$; $\rho=0,024$), *IL-6* ($r=-0,54$; $\rho=0,031$), *TGF-β1* ($r=-0,55$; $\rho=0,046$). У пациентов 3-й подгруппы показатель шкалы MoCA достоверно коррелировал со всеми цитокинами только в T5: *IL-1β* ($r=-0,71$; $\rho=0,0038$), *IL-6* ($r=-0,69$; $\rho=0,0035$), *TGF-β1* ($r=-0,62$; $\rho=0,037$). У больных 4-й подгруппы показатель шкалы MoCA также достоверно коррелировал со всеми цитокинами только в T5: *IL-1β* ($r=-0,57$; $\rho=0,045$), *IL-6* ($r=-0,6$; $\rho=0,042$), *TGF-β1* ($r=-0,55$; $\rho=0,033$).

У пациентов всех подгрупп на начало исследования выявлены высокие показатели *IL-1β*, *IL-6*, *TGF-β1* по сравнению с показателями у лиц контрольной группы. Эти результаты были ожидаемы, так как все пациенты подгрупп на момент включения имели клинические проявления этого заболевания, что подтверждалось индексом WOMAC. На сегодняшний день, по ряду данных, участие

иммунной системы в развитии и прогрессировании ОА является одним из ключевых элементов в патогенезе этого заболевания [10].

Для лучшего понимания патофизиологических механизмов ОА все большее внимание обращают на количественные изменения, которые происходят в так называемой цитокиновой сети. Сам процесс нарушения баланса в системе цитокинов рассматривают в настоящее время как важный механизм развития многих патологических процессов [3]. Возрастающее число публикаций свидетельствует об интересе, который направлен на изучение особой роли цитокиновой сети в патогенезе ОА с обсуждением широкого спектра возможных вариаций основных и провоспалительных цитокинов в зависимости от длительности и тяжести заболевания [9, 10, 17, 23]. Следует заметить, что пациенты в нашем исследовании — это лица старшей возрастной группы с коморбидной патологией, и повышение уровня цитокинов отражает степень активности не только ОА, но и тех заболеваний, которые в целом характеризуют тяжесть состояния больных. Считаем это крайне важным моментом, в том числе для дальнейшего изучения вопроса о возможности применения цитокинов в реальной клинической практике как прогностических маркеров при разных заболеваниях.

В обзоре, представленном в 2015 г. И. Ж. Семиным и соавт., отражены фундаментальные аспекты изменения уровня цитокинов у пациентов с различной соматической патологией с акцен-

у больных остеоартрозом во время Т1–Т3

| Подгруппы, n на Т1/Т2/Т3 | | | | | | Контрольная группа n=40/40/37 на Т1/Т2/Т3 | | |
|--------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|------------------------|-------------------------------------------|-----------|-----------|
| 3-я, n=32/31/31 | | | 4-я, n=34/34/34 | | | | | |
| 30,2±7,45 | 21,4±5,31* p=0,004 | 18,5±6,62* p=0,034 | 29,5±6,53 | 20,18±5,07* p=0,002 | 18,91±5,34* p=0,019 | 10,12±7,36 | 9,86±6,55 | 9,81±7,04 |
| 18,9±5,64 | 13,5±4,17* p=0,012 | 9,6±3,09* p=0,028 | 17,3±4,02 | 11,2±4,13* p=0,014 | 9,4±3,95* p=0,023 | 5,2±2,91 | 5,0±2,13 | 5,3±2,58 |
| 20,8±2,55 | 14,9±4,07* p=0,018 | 10,9±3,15* p=0,031 | 20,1±3,07 | 15,6±4,12* p=0,001 | 10,7±5,16* p=0,011 | 6,9±1,14 | 6,3±1,05 | 6,8±2,15 |

у больных остеоартрозом во время Т4 и Т5

| Подгруппы, n на Т4/Т5 | | | | Контрольная группа, n=37/35 на Т4/Т5 | |
|-----------------------|------------|--------------|------------|--------------------------------------|-----------|
| 3-я, n=29/28 | | 4-я, n=34/32 | | | |
| 17,1±6,02 | 16,2±3,27* | 18,85±4,21 | 16,22±4,03 | 10,01±6,02 | 9,73±5,14 |
| 9,1±3,14 | 8,2±3,05* | 9,1±3,13 | 8,02±3,16* | 5,5±2,38 | 6,4±2,33 |
| 10,1±3,07 | 9,2±2,05* | 10,1±4,02 | 9,05±3,87 | 6,9±2,08 | 7,31±2,16 |

том на их роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний [2]. Полагаем, что в условиях коморбидности ОА и заболеваний сердечно-сосудистой системы изменение уровня цитокинов следует рассматривать как единый процесс, отражающий в целом тяжесть состояния больного. При этом, безусловно, на фоне обострения ОА с выраженными клиническими проявлениями в виде болевого синдрома и/или ограничения подвижности и скованности в суставах будет иметь место так называемый цитокиновый взрыв, характеризующийся повышением, в первую очередь, основных цитокинов — *IL-1 β* , *IL-6*, *TGF- β 1*, *TNF- α* . Данные большинства исследований свидетельствуют, что цитокиновый ответ при ОА имеет сложный и многоуровневый характер, и определить четкую значимость отдельных его компонентов в тяжести заболевания больного на сегодняшний день достаточно затруднительно [6, 15, 20].

В нашем исследовании показано, что на фоне обострения заболевания, характеризующегося для пациентов выраженностью болевого синдрома, который оценен нами по опроснику WOMAC, отмечено повышение всех цитокинов у больных в подгруппах по сравнению с лицами контрольной группы. Для нас большой интерес представлял эффект НПВП в терапии данной пожилой популяции пациентов в аспекте возможностей влияния на когнитивный статус. Рассмотрев этот вопрос во взаимосвязи со снижением уровня цитокинов на фоне лечения НПВП, мы можем констати-

ровать, что выявлено значительное отличие в показателях когнитивного статуса у пациентов всех подгрупп и контрольной группы в течение всего наблюдательного периода. Более высокая статистическая значимость улучшения показателей когнитивных функций отмечена через 1,5 года наблюдения у пациентов всех подгрупп. Имелись некоторые различия по степени корреляции снижения цитокинов и повышения баллов по шкале MoCA в разных подгруппах пациентов. Данное обстоятельство может быть обусловлено различными фармакокинетическими свойствами НПВП, в том числе степенью проникновения через гематоэнцефалический барьер.

На сегодняшний день в экспериментальных работах получены данные о том, что при деменции альцгеймеровского типа имеется нейровоспалительный процесс в структурах гиппокампа, опосредованно индуцированный нейрональной ЦОГ-2 [19]. Более того, этот процесс активно связан, в первую очередь, с генерацией и активизацией цитокиновой сети, что было продемонстрировано в экспериментальных работах, посвященных изучению БА и ОА [14]. Полученные нами результаты позволяют предполагать наличие клинического когнитивного эффекта на фоне лечения НПВП, высоко ассоциированного со степенью снижения цитокинов. У пациентов с ОА данный эффект был отмечен с высокой степенью достоверности к моменту Т5. Следует отметить, что в проведенном S. W. Huang и соавт. (2015) четырехлетнем ре-

троспективном исследовании авторы показали, что ОА является независимым фактором риска развития деменции. Заболеваемость деменцией составила 21,7 на 10 тыс. человеко-лет в группе пациентов с ОА и 14,7 на 10 тыс. человеко-лет в группе больных без ОА. Данные результаты отражают эпидемиологическую составляющую проблемы, которую на сегодняшний день, в условиях постарения населения, не представляется возможным игнорировать [11].

Безусловно, требуются экспериментальные подтверждения влияния НПВП на возможность ингибции нейрональной ЦОГ-2. Но наши данные уже сейчас позволяют предположить, что в группе пациентов пожилого возраста, у которых еще нет клинически выраженных проявлений когнитивной дисфункции и/или дементных расстройств, лечение НПВП ассоциировано с более благоприятным когнитивным профилем больного.

Наши результаты не следует рассматривать как опыт применения НПВП для предотвращения деменции у пациентов старшей возрастной группы. Мы наблюдали улучшение памяти, внимания, пространственно-временной ориентации у лиц, которым НПВП назначали для лечения ОА в соответствии с инструкцией. Требуется дальнейшее изучение индивидуальных особенностей НПВП, а также их доз, формирующих активный фармакокинетический профиль в отношении цитокиновой сети.

Выводы

Результаты наблюдения позволяют составить представление о возможности влияния нестероидных противовоспалительных препаратов на когнитивные функции у пациентов старшей возрастной группы. Наше исследование не преследовало цель оценить клиническое превосходство какого-либо конкретного лекарственного средства, однако длительность наблюдения и результаты, полученные через 18 мес, свидетельствуют о более выраженном когнитивно-цитокиновом эффекте у эторикоксиба и целекоксиба. Считаем, что полученные данные могут помочь в дальнейшем изучении когнитивно-цитокиновых эффектов нестероидных противовоспалительных препаратов и способствовать решению фундаментальных вопросов по профилактике дементных расстройств у лиц пожилого и старческого возраста.

Литература

1. Каратеев А.Е., Насонов Е.Л., Яхно Н.Н. и др. Клинические рекомендации «Рациональное применение нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) в клинической практике» // *Соврем. ревматол.* 2015. Т. 9. № 1. С. 4–23.
2. Семинский И.Ж., Серебренникова С.Н., Гузовская Е.В. и др. Роль цитокинов в патогенезе заболеваний (сообщение 2) // *Сибир. мед. журн. (Иркутск).* 2015. Т. 1. С. 14–17.
3. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // *Иммунология.* 2001. Т. 5. С. 4–7.
4. Altman R., Asch E., Bloch D. et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: Classification of osteoarthritis of the knee: Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association // *Arthr. and Rheum.* 1986. Vol. 29. № 8. P. 1039–1049.
5. Bellamy N., Buchanan W.W., Goldsmith C.H. et al. Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee // *J. Rheumatol.* 1988. Vol. 15. № 12. P. 1833–1840.
6. Blaney Davidson E.N., Van der Kraan P.M., Van den Berg W.B. TGF- β and osteoarthritis // *Osteoarthr. Cartilage.* 2007. Vol. 15. № 6. P. 597–604.
7. Breitner J.C., Baker L.D., Montine T.J. et al. Extended results of the Alzheimer's disease anti-inflammatory prevention trial // *Alzheimers Dement.* 2011. Vol. 7. P. 402–411.
8. Bruyère O., Cooper C., Pelletier J.P. et al. A consensus statement on the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) algorithm for the management of knee osteoarthritis — From evidence-based medicine to the real-life setting // *Semin. Arthr. Rheum.* 2016. Vol. 45. P. 3–11.
9. De Lange-Brokaar B.J., Ioan-Facsinay A., Van Osch G.J. et al. Synovial inflammation, immune cells and their cytokines in osteoarthritis: a review // *Osteoarthr. Cartilage.* 2012. Vol. 20. № 12. P. 1484–1499.
10. Goldring S.R., Goldring M.B. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis // *Clin. Orthopaed. Related Res.* 2004. Vol. 427. P. 27–36.
11. Huang S.W., Wang W.T., Chou L.C. et al. Osteoarthritis increases the risk of dementia: A nationwide cohort study in Taiwan // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 5. P. 10145.
12. Hebert L.E., Scherr P.A., Bienias J.L. et al. Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census // *Arch. Neurol.* 2003. Vol. 60. P. 1119–1122.
13. Hoozemans J.J., Bruckner M.K., Rozemuller A.J. et al. Cyclin D1 and cyclin E are co-localized with cyclo-oxygenase 2 (COX-2) in pyramidal neurons in Alzheimer disease temporal cortex // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2002. Vol. 61. P. 678–688.
14. Kyrkanides S., Tallents R.H., Miller J.H. et al. Osteoarthritis accelerates and exacerbates Alzheimer's disease pathology in mice // *J. Neuroinflammation.* 2011. Vol. 8. P. 12.
15. Marcu K.B., Otero M., Olivetto E. et al. NF- κ B signaling: multiple angles to target OA // *Curr. Drug Targets.* 2010. Vol. 11. № 5. P. 599–613.
16. Melnikova T., Savonenko A., Wang Q. et al. Cyclooxygenase-2 activity promotes cognitive deficits but not increased amyloid burden in a model of Alzheimer's disease in a sex-dimorphic pattern // *Neurosci.* 2006. Vol. 141. P. 1149–1162.
17. Mueller M.B., Tuan R.S. Anabolic/Catabolic balance in pathogenesis of osteoarthritis: identifying molecular targets // *PM&R.* 2011. Vol. 3. № 6. P. 3–11.
18. Nasreddine Z.S., Phillips N.A., Bedirian V. et al. The Montreal cognitive assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment // *J. Amer. Geriatr. Soc.* 2005. Vol. 53. P. 695–699.

19. Sil S., Ghosh T. Role of cox-2 mediated neuroinflammation on the neurodegeneration and cognitive impairments in colchicine induced rat model of Alzheimer's Disease // J. Neuroimmunol. 2016. Vol. 291. P. 115–124.

20. Sohn D.H., Sokolove J., Sharpe O. et al. Plasma proteins present in osteoarthritic synovial fluid can stimulate cytokine production via Toll-like receptor 4 // Arthr. Res. Ther. 2012. Vol. 14. № 1. P. 7.

21. Yang H., Zhang J., Andreasson K., Chen C. COX-2 oxidative metabolism of endocannabinoids augments hippocam-

pal synaptic plasticity // Molec. Cell Neurosci. 2008. Vol. 37. P. 682–695.

22. Yermakova A. V., O'Banion M. K. Downregulation of neuronal cyclooxygenase-2 expression in end stage Alzheimer's disease // Neurobiol Aging. 2001. Vol. 22. P. 823–836.

23. Vangsnest C. T. Jr., Burke W. S., Narvy S. J. et al. Human knee synovial fluid cytokines correlated with grade of knee osteoarthritis—a pilot study // Bull. NYU Hosp. Jt. Dis. 2011. Vol. 69. № 2. P. 122–127.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 381–389

I. A. Zolotovskaia, I. L. Davydkin

COGNITIVE-CYTOKINE EFFECT OF NONSTEROIDAL ANTIINFLAMMATORY DRUGS IN THE THERAPY OF ELDERLY PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS

Samara State Medical University, 89, Chapaevskaya str., Samara, 443099; e-mail: zolotovskay@list.ru

The purpose of the study was to evaluate the influence of long-term non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) therapy on the dynamics of the severity of cognitive deficits and its association with changes in the level of cytokines in elderly patients with osteoarthritis (OA). The authors performed a prospective observational study during 540±5,5 days, presented in two stages: phase I — the stage of active NSAID therapy; phase II — the stage of non-pharmacological correction of OA. The first stage included 128 patients with OA from 65 to 75 years (average age 70±4,6 years, 10,2% of males and 89,8% female). Patients from the main group were divided into four subgroups: patients of the 1st group ($n=30$) received the drug etoricoxib at a dose of 60 mg per day; patients of the 2nd group ($n=32$) — celecoxib at a dose of 200 mg daily, patients of the 3rd group ($n=32$) — nimesulide in dose of 100 mg per day; patients of the 4th group ($n=34$) — meloxicam at a dose of 7,5 mg per day. The comparison group consisted of 40 patients with similar clinical and demographic characteristics of OA, not taking NSAIDs in the previous 6 months or during the study. It was determined the pain and stiffness indexes by the WOMAC initially and evaluated the patient status at the MoCA scale and carried out laboratory diagnosis of contents in serum $TGF-\beta_1$, $IL-1\beta$ and $IL-6$ at all visits. Statistically significant decrease in the level of cytokines was detected during the period of 1st–3rd visits for all patients in the groups receiving NSAID, also there was an increase in cognitive function on a scale of MoCA with a high degree of correlation in relation to the performance of cytokines to the end of the study. The results of our research allow us to speak about possible influence on cognitive functions of NSAID therapy in elderly patients with OA in real clinical practice.

Key words: osteoarthritis, NSAIDs, cytokines, cognitive functions

Т. Г. Петрова, Т. В. Зверева, Н. Б. Бородина, Е. Е. Покатова

СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС И ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

¹ Новосибирский государственный медицинский университет, 630091, Новосибирск, Красный пр., 52;
e-mail: tgpetrova@yandex.ru

Исследован стоматологический статус и показатели качества жизни у жителей пожилого и старческого возраста Новосибирска. Выявлена высокая распространенность, интенсивность основных стоматологических заболеваний, высокая нуждаемость населения пожилого и старческого возраста в санации полости рта и протезировании.

Ключевые слова: геронтостоматология, стоматологический статус, качество жизни, пожилой возраст, старческий возраст

В настоящее время в мире отмечают увеличение средней продолжительности жизни и числа людей пожилого и старческого возраста [1, 4, 7]. К началу 2021 г., по прогнозу Росстата, доля лиц старше трудоспособного возраста в общей численности населения вырастет до 27%. Ожидаемая продолжительность жизни в РФ для всего населения к 2018 г. должна составить не менее 74 лет, к 2020 г. — 75,7 года, в том числе у мужчин — 71,2, у женщин — 80 лет. Концепцией демографической политики РФ на период до 2025 г., утвержденной Указом Президента РФ № 1351, предусмотрено внедрение специальных программ для населения старших возрастных групп, а также разработка мер по сохранению здоровья и продлению трудоспособного периода жизни пожилых людей, развитие геронтологической помощи [5].

Особое внимание уделяется региональным программам, направленным на повышение качества жизни людей пожилого и старческого возраста. Поскольку у лиц старше 60 лет в структуре общей заболеваемости патология зубов выходит на одно из первых мест, стоматологический статус во многом определяет качество жизни людей этой возрастной группы [6, 10, 11]. Стоматологическое здоровье рассматривается как «важнейший критерий, оказывающий существенное влияние на физическое, психическое и социальное благополучие и обеспечивающий возможности приема пищи, об-

щения и социального взаимодействия без какого-либо дискомфорта или затруднения, позволяющий индивидууму продолжить выполнять свои социальные роли» [9]. В связи с этим, совершенствование организации стоматологической помощи лицам пожилого и старческого возраста является важной задачей современной стоматологии.

Цель исследования — изучение стоматологического статуса и стоматологических показателей качества жизни у лиц пожилого и старческого возраста.

Материалы и методы

Проведено одномоментное открытое исследование, в ходе которого комплексно оценили стоматологический статус 142 человек 60–89 лет (41 мужчина и 101 женщина, средний возраст $71,28 \pm 0,81$ года), проживающих в Новосибирске. Основная группа была разделена на две подгруппы: 80 человек пожилого возраста (средний возраст $68,21 \pm 0,51$ года) и 62 человека старческого возраста (средний возраст $78,8 \pm 0,39$ года). Группу сравнения составили трудоспособные пациенты обоего пола (41 человек, средний возраст $38,9 \pm 0,45$ года). Состояние здоровья обследованных, их полиморбидность оценивали по данным опроса пациентов и данным медицинских карт амбулаторных больных. При изучении стоматологического статуса оценивали состояние слизистой оболочки рта, учитывали вид прикуса, положение зубов в зубной дуге, наличие некариозных поражений твердых тканей зубов, а также наличие или отсутствие различных ортопедических конструкций. Гигиеническое состояние полости рта оценивали с помощью упрощенного гигиенического индекса Silness-Loe, состояние твердых тканей зубов — по индексу КПУ. Для определения степени воспаления десны использовали индекс РМА в мо-

дификации Рамта. Степень кровоточивости десен оценивали по индексу SBI (Muhlemann—Cowell). В группах обследования определяли уровень стоматологической помощи (П. А. Леус).

Для оценки качества жизни использовали валидированную русскоязычную версию опросника «Профиль влияния стоматологического здоровья» ОНIP-49-RU [3]. Определяли следующие параметры нарушения качества жизни пациента: *ограничение функций, физическую боль и физический дискомфорт, психологический дискомфорт, физические расстройства, психологические расстройства, социальную дезадаптацию и ущерб*, возникающий при утрате стоматологического здоровья. У пациентов рассчитывали интегральные (Σ ОНIP-49-RU) значения индекса качества жизни и отдельные параметры.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования установлено, что более половины пациентов основной группы (57 %) имели жалобы стоматологического характера на момент обследования, причем чаще всего пациенты жаловались на повышенную чувствительность зубов (26,2 %), неудовлетворительное качество ортопедических конструкций (23 %) и кровоточивость десен (14,8 %).

У лиц основной группы, как правило, регистрировали полиорганную патологию. В среднем определяли $2,11 \pm 0,16$ болезни на одного обследованного, при этом 68,3 % пациентов имели два хронических заболевания и более. У большинства были зарегистрированы заболевания сердечно-сосудистой системы (87,3 %), несколько реже — заболевания пищеварительной системы (47,2 %) и опорно-двигательного аппарата (26,1 %), а самым распространенным заболеванием явилась артериальная гипертензия (59,9 %).

У 30,99 % пациентов пожилого и старческого возраста выявлена полная вторичная адентия, что превышает цель ВОЗ к 2020 г. [8, 12]. Доля обследованных лиц основной группы, имеющих 20 функционирующих зубов и более, составила 34,5 %. С возрастом число таких пациентов уменьшалось в 2,7 раза (с 47,5 % в подгруппе лиц пожилого возраста до 17,7 % в подгруппе старческого возраста).

Интенсивность кариеса по индексу КПУ в основной группе составила $21,67 \pm 0,76$, при этом среднее число сохранившихся естественных зубов было $12,63 \pm 0,79$, что также ниже цели

ВОЗ. У лиц старческого возраста число сохранившихся зубов было в 2,5 раза меньше, чем у пациентов пожилого возраста ($7,14 \pm 1,18$ и $17,72 \pm 1,07$, соответственно, $p < 0,001$). Анализ структуры индекса КПУ (которая представлена следующими параметрами: кариес, пломба, удаленный зуб) показал, что у лиц пожилого и старческого возраста преобладали удаленные зубы. Причем выявлено уменьшение с возрастом числа кариозных зубов и увеличение — удаленных (рис. 1). Следует отметить, что по сравнению с подгруппой пациентов пожилого возраста у лиц старческого возраста число запломбированных зубов было меньше, а число удаленных больше. Интенсивность кариеса у мужчин и женщин статистически значимо не различалась.

Воспалительные заболевания пародонта обнаружены у 100 % обследованных лиц пожилого и старческого возраста. При одинаковом гигиеническом состоянии полости рта у пациентов основной группы определена статистически значимо более высокая степень воспаления десны и кровоточивость десен (табл. 1). У мужчин величина гигиенического индекса была выше, чем у женщин ($1,43 \pm 0,09$ и $1,03 \pm 0,05$, соответственно, $p < 0,05$), что сопровождалось большей активностью воспаления по индексу РМА ($55,15 \pm 2,43$ и $48,86 \pm 1,70$, соответственно, $p < 0,05$).

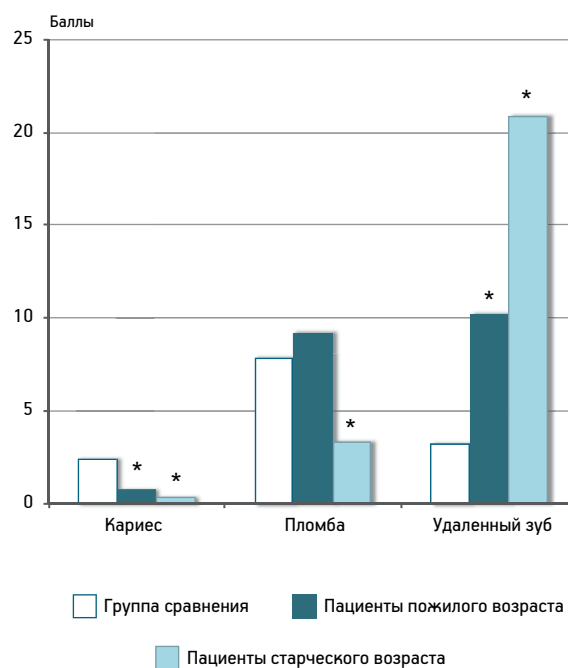


Рис. 1. Структура индекса КПУ у лиц пожилого и старческого возраста.

* Статистически значимое различие с группой сравнения

Основные показатели стоматологического статуса у пациентов обследованных групп

| Показатель | Группа сравнения | Пациенты пожилого возраста | Пациенты старческого возраста |
|-----------------------------------------------|------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Индекс КПУ, баллы | 13,56±0,84 | 20,28±0,7* | 24,55±0,73* |
| Индекс гигиены Silness-Loe, баллы | 0,92±0,09 | 1,1±0,09 | 1,11±0,12 |
| Индекс РМА, % | 30,97±0,03 | 55,07±1,94* | 59,45±2,44* |
| Индекс кровоточивости SBI, баллы | 1,05±0,09 | 1,71±0,08* | 1,77±0,07* |
| Степень утраты зубодесневого прикрепления, мм | 2,5±0,67 | 3,47±0,2 | 3,42±0,22 |

* Статистически значимое различие с группой сравнения.

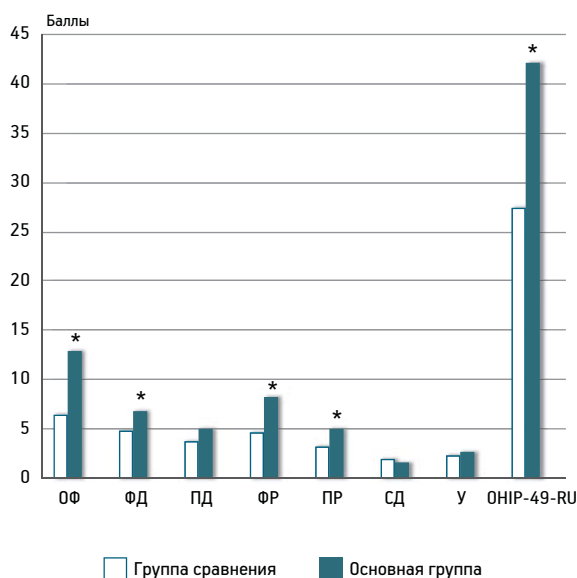


Рис. 2. Стоматологические показатели качества жизни у пациентов основной группы.

ОФ — ограничение функций; ФД — физическая боль и физический дискомфорт; ПД — психологический дискомфорт; ФР — физические расстройства; ПР — психологические расстройства; СД — социальная дезадаптация; У — ущерб, возникающий при утрате стоматологического здоровья; * статистически значимое различие с группой сравнения

Проведенное исследование показало высокую потребность населения пожилого и старческого возраста в лечении и протезировании зубов (63,3 и 48,8 %, соответственно) при недостаточном уровне стоматологической помощи (44,6 и 36,3 %, соответственно).

У пациентов основной группы установлено статистически значимое снижение общего показателя качества жизни (на 47,2 %) и отдельных его параметров (рис. 2), таких как *ограничение функций* (на 64,5 %), *физический дискомфорт* (на 40,2 %), *физические расстройства* (на 72,5 %), *психологические расстройства* (на 48,8 %). *Ограничение функций* связано с нарушениями функций организма, опосредованных состоянием полости рта: прием пищи, произношение слов, восприятие вку-

са, нарушение пищеварения и т. д. По параметру *физический дискомфорт* оценивали ощущения боли и дискомфорта при наличии патологии полости рта: частота и сила болевого, гиперестетического симптомов и ограничение привычного рациона при наличии боли и дискомфорта. Показатели *физические расстройства*, *психологические расстройства* отражали наличие и степень ограничений в повседневной жизни (у пациента при приеме пищи, общении, концентрации и т. д.) [2].

Сравнение интегральных показателей качества жизни у лиц пожилого и старческого возраста не выявило значимых различий. При этом отрицательная динамика зарегистрирована с увеличением возраста по параметрам *психологический дискомфорт* и *физические расстройства* (снижение на 14,7 и 14,3 %, соответственно, у лиц старческого возраста по сравнению с пожилыми, $p < 0,05$, табл. 2). При гендерном сравнении показателей качества жизни у женщин основной группы были установлены статистически значимо более высокие показатели индекса ОНИР-49-RU только по параметру *ограничение функций* ($11,76 \pm 0,37$ против $9,66 \pm 0,82$ у мужчин, $p < 0,05$).

Заключение

В результате исследования выявлена высокая распространенность и интенсивность основных стоматологических заболеваний, а также высокая потребность в санации полости рта и протезировании у населения пожилого и старческого возраста, что указывает на недостаточную эффективность стоматологической помощи. Установлено, что стоматологическая патология у лиц пожилого и старческого возраста оказывает существенное влияние на качество их жизни, для повышения которого необходима комплексная стоматологическая реабилитация.

Стоматологические показатели качества жизни (ОНП-49-RU) у пациентов обеих групп

| Параметр | Группа сравнения | Пациенты пожилого возраста | Пациенты старческого возраста |
|------------------------------|------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Ограничение функций | 6,51±0,68 | 11,79±0,5* | 13,88±0,62* |
| Физический дискомфорт | 4,90±0,50 | 6,93±0,3* | 6,68±0,45* |
| Психологический дискомфорт | 3,83±0,49 | 4,62±0,24 | 5,36±0,36** |
| Физические расстройства | 4,61±0,51 | 7,71±0,34* | 8,84±0,56** |
| Психологические расстройства | 3,22±0,26 | 4,69±0,26* | 5,28±0,38* |
| Социальная дезадаптация | 2,05±0,31 | 1,6±0,16 | 1,48±0,21 |
| Ущерб | 2,34±0,35 | 3,0±0,27 | 2,52±0,25 |
| ΣОНП-49-RU | 27,44±2,86 | 40,36±1,48* | 44,04±2,17* |

* Статистически значимое различие с группой сравнения; ** статистически значимое различие по сравнению с пациентами пожилого возраста.

Литература

1. Алимский А.В. Геронтостоматология (эпидемиологические, социальные и организационные аспекты). М.: Мед. книга, 2012.

2. Гилева О.С., Либик Т.В., Халилаева Е.В. и др. Стоматологическое здоровье в критериях качества жизни // Мед. вестн. Башкортостана. 2011. № 3. С. 6–11.

3. Гилева О.С., Халилаева Е.В., Либик Т.В. и др. Много-ступенчатая валидация международного опросника качества жизни «Профиль влияния стоматологического здоровья» ОНП-49-RU // Урал. мед. журн. 2009. № 8. С. 104–109.

4. Иорданишвили А.К., Солдатов С.В., Солдатова Л.Н. и др. Стоматологический статус людей пожилого и старческого возраста // Успехи геронтол. 2010. Т. 23. № 4. С. 644–654.

5. Об утверждении Концепции демографической политики Российской Федерации на период до 2025 года: Указ Президента Российской Федерации от 09.10.07 № 1351 // Собрание законодательства РФ. 2007. № 42. Ст. 5009.

6. Родина Т.С. Особенности стоматологической патологии у лиц старших возрастных групп // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П.Павлова. 2015. № 3. С. 140–147.

7. Самсонов В.В., Иорданишвили А.К., Солдатова Л.Н. и др. Актуальные вопросы геронтостоматологии в России на современном этапе // Успехи геронтол. 2013. Т. 26. № 3. С. 540–543.

8. Hobdell M., Petersen P.E., Clarkson J., Johnson N. Global goals for oral health 2020 // Int. Dent. J. 2003. № 53. P. 285–288.

9. Locker D. Measuring oral health: a conceptual framework // Community Dent. Hlth. 1998. №5. P. 3–18.

10. Murta D.P., Lobato W.S., Guimaraes A.L.S. et al. Impact of oral health in the elderly patients quality of life // Dent. Open J. 2016. Vol. 3. № 1. P. 4–9.

11. Nitschke I., Müller F. The impact of oral health on the quality of life in the elderly // Oral hlth preventive dentistry. 2004. № 2. P. 271–275.

12. Petersen P.E., Kandelman D., Arpin S. et al. Global oral health of older people — call for public health action // Community Dent. Hlth. 2010. № 27. P. 257–267.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 390–393

T. G. Petrova, T. V. Zvereva, N. B. Borodina, E. E. Pokatova

STOMATOLOGICAL STATUS AND QUALITY OF LIFE OF ELDERLY AND SENILE PEOPLE

Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny pr., Novosibirsk, 630091; e-mail: tgpetrova@yandex.ru

The stomatological status and the measures of oral health-related quality of life in elderly and senile inhabitants of Novosibirsk were researched. The high prevalence and intensity of the major stomatological diseases, the high need for oral cavity sanitation and prosthetics in elderly and senile population were found out.

Key words: gerontostomatology, stomatological status, quality of life, elderly age, senile age

О. В. Фатенков, Т. М. Кузьмина, О. А. Рубаненко, Г. Н. Светлова, А. В. Дзюбайло

ТЕЧЕНИЕ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ ПРИ КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИИ У ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ

Самарский государственный медицинский университет, 443099, Самара, ул. Чапаевская, 89;
e-mail: olesya.rubanenko@gmail.com

В статье проанализировано клиническое течение пневмонии у 67 пожилых пациентов (39 женщин и 28 мужчин, средний возраст $74,4 \pm 5,2$ года) на фоне ХСН с сопутствующей ХОБЛ. Пациенты были разделены на две группы: 1-я — с ХОБЛ; 2-я — без ХОБЛ. Фармакологическое лечение, включающее ампициллин с сульбактамом, подбирали с учетом динамики клиничко-лабораторных показателей (температуры, сатурации кислорода, уровня острофазовых белков, СОЭ). Нормализацию температуры, сатурацию кислорода наблюдали в 1-й группе на 3–4-й день, во 2-й — на 2-й день, нормализацию уровня лейкоцитов, СОЭ — на 12–13-й и 7–8-й день, соответственно, острофазовых показателей крови (С-РБ, фибриногена) — на 7-й и 5-й день. Положительную динамику на рентгенограмме грудной клетки отмечали в 1-й группе на 13-й день при втором контроле и замене антибиотика на левофлоксацин, во 2-й группе — на 8-й день при первом контроле.

Ключевые слова: пневмония, хроническая обструктивная болезнь лёгких, хроническая сердечная недостаточность, коморбидность, антибактериальная терапия, левофлоксацин

Одной из актуальнейших проблем современной медицины является пневмония у лиц пожилого возраста. Частота госпитализаций при данном заболевании с возрастом увеличивается более чем в 10 раз [4]. Одним из основных возбудителей внебольничной пневмонии (ВП) в разных возрастных группах является *Streptococcus pneumoniae*, носительство которого широко распространено. Летальность при пневмококковых пневмониях у больных старше 60 лет составляет 10–15 %, что в 10 раз выше, чем у пациентов других возрастных групп [2]. Помимо предиктора инфекционного агента, очень существенны такие факторы риска, как коморбидность, пожилой и старческий возраст, курение, приём ряда лекарственных препаратов (глюкокортикостероиды, нейролептики, ингибиторы протонной помпы и др.). Среди сопутствующих заболеваний важнейшее патогенетическое значение имеет ХОБЛ.

В настоящее время распространённость ХОБЛ в мире составляет 210 млн человек (по данным ВОЗ). Ежегодная смертность составляет 5 % от всех смертей в мире [15]. Это 3 млн человек ежегодно, причём, по прогнозам многих исследователей, смертность от ХОБЛ к 2030 г. сместится с 4-го на 3-е место среди ведущих причин смертности во всём мире [16]. Повышенная летальность у пациентов с бактериальной ВП и ХОБЛ обусловлена декомпенсацией сопутствующей патологии, что особенно актуально у пациентов старшего возраста. Основным фактором, утяжеляющим прогноз при сочетании данных заболеваний, является ХСН [9, 11].

Цель исследования — оценка клинического течения пневмонии у пожилых пациентов на фоне ХСН с сопутствующей ХОБЛ и без неё.

Материалы и методы

Были обследованы 67 пациентов 69–86 лет (средний возраст $74,4 \pm 5,2$ года, 39 женщин и 28 мужчин) с бактериальной правосторонней нижнедолевой ВП средней степени тяжести, вызванной *Streptococcus pneumoniae*. Диагноз пневмонии у всех пациентов подтверждён рентгенологически и бактериологически с определением чувствительности возбудителя к антибиотикам. У всех пациентов имела место коморбидная патология — ИБС, стабильная стенокардия напряжения II ФК, гипертоническая болезнь III стадии 4-й группы риска, ХСН — IIА стадии III ФК по NYHA. У 34 человек была ХОБЛ, диагностированная до развития пневмонии. Верификацию диагноза бактериальной ВП и ХОБЛ и их лечение проводили в соответствии с критериями и стандартами, разработанными экспертами Российского респираторного общества [15, 16].

Пациенты были разделены на две группы: 1-я ($n=34$) — с ХОБЛ; 2-я ($n=33$) — без ХОБЛ. Количественные показатели представле-

ны как среднее \pm стандартная ошибка ($M \pm m$), качественные показатели — в виде абсолютного числа больных (%). Статистическую обработку результатов проводили методом Манна—Уитни. Достоверное значение уровня $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Изменения клинических показателей в зависимости от наличия сопутствующей ХОБЛ представлены в табл. 1. Не было выявлено достоверных различий между группами по другим клиническим параметрам.

Всем пациентам были назначены ампициллин с сульбактамом по 1,5 г внутривенно 3 раза в день, амброксол по 15 мг внутривенно капельно 2 раза в день, отхаркивающая микстура (экстракт алтея, корень солодки, анисовое масло, гидрокарбонат натрия) по 1 ст. л. 3 раза в день, дезинтоксикационная терапия. Пациентам 1-й группы дополнительно назначен эуфиллин 2,4 % внутривенно по 5 мл, формотерол и беклометазон ингаляционно. В качестве коррекции кардиальной патологии у пациентов обеих групп были использованы следующие препараты: эналаприл по 10 мг 2 раза в день, гидрохлортиазид 25 мг утром до еды, бисопролол (в 1-й группе — 1,25–2,5 мг, во 2-й — 5–10 мг), ацетилсалициловая кислота 100 мг 1 раз в день, аторвастатин 40 мг 1 раз в день. Динамика клинико-лабораторных показателей у обследованных пациентов представлена в табл. 2.

Нормализацию температуры, сатурации кислорода наблюдали в 1-й группе на 3–4-й день и во 2-й группе — на 2-й день, нормализацию уровня лейкоцитов, СОЭ — на 12–13-й и 7–8-й день, острофазовых показателей крови (С-РБ, фибриногена) — на 7-й и 5-й день, соответственно. Положительную динамику на рентгенограмме грудной клетки отмечали в 1-й группе на 13-й день во время второго контроля и при замене антибиотика на левофлоксацин по 500 мг 1 раз в день внутривенно и во 2-й группе — на 8-й день во время первого контроля.

Ухудшение прогноза лечения пневмонии у пациентов старшего возраста связано с коморбидностью. Так, нарушение дренажной функции бронхов и лёгочной вентиляции на фоне гемодинамических расстройств ведёт к скоплению густой и вязкой мокроты в бронхах, являющейся субстратом для развития условно-патогенной и патогенной микрофлоры, вызывающей развитие застойной пневмонии [5]. Кроме соматической патологии,

Таблица 1

Зависимость клинических показателей у пациентов обеих групп от наличия сопутствующей ХОБЛ

| Показатель | 1-я группа, n=34 | 2-я группа, n=33 |
|----------------------------------------------|------------------|------------------|
| Температура в день поступления, °С | 38,4 \pm 1,4 | 37,8 \pm 1,1* |
| Выраженность интоксикации в день поступления | Значительная | Умеренная |
| Сатурация кислорода в день поступления, % | 88 \pm 1,5 | 93 \pm 1,6* |
| Экссудативный плеврит, n (%) | 6 (17,6) | 2 (6,1)* |
| Экссудативный перикардит, n (%) | 4 (11,8) | 1 (3,0)* |

* $p < 0,05$.

Таблица 2

Динамика показателей дополнительных методов исследования у пациентов обеих групп в ходе лечения

| Параклинический показатель | 1-я группа, n=34 | 2-я группа, n=33 |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Температура до лечения, °С на фоне лечения | 38,4 \pm 1,1 36,7 \pm 0,2 | 37,8 \pm 1,1* 36,5 \pm 0,3 |
| Сатурация кислорода до лечения, % на фоне лечения | 88 \pm 1,5 98 \pm 1,5 | 93 \pm 1,6* 98 \pm 1,3 |
| Лейкоциты до лечения, $\cdot 10^9$ /л на фоне лечения | 13,4 \pm 1,7 7,1 \pm 2,0 | 11,5 \pm 1,2 7,5 \pm 1,8 |
| СОЭ до лечения, мм/ч на фоне лечения | 25,5 \pm 1,8 15,3 \pm 0,9 | 22,9 \pm 1,7 14,5 \pm 1,2 |
| С-РБ до лечения, мг/л на фоне лечения | 41 \pm 32,9 3,3 \pm 1,3 | 35 \pm 26,3 3,5 \pm 2 |
| Фибриноген до лечения, г/л на фоне лечения | 5,5 \pm 1,5 3,2 \pm 0,6 | 5,7 \pm 1,7 3,5 \pm 0,4 |

* $p < 0,05$.

предрасполагающим фактором является возраст пациентов старше 60 лет [7, 10]. Чаще всего возбудители пневмонии — пневмококк, стрептококки, стафилококк, гемофильная палочка с превалированием по частоте пневмококка у мужчин и больных старше 65 лет [14]. Застойная пневмония развивается чаще в нижних отделах правого легкого, а в некоторых случаях бывает двусторонней [13]. Температура при застойной пневмонии может быть нормальной или субфебрильной, реже отмечают фебрильную. Характерно появление кашля с отхождением слизистой или слизисто-гноющей мокроты, кровохарканья, нарастающей слабости и одышки, снижение толерантности к физическим нагрузкам. Имеется зависимость выраженности клинических проявлений застойной пневмонии от степени гемодинамических и вентиляционных расстройств, при-

соединения воспалительного компонента, тяжести основной патологии [1].

Актуальность выделения рассматриваемой группы пациентов с бактериальной ВП на фоне ХОБЛ обусловлена тем, что распространённость ВП у больных с ХОБЛ в 2 раза выше, чем в общей популяции [2]. Большое значение при этом имеют высокая распространённость ХОБЛ и тенденция её к росту [15], увеличение частоты обострений с нарастанием тяжести заболевания и трудности дифференциальной диагностики [8], морфофункциональные изменения бронхолёгочной системы, «синдром взаимного отягощения» [12]. В настоящее время отмечают повышение микробной колонизации слизистой оболочки бронхов с ростом антибиотикорезистентности. Лечение ингаляционными кортикостероидами у пациентов с ХОБЛ является самостоятельным фактором риска ухудшения прогноза при сопутствующей бактериальной ВП. В основе патогенетических механизмов лежит угнетение альвеолярных макрофагов и снижение синтеза секреторного иммуноглобулина А. Наряду с подавлением клеточных и гуморальных факторов местной защиты лёгких, наблюдают повышение микробной колонизации слизистой оболочки бронхов и уменьшение количества лимфатических фолликулов в малых дыхательных путях у пациентов.

Стартовая антибактериальная терапия при тяжёлой бактериальной ВП, особенно в сочетании с ХОБЛ, предполагает внутривенное введение антибактериального препарата для достижения наиболее высокой и предсказуемой биодоступности, независимо от полноты и скорости всасывания препарата в ЖКТ [14]. Согласно современным рекомендациям, выбор антибактериального препарата при эмпирическом лечении коморбидной бактериальной ВП с сопутствующей ХОБЛ у больных без факторов риска инфицирования *Pseudomonas aeruginosa* и аспирации следует остановить на цефалоспоридах 3-го и 4-го поколения или полусинтетических бета-лактамах с ингибиторами пенициллиназы или респираторных фторхинолонах [6]. Данный выбор оправдан у пациентов старшей возрастной категории при множественной сопутствующей патологии и высоком риске неблагоприятного прогноза. Левофлоксацин считается наиболее эффективным препаратом выбора для лечения бактериальной ВП и коморбидной ХОБЛ [2]. Клиническая и микробиологическая активность левофлоксацина при терапии ВП у больных ХОБЛ сопоста-

вима с комбинацией усиленной пенициллиназой бета-лактамов и макролидов, однако монотерапия сужает круг возможных побочных эффектов [9]. При этом характерен низкий уровень микробной резистентности к препарату группы респираторных фторхинолонов. По данным многоцентровых исследований ПЕГАС и ЦЕРБЕРУС, не выявлено штаммов к *S. pneumoniae*, нечувствительных к левофлоксацину [3, 6].

Выводы

Таким образом, течение пневмонии у пожилых пациентов с коморбидной патологией при наличии ХОБЛ характеризуется большей тяжестью клинических проявлений и менее выраженной положительной динамикой при антибактериальной терапии. В связи с этим, при лечении бактериальной внебольничной пневмонии на фоне ХОБЛ и ХСН, наряду с обязательной коррекцией дренажной функции бронхов и лёгочной вентиляции и гемодинамических расстройств, в качестве антибактериальной терапии препаратом выбора может являться представитель группы респираторных фторхинолонов левофлоксацин.

Литература

1. Бобылев А.А., Рачина С.А., Авдеев С.Н. и др. Внебольничная пневмония у пациентов пожилого и старческого возраста // Пульмонология. 2015. Т. 3. С. 261–276.
2. Дворецкий Л.И. Внебольничная пневмония у больных хронической обструктивной болезнью лёгких // Практич. пульмонол. 2015. № 2. С. 17–24.
3. Козлов Р.С., Сивая О.В., Кречикова О.И. и др. Динамика резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам в России за период 1999–2009 гг. // Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. 2010. Т. 12. № 4. С. 329–341.
4. Ржанникова Н.И., Ржанникова А.Н. Внебольничная пневмония у пожилых: диагностика на амбулаторном этапе // Акад. журн. Зап. Сибири. 2012. № 3. С. 25–27.
5. Чучалин А.Г. Пневмония: актуальная проблема медицины XXI века // Пульмонология. 2015. № 2. С. 133–142.
6. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С. и др. Российское респираторное общество (РРО). Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ). Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых // Пульмонология. 2014. № 4. С. 13–48.
7. Corrales-Medina V.F., Musher D.M., Wells G.A. Cardiac complications in patients with community-acquired pneumonia: incidence, timing, risk factors, and association with short-term mortality // Circulation. 2012. Vol. 125. № 6. P. 773–781.
8. Effing T.W., Vercoulen J.H., Bourbeau J. et al. Definition of a COPD self-management intervention: International Expert Group consensus // Europ. Respir. J. 2016. Vol. 48. № 1. P. 46–54.
9. Griffin A. T., Wiemken T.L., Arnold F.W. Risk factors for cardiovascular events in hospitalized patients with community-acquired pneumonia // Int. J. Infect. Dis. 2014. № 17. P. e1125–e1129.

10. Mandal P., Chalmers J.D., Choudhury G. et al. Vascular complications are associated with poor outcome in community-acquired pneumonia // *Quart. J. Med.* 2011. № 104. P. 489–495.

11. Sibila O., Mortensen E.M., Anzueto A. et al. Prior cardiovascular disease increases long-term mortality in COPD patients with pneumonia // *Europ. Respir. J.* 2014. Vol. 43. № 1. P. 36–42.

12. Soriano J.B., Suissa S. Ageing lungs and very elderly COPD: anytime and anywhere // *Europ. Respir. J.* 2016. Vol. 47. № 1. P. 379–381.

13. Viasus D., Garcia-Vidal C., Manresa F. et al. Risk stratification and prognosis of acute cardiac events in hospitalized adults

with community-acquired pneumonia // *J. Infect.* 2013. Vol. 66. № 1. P. 27–33.

14. Welte T., Torres A., Nathwani D. Clinical and economic burden of community-acquired pneumonia among adults in Europe // *Thorax.* 2012. Vol. 67. № 1. P. 71–79.

15. World Health Organisation. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). Fact Sheet № 315. Updated 2015 // <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs315/en/index.html>.

16. World Health Organisation. Chronic respiratory diseases. Accessed 2010 // <http://www.who.int/respiratory/copd/burden/en/index.html>.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 394–397

O. V. Fatenkov, T. M. Kuzmina, O. A. Rubanenko, G. N. Svetlova, A. V. Djubailo

COMMUNITY ACQUIRED BACTERIAL PNEUMONIA AND COMORBIDITY IN ELDERLY PATIENTS

Samara State medical university, 89, ul. Chapayevskaya, Samara, 443099; e-mail: olesya.rubanenko@gmail.com

We analyzed the clinical course of pneumonia in 67 elderly patients (39 females and 28 males, mean age 74,4±5,2 years) with chronic heart failure and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Patients were divided into 2 groups: 1st group — patients with COPD, 2nd group — patients without COPD. Pharmacological treatment was performed according to temperature, oxygen saturation, acute phase proteins and included ampicillin and sulbactam. The normalization of temperature and oxygen saturation was observed on 3–4 day in patients of the 1st group and on 2 day in patients of the 2nd group, normalization of leukocyte count and erythrocyte sedimentation rate — on 12–13 and 7–8 days, acute phase indicators (C-reactive protein, fibrinogen) on 7 and 5 days, correspondingly. Positive dynamics of chest X-ray was observed on 13 day in patients of the 1st group (the second control and the replacement of antibiotic for levofloxacin) and on 8 day in patients of the 2nd group (the first control).

Key words: pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease, chronic heart failure, comorbidity, antibacterial therapy, levofloxacin

О. Н. Владимирова¹, А. С. Башкирѳва^{2, 3}, М. В. Коробов¹, О. В. Хорѳкова¹, О. В. Ломоносова⁴

ИНВАЛИДНОСТЬ КАК МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫЙ ИНДИКАТОР СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ И ПОСТАРЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

¹ Санкт-Петербургский институт усовершенствования врачей-экспертов, 194044, Санкт-Петербург, пр. Б. Сампсониевский, 11/12; ² Комитет по здравоохранению Ленинградской области, 191030, Санкт-Петербург, Невский пр., 113; e-mail:angel_darina@mail.ru; ³ Ленинградская областная клиническая больница, 194291, Санкт-Петербург, пр. Луначарского, 45–49; ⁴ Главное бюро медико-социальной экспертизы по г. Санкт-Петербургу, 191014, Санкт-Петербург, Литейный пр., 58, лит. А

По данным государственной статистики проведен сравнительный анализ показателей общей инвалидности в РФ за 2010–2016 гг. с учетом показателей численности населения трудоспособного и старше трудоспособного возраста. Показана необходимость интеграции политики в отношении старшего поколения и социальной политики в отношении инвалидов: целесообразно внести коррективы в общенациональные стратегии и программы, предусматривающие обязанности органов власти по защите и поощрению прав инвалидов, предполагающие развитие профилактического, реабилитационного и медико-социального направлений в интересах граждан старшего поколения.

Ключевые слова: социальная геронтология, постарение населения, инвалидность, медико-социальные индикаторы, лица трудоспособного возраста, лица старше трудоспособного возраста

Показатели инвалидности являются медико-социальным индикатором здоровья населения, характеризуют уровень социально-экономического развития общества, эффективность проводимых профилактических мер и т. п. В современной России происходит совершенствование государственной политики как в интересах граждан старшего поколения [1–3], так и в сфере социальной защиты инвалидов разного возраста [4–9]. Разработаны «Стратегия действий в интересах граждан старшего поколения в Российской Федерации до 2025 года» и «План мероприятий на 2016–2020 гг. по реализации первого её этапа» [1–2, 6, 7]. На решение национальных задач в сфере социальной защиты инвалидов путем создания доступной среды, развития системы медико-социальной экспертизы и реабилитации инвалидов в 2011–2020 гг. выделено бюджетных ассигнований федерального бюджета и государственных внебюджетных фондов около 424 млрд руб. [10, 11].

Цель исследования — оценка основных эпидемиологических показателей общей инвалидности населения РФ для внесения предложений по совершенствованию государственной политики в отношении лиц трудоспособного возраста (ЛТВ) и лиц старше трудоспособного возраста (ЛСТВ), в том числе инвалидов.

Материалы и методы

По данным официальной статистики проанализированы показатели численности, уровня и структуры общей инвалидности в РФ, в том числе ЛТВ и ЛСТВ, действующие российские и международные документы. Для расчетов использованы статистические сведения Росстата, Министерства труда и социальной защиты РФ и Федерального регистра лиц, имеющих право на получение государственной социальной помощи. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного пакета SPSS 21. Оценку закона распределения признаков выполняли с помощью критериев χ^2 с поправкой Лилифорса и Шапиро–Уилка. Для сравнения двух групп (ЛТВ и ЛСТВ) использовали t -критерий Стьюдента и критерий Манна–Уитни–Вилкоксона. Для анализа качественных или номинальных данных строили таблицы сопряженности и рассчитывали критерий χ^2 . Критическое значение уровня значимости при всех видах статистического анализа принимали равным 0,05. Методологической основой данного исследования были принципы доказательной медицины.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что общее число инвалидов в РФ сократилось с 13 134 тыс. человек в 2010 г. до 12 751 тыс. человек в 2016 г. (табл. 1). В общую численность инвалидов были включены лица, состоявшие на учете и получавшие пенсию в системе Пенсионного фонда РФ, Министерства обороны РФ, Министерства внутренних дел РФ и Федеральной службы безопасности РФ, Федеральной службы исполнения наказаний Минюста России и Федеральной службы РФ по контролю за оборотом наркотиков. С 2015 г. сведения, представленные в табл. 1, проанализированы с учетом численности инвалидов по Крымскому федеральному округу.

Удельный вес инвалидов среди населения в РФ уменьшился за 2010–2015 гг. с 9,2 до 8,8%. Удельный вес инвалидов среди пенсионеров, состоящих на учете в системе Пенсионного фонда РФ, составил за исследуемый период в среднем $31,7 \pm 0,4\%$, с уменьшением в динамике с 33,1 до 30,3%, соответственно.

Анализ численности инвалидов в РФ за 2010–2016 гг., получавших пенсии, показал ежегодное снижение показателя, начиная с 2012 г. ($p < 0,05$). Наибольший темп снижения наблюдали в 2014 г. и 2016 г. — 1 и 1,3%, соответственно. В целом за 7 лет снижение общего числа инвалидов составило 2,9%. Уровень общей инвалидности также снизился с 92,5 на 1 тыс. человек в 2011 г. до 87 в 2016 г., соответственно (рис. 1).

Таким образом, зарегистрировано снижение уровня общей инвалидности на фоне увеличения численности населения страны. Изучение динамики медико-демографических показателей в РФ за 12 лет (2004–2015 гг.) выявило увеличение численности населения страны на 2 136 тыс. человек, при этом численность ЛТВ

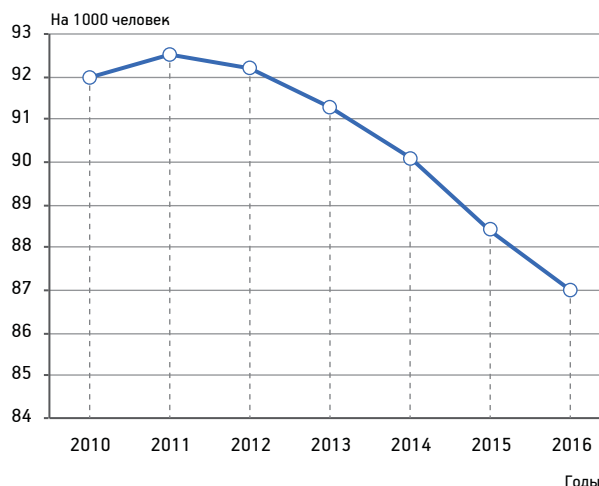


Рис. 1. Динамика уровня общей инвалидности населения в РФ за 2010–2016 гг. (по данным Росстата)

уменьшилась на 4 437 тыс. человек, а ЛСТВ — возросла на 5 817 тыс. человек. Иными словами, число ЛСТВ из года в год возрастало (табл. 2). Наибольший темп прироста наблюдали в 2010 и 2015 г., когда анализируемый показатель достиг +4,1 и +3,8%, соответственно. В целом за 12 лет увеличение числа ЛСТВ произошло на 19,8%, при этом численность ЛТВ с каждым годом достоверно снижалась. Исключение составили 2005, 2006 и 2015 гг., когда темп прироста колебался от +0,1 до +0,3%. Максимальный темп снижения анализируемого показателя наблюдался в 2010 г. и составил –1,5%. В целом за 12 лет снижение численности населения трудоспособного возраста РФ составило 4,9%.

В РФ процессы старения населения происходят на фоне относительно низкой продолжительности жизни граждан и сохраняющейся высокой смертности трудоспособного населения, причем каждый четвертый находится в возрасте старше трудоспособного. Сохраняется гендерная диспропорция

Таблица 1

Показатели общей численности и удельного веса инвалидов в РФ (по данным Росстата, 2010–2016 гг.)

| Показатель | Годы | | | | | | |
|-------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
| | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 |
| Общее число инвалидов, тыс. человек | 13134 | 13209 | 13189 | 13082 | 12946 | 12924 | 12751 |
| Численность населения РФ, тыс. человек | 142857 | 142865 | 143056 | 143347 | 143667 | 146267 | – |
| Удельный вес инвалидов среди населения, % | 9,2 | 9,2 | 9,2 | 9,1 | 9,0 | 8,8 | – |
| Численность лиц, получающих пенсии в РФ, тыс. человек | 39706 | 40162 | 40573 | 41019 | 41456 | 42729 | – |
| Удельный вес инвалидов среди лиц, получающих пенсии в РФ, % | 33,1 | 32,9 | 32,2 | 31,9 | 31,2 | 30,3 | – |

Динамика численности лиц трудоспособного и старше

| Показатель | Годы | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 2004 | | 2005 | | 2006 | | 2007 | | 2008 | |
| | ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ |
| Численность, тыс. человек | 89852 | 29346 | 90099 | 29353 | 90157 | 29408 | 90058 | 29732 | 89745 | 30161 |
| Абсолютный прирост, тыс. человек | – | – | +247 | +7 | +58 | +55 | –99 | +324 | –313 | +429 |
| Темп прироста, % | – | – | +0,3 | +0,02 | +0,1 | +0,2 | –0,1 | +1,1 | –0,3 | +1,4 |
| Показатель наглядности для ЛТВ, % | 100 | – | 100,3 | – | 100,3 | – | 100,2 | – | 99,8 | – |
| Показатель наглядности для ЛСТВ, % | – | 100 | – | 100 | – | 100,2 | – | 101,3 | – | 102,8 |

Примечание. ЛТВ — лица трудоспособного возраста; ЛСТВ — лица старше трудоспособного возраста.

в численности ЛСТВ: на начало 2015 г. на 1 тыс. мужчин 60 лет и старше приходилось 1 854 женщины. Был отмечен относительный рост продолжительности жизни населения — с 67,61 года в 2007 г. до 70,93 года в 2014 г. [1, 7].

Снижение показателей общей инвалидности в первую очередь связано с устойчивым уменьшением начиная с 2006 г. числа граждан впервые признанных инвалидами в учреждениях медико-социальной экспертизы (МСЭ). Так, в 2005 г. в учреждения МСЭ были направлены 1 799 тыс. граждан, которым установлена инвалидность впервые, а в 2015 г. в 2,6 раза меньше — лишь 695 тыс. человек. Среди впервые направленных и признанных инвалидами зарегистрировано ЛСТВ в 1,3 раза больше, чем ЛТВ ($p < 0,05$).

Анализ структуры инвалидности в 2016 г. выявил следующие особенности: среди всех инвалидов, получавших пенсионные выплаты, инвалиды I группы составили 1 283 тыс. человек (10,6 %), II группы — 6 250 тыс. человек (51,5 %), III группы — 4 601 тыс. человек (37,9 %), соответственно. В среднем с 2010 по 2016 г. в структуре общей инвалидности преобладали инвалиды II группы — их удельный вес составил $54,54 \pm 0,06$ %; III группы — $33,36 \pm 0,11$ %; I группы — $12,09 \pm 0,81$ %. Изучение динамики анализируемого показателя за период 2010–2016 гг. выявило снижение как абсолютной численности инвалидов I группы с 1 920 тыс. человек в 2010 г. до 1 283 тыс. в 2016 г., так и их удельного веса — с 15,2 до 10,6 %, а также снижение численности инвалидов II группы — с 7 086 до 6 250 тыс. человек (с 56,2 до 51,5 %), соответственно. Численность инвалидов III группы возросла за анализируемый период с 3 609 до 4 601 тыс. человек, удельный вес — с 28,6 до 37,9 %, соответственно.

Анализ показателей общей инвалидности в возрастном аспекте выявил следующие особенности: в РФ на 1 января 2015 г. зарегистрированы 12 066 тыс. взрослых инвалидов (18 лет и старше), из них 31,5 % составили ЛТВ с преобладанием в данной возрастной группе лиц молодого возраста 18–30 лет (табл. 3). Как видно из данных табл. 3, среди мужчин-инвалидов ЛСТВ составили 52,4 %, ЛТВ — 47,6 %, при этом большая часть (40,7 % из числа всех мужчин-инвалидов) — 31–59 лет. В то же время, среди женщин-инвалидов ЛСТВ составили 80 %, что в 4 раза больше, чем женщин-инвалидов в трудоспособном возрасте ($p < 0,05$).

Нами зарегистрированы гендерные различия в составе общей взрослой инвалидности в РФ на 01.01.2015 г. В частности, мужчин-инвалидов в трудоспособном возрасте больше, чем женщин-инвалидов, в 1,7 раза ($p < 0,05$), в возрастной группе 18–30 лет — в 1,4 раза ($p < 0,05$), в группе 31–54/59 лет — в 1,7 раза ($p < 0,05$), соответственно. Среди лиц старше трудоспособного возраста женщин-инвалидов было в 2,1 раза больше, чем мужчин-инвалидов ($p < 0,05$), рис. 2.

Анализ основных медико-демографических показателей за 2010–2016 гг. выявил уменьшение численности и уровня общей инвалидности на фоне роста численности ЛСТВ и снижения числа ЛТВ. Основной фактор, определяющий уровень общей взрослой инвалидности, — первичная инвалидность. Такое парадоксальное развитие общей инвалидности на фоне постарения населения, возможно, является подтверждением гипотезы «управляемой инвалидности», которая характеризуется значимой ролью нормативно-правовых документов в регулировании процедуры и критериев установления инвалидности, часто приводя к расхождению

трудоспособного возраста в РФ за 2004–2015 гг.

| Годы | | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 2009 | | 2010 | | 2011 | | 2012 | | 2013 | | 2014 | | 2015 | |
| ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ | ЛТВ | ЛСТВ |
| 89342 | 30541 | 87983 | 31714 | 87847 | 31809 | 87055 | 32433 | 86137 | 33100 | 85162 | 33788 | 85415 | 35163 |
| -403 | +380 | -1359 | +1173 | -136 | +95 | -792 | +624 | -918 | +667 | -975 | +688 | +253 | +1375 |
| -0,4 | +1,3 | -1,5 | +3,8 | -0,2 | +0,3 | -0,9 | +2,0 | -1,1 | +2,1 | -1,1 | +2,1 | +0,3 | +4,1 |
| 99,4 | - | 97,9 | - | 97,8 | - | 96,9 | - | 95,9 | - | 94,8 | - | 95,1 | - |
| - | 104,1 | - | 108,1 | - | 108,4 | - | 110,5 | - | 112,8 | - | 115,1 | - | 119,8 |

Таблица 3

Показатели общей инвалидности в возрастном и гендерном аспектах в РФ (данные Федерального регистра лиц, имеющих право на получение государственной социальной помощи на 1 января 2015 г.)

| Показатель | Всего инвалидов | | В том числе | | | |
|--------------------------------------------------|-----------------|------|-------------|------|------------|------|
| | абс. число | % | мужчин | | женщин | |
| | | | абс. число | % | абс. число | % |
| Общее число инвалидов 18 лет и старше, тыс. чел. | 12066 | 100 | 5021 | 100 | 7045 | 100 |
| Лица трудоспособного возраста, в том числе | 3801 | 31,5 | 2389 | 47,6 | 1411 | 20 |
| 18–30 лет | 587 | 4,9 | 345 | 6,9 | 242 | 3,4 |
| мужчины 31–59 лет, женщины 31–54 лет | 3214 | 2,7 | 2044 | 40,7 | 1169 | 16,6 |
| Лица старше трудоспособного возраста, тыс. чел. | 8265 | 68,5 | 2632 | 52,4 | 5634 | 80 |

ожиданий общества в отношении социальной поддержки граждан путем установления инвалидности и возможностей государства.

Основные социально-гигиенические особенности показателей общей инвалидности в РФ, характеризующих контингент лиц, получающих пенсии по инвалидности:

- среди инвалидов преобладают ЛСТВ (в среднем 68,5 %);

- наибольший удельный вес в структуре общей инвалидности — у I и II групп (с выраженными и значительно выраженными нарушениями функций организма);

- в динамике с 2010 по 2016 г. прослеживалось увеличение абсолютной численности и удельного веса инвалидов III группы, а также снижение численности и доли инвалидов I и II групп;

- доминирование женщин-инвалидов (в 2,1 раза) среди инвалидов старше трудоспособного возраста (соотношение мужчин и женщин — 31,8 и 68,2 %, соответственно).

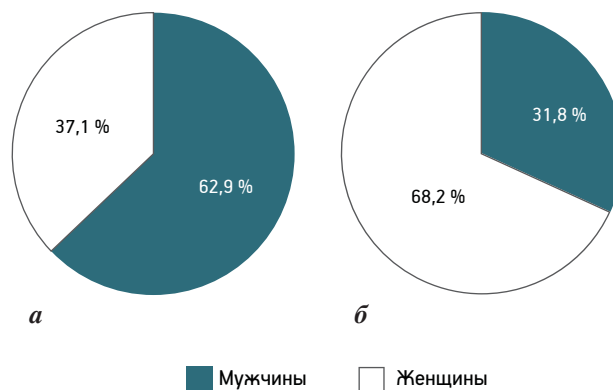


Рис. 2. Гендерная структура общей инвалидности среди лиц трудоспособного (а) и старше трудоспособного возраста (б) в РФ (2015 г.)

Заключение

Складывающаяся социально-демографическая ситуация в РФ ставит новые цели и задачи перед государством и обществом, направленные не только на обеспечение основных потребностей инвалидов, но и учет особенностей граждан старшего поколения, которые формируют большую

часть общей и первичной инвалидности. В общенациональные стратегии и программы, предусматривающие обязанности органов власти по защите и поощрению прав инвалидов, необходимо внести коррективы, предполагающие развитие профилактического, реабилитационного и медико-социального направлений в интересах граждан старшего поколения. Для совершенствования организационно-методической деятельности учреждений и организаций, оказывающих услуги инвалидам, в том числе лицам старше трудоспособного возраста, необходимо изучать и внедрять положения Конвенции о правах инвалидов [4], Международной классификации функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья [5], Стратегии действий в интересах граждан старшего поколения в Российской Федерации до 2025 года [7]. Необходима дальнейшая работа по уточнению поставленных задач и целевых ориентиров для разных уровней реализации социальной политики государства в отношении граждан старшего поколения (федерального, регионального, местного) по профилактическому, реабилитационному и медико-социальному направлениям, расчеты необходимых средств и поиски механизмов финансирования. Таким образом, показатели общей инвалидности можно рассматривать как медико-социальные индикаторы состояния здоровья и постарения населения в РФ.

Литература

1. Башкирёва А.С. Инновационные геронотехнологии в развитии стратегии действий в интересах граждан стар-

шего поколения в РФ // Вестн. Росздравнадзора. 2016. № 4. С. 19–24.

2. Башкирёва А.С., Шестаков В.П., Свинцов А.А. и др. Законодательное закрепление вопросов социального обслуживания граждан пожилого возраста в Российской Федерации (обзор) // Успехи геронтол. 2014. Т. 27. № 2. С. 297–301.

3. Владимирова О.Н., Корюков А.А., Орешков А.Б. и др. Организация реабилитации и абилитации инвалидов с последствиями болезней опорно-двигательной системы в Российской Федерации // Гений ортопедии. 2016. № 4. С. 62–66.

4. Конвенция о правах инвалидов: Конвенция Государств от 13.12.2006. Бюллетень международных договоров. 2013. № 7.

5. Международная классификация функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья: 54-я сессия Ассамблеи ВОЗ 22 мая 2001 г. // Библ. служба ВОЗ. СПб Институт усовершенствования врачей-экспертов Министерства труда и социального развития РФ, 2003.

6. Об утверждении плана мероприятий на 2016–2020 гг. по реализации первого этапа Стратегии действий в интересах граждан старшего поколения до 2025 года: распоряжение Правительства РФ от 29.11.2016 № 2539-р [Электронный ресурс]. Режим доступа: www.pravo.gov.ru (дата обращения 13.01.2017).

7. Об утверждении Стратегии действий в интересах граждан старшего поколения в Российской Федерации до 2025 года: распоряжение Правительства РФ от 05.02.2016 № 164-р [Электронный ресурс]. Режим доступа: www.pravo.gov.ru (дата обращения 13.01.2017).

8. О приоритетах Правительства Российской Федерации в социальной сфере на среднесрочную перспективу: постановление Совета Федерации от 12.10.2016 N 455-СФ // Собр. законодательства РФ. № 45 (ч. II). 07.11.2016. Ст. 6207.

9. О социальной защите инвалидов в Российской Федерации: Федеральный закон от 24.11.1995 № 181-ФЗ // Собр. законодательства РФ. № 48. 27.11.95. Ст. 4563.

10. Об основах социального обслуживания граждан в Российской Федерации: Федеральный закон от 28.12.2013 № 442-ФЗ // Собр. законодательства РФ. № 52 (ч. I). 30.12.2013. Ст. 7007.

11. Об утверждении государственной программы Российской Федерации «Доступная среда» на 2011–2020 годы: Постановление Правительства РФ от 01.12.2015 № 1297 [Электронный ресурс]. Режим доступа: www.pravo.gov.ru (дата обращения 13.01.2017).

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 398–402

O. N. Vladimirova¹, A. S. Bashkireva^{2,3}, M. V. Korobov¹, O. V. Khorkova¹, O. V. Lomonosova⁴

DISABILITY AS A MEDICAL AND SOCIAL INDICATOR OF HEALTH STATUS AND AGING AMONG RUSSIAN POPULATION

¹ Saint-Petersburg Postgraduate Institute of Medical experts, 11/12, B. Samsonievsky pr., St. Petersburg, 194044;

² Health Committee of the Leningrad Region, 113, Nevsky pr., St. Petersburg, 191030;

e-mail: angel_darina@mail.ru; ³ Leningrad Regional Hospital, 45–49, Lunacharskogo pr., St. Petersburg, 194291; ⁴ Main bureau of medical and social expertise in Saint-Petersburg, 58-A, Liteiny pr., St. Petersburg, 191014

According to the State Statistics a comparative analysis of total disability in the Russian Federation in 2010–2016 years was conducted, taking into account the performance of the working-age and over working-age population. The necessity of integration policy towards the older generation and social policy in respect of disabled persons is shown: it is advisable to make adjustments to the national strategies and programs involving the duties of authorities to protect and promote the rights of disabled people, the development of preventive, rehabilitation, medical and social trends in the interests of senior citizens are involved.

Key words: social gerontology, aging, disability, medical and social indicators, persons of working age, persons over working age

В. С. Мякотных, В. В. Третьяков, А. А. Бальберт

ВОЗРАСТНЫЕ АСПЕКТЫ МЫШЕЧНО-ТОНИЧЕСКИХ И УРОЛОГИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ У МУЖЧИН С РАССТРОЙСТВАМИ ТАЗОВЫХ ФУНКЦИЙ: ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ, ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ

Уральский государственный медицинский университет, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3, e-mail: vmaykotnykh@yandex.ru

В результате сравнительного обследования 100 пациентов разного возраста, страдавших расстройствами мочеиспускания, эректильной функции и тазовыми болями, выявлены возрастные особенности указанных патологических проявлений. У лиц молодого и среднего возраста значительно чаще, чем у пожилых, отмечены ирритативные расстройства мочеиспускания, а obstructивные расстройства чаще встречали у пожилых. В пожилом и старческом возрасте чаще выявляли снижение сократительной способности детрузора, а в более молодом — гипертоonus поперечнополосатого сфинктера уретры и гиперактивность мочевого пузыря. Показано участие длительно существующего спазма ряда мышечных образований поясничной, тазовой и бедренной области в генезе нарушений мочеиспускания, эректильной дисфункции и тазовых болей. При использовании мануальной терапии, физиотерапии и ботулинотерапии достигнута высокая результативность в отношении расстройств мочеиспускания, эректильной функции и тазовых болей независимо от возраста пациентов. Рекомендуется к диагностике урологической патологии привлекать специалистов в области неврологии и мануальной терапии. В случаях диагностики мышечно-тонических расстройств, этиологически не связанных с патологическими процессами в органах мочеполовой системы, в комплекс лечебных мер рекомендуется включать методы мануальной терапии, физиотерапии, ботулинотерапии.

Ключевые слова: мужчины, расстройства тазовых функций, урологические синдромы, мышечно-тонические синдромы, мануальная терапия, физиотерапия, ботулинотерапия

Урологическая патология, как известно, является одной из наиболее распространенных проблем у мужчин пожилого и старческого возраста, а самая частая жалоба на приеме у врача-уролога — расстройства мочеиспускания [1, 7]. При этом выделяют следующие основные причины, приводящие к нарушению мочеиспускания и связанные с заболеваниями предстательной железы:

доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ), хронический простатит, рак предстательной железы. Причинами нарушений мочеиспускания, не связанными с первичным поражением предстательной железы, могут быть также инфекции мочеполовых путей, камни, опухоли, склероз шейки мочевого пузыря, интерстициальный цистит, стриктура уретры и некоторые другие. Нередко встречаются и нейрогенные расстройства мочеиспускания, формирующиеся у лиц с целым рядом неврологических патологических процессов. Это могут быть болезни Паркинсона, Альцгеймера, рассеянный склероз, последствия церебральных и спинальных инсультов, травмы спинного мозга, патология позвоночника и др.

В последние годы в качестве причинных факторов нарушений мочеиспускания рассматривают разного рода мышечно-тонические, миофасциальные синдромы, являющиеся, по существу, осложнением целого ряда патологических процессов, чаще всего со стороны структур позвоночника. Клинически они могут проявляться болями различной локализации и выраженности, нарушениями двигательных и чувствительных функций, расстройствами в мочевыделительной и половой сфере [3]. При этом нередко возникают определенные трудности в постановке правильного диагноза и выборе тактики лечебно-восстановительных мер.

У лиц молодого и среднего возраста присутствие мышечно-тонических синдромов уже при первичном осмотре пациента чаще всего связывают с патологией позвоночника или же с физическими перегрузками, спортивными и иными травмами. У пожилых клинические проявления данных синдромов нередко вначале ошибочно расценивают как симптомы сердечно-сосудистой, нейродегенеративной, гинекологической, урологической пато-

логии [4]. В итоге, пациенты пожилого и старческого возраста иногда годами получают неадекватное лечение. Это приводит к хронизации патологических процессов, которыми обусловлены спастические проявления со стороны многих мышц.

Более того, мы обратили внимание на то, что у некоторых пациентов разного возраста, страдавших ДГПЖ, хирургическое удаление предстательной железы не приводило к отчетливо позитивному результату, и имевшие место до операции расстройства мочеиспускания, эректильной функции, тазовые боли сохранялись. Это заставило задуматься о том, что причинами урологических расстройств могут быть нарушения, которые часто не актуализируются и остаются не выявленными. Учитывая нередко встречающуюся в любом возрасте патологию позвоночника, мы решили обратить внимание на связанные с ней мышечно-тонические синдромы, которые также могут способствовать формированию тазовых нарушений, но оставаться при этом недиагностированными. Особое внимание привлекли так называемые тазовые боли, которые имели место практически у всех пациентов с сохранившимися после простатэктомии проблемами. Действительно, современные представления о хронических тазовых болях указывают не только на урологические причины, такие как хронический простатит и ДГПЖ, но и на возможную неврологическую патологию, которая вызывает данную симптоматику. В ряде работ прямо утверждается, что в патогенезе синдрома хронической тазовой боли ведущую роль играют миофасциальные, мышечно-тонические синдромы с вовлечением мышц тазового дна и сопутствующая им нейропатия полового нерва [9, 10]. Возможно ущемление бедренно-полового нерва уплотненным пучком волокон большой поясничной мышцы. В указанной мышце присутствует триггерная точка, воздействие на которую может вызвать боль и парестезии в паху, мошонке или половых губах, а также в проксимальных отделах передней и внутренней поверхности бедра [5]. Достаточно часто выявляют анатомические варианты прохождения нервов поясничного сплетения и их ветвей непосредственно через брюшко поясничной мышцы, что может вызвать их компрессию при длительном тоническом напряжении этой мышцы и этим спровоцировать боль в тазовой области [8].

Способы лечения хронических тазовых болей мышечно-фасциального генеза были рассмотрены в обзоре литературы, опубликованном в 2012 г. российскими авторами [2]. Интересен тот факт,

что во всех клинических примерах, представленных в публикации, лечение включало инъекции ботулотоксина типа А в мышцы, вызывающие компрессию ряда нервов. На наш взгляд, знание наиболее отчетливых клинических особенностей мышечно-тонических и урологических синдромов у представителей разных возрастных категорий могло бы помочь как в проведении методов адекватной диагностики, так и результативного лечения.

Цель исследования — выявление и определение клинических особенностей мышечно-тонических синдромов у мужчин разного возраста, имеющих урологические проблемы, и разработка на этой основе диагностических и лечебных рекомендаций.

Материалы и методы

В течение ряда лет наблюдали пациентов разного возраста, обратившихся к урологу по поводу расстройств мочеиспускания, эректильной дисфункции и болей в области таза, нижней части живота, поясничной области, промежности, задней и внутренней поверхности бедра. Методом случайной выборки, с учетом возраста пациентов на момент обращения были определены две сравниваемые группы: 1-я ($n=50$) — лица молодого и среднего возраста 24–50 лет (средний возраст $42,37 \pm 1,24$ года), 2-я ($n=50$) — лица пожилого возраста 60–78 лет (средний возраст $69,17 \pm 1,42$ года). Пациенты обеих групп были полностью сопоставимы по длительности заболевания — от 1 года до 5 лет (в 1-й группе — $3,95 \pm 0,09$ года, во 2-й — $3,97 \pm 0,1$ года).

Всем представителям обеих групп первично был выставлен диагноз либо хронического простатита ($n=39$), либо ДГПЖ ($n=8$), либо их сочетаний ($n=53$). При этом у представителей 1-й группы отчетливо чаще диагностировали воспалительную патологию предстательной железы ($n=34$; 68%), у 2-й группы — ДГПЖ ($n=48$; 94%). В процессе дальнейших междисциплинарных обследований и лечения с участием невролога и мануального терапевта указанные диагнозы пересматривали, уточняли и дополняли.

При обследовании пациентов оценивали характеристики болевых синдромов (локализацию, степень выраженности, продолжительность, хронизацию), двигательных расстройств (степень ограничения двигательных функций поясничного отдела позвоночника и нижних конечностей), урогенитальных нарушений (расстройства мочеиспу-

скания, эректильной функции, разновидности синдрома хронической тазовой боли).

Кроме стандартных клинических, инструментальных и лабораторных методов исследования, применяли методы КТ и МРТ различных отделов позвоночника, органов малого таза, почек, УЗИ почек, мочевого пузыря с определением объёма остаточной мочи, трансректальное УЗИ предстательной железы. Комплексные урологические исследования включали также уретроцистоскопию, уродинамическое исследование, урофлоуметрию, заполнение опросников международной системы суммарной оценки симптомов при заболеваниях предстательной железы (I-PSS) [6], международного индекса эректильной дисфункции (МИЭФ-5), дневника мочеиспускания.

В процессе лечения применяли физиотерапевтические методики, лекарственные препараты противоболевого, противовоспалительного и антиспастического действия, методы мануальной терапии, медикаментозные блокады большой поясничной или грушевидной мышцы с использованием ботулотоксина типа А. Для определения мышцы — мишени для инъекции ботулотоксина А применяли неврологический осмотр и КТ и/или МРТ. При ведущих жалобах на боль в области промежности, поясницы, по внутренней и задней поверхности бедра, при положительных симптомах Бонне—Бобровниковой (снижение амплитуды движения в тазобедренном суставе и болезненность при пассивном приведении бедра с одновременной ротацией его внутрь) и Виленкина (боль по задней поверхности бедра и голени, вызываемая перкуссией в области ягодицы в проекции грушевидной мышцы) проводили инъекцию ботулотоксина типа А в грушевидную мышцу на стороне болевого синдрома. Происходящее после инъекции расслабление грушевидной мышцы приводило к ликвидации компрессии полового и седалищного нервов, анатомически проходящих по соседству с данной мышцей, в подгрушевидном пространстве, и это способствовало прекращению болевых ощущений. В случае же жалоб только на боли в промежности или на сочетание их с болями в подвздошных областях осуществляли инъекции ботулотоксина типа А в большую поясничную мышцу. В результате, была ликвидирована компрессия нервов поясничного сплетения, в частности бедренно-полового, подвздошно-полового и подвздошно-подчревного, и боли, вызванные данной компрессией, также прекратились. Наведение инъекционной иглы с помощью КТ

и МРТ обеспечивало полную визуализацию той или иной мышцы и стопроцентное попадание в нее ботулотоксина типа А.

При отсутствии отчетливого эффекта от проводимой терапии у 6 (12 %) представителей 1-й группы с диагностированной ДГПЖ и выраженными обструктивными симптомами было произведено хирургическое вмешательство, а именно трансуретральная резекция предстательной железы. Во 2-й группе также были прооперированы 26 (52 %) пациентов с ДГПЖ и выраженными обструктивными симптомами.

Результаты и обсуждение

У представителей 1-й группы при первичном обследовании отмечали следующие клинические проявления урологической патологии: нарушения мочеиспускания — у 34 (68 %) пациентов, обструктивные нарушения — у 10 (29,41 %), из них ирритативные — у 12 (35,29 %), смешанные — у 12 (35,29 %). Суммарный показатель шкалы I-PSS составил $18,63 \pm 0,38$ балла, индекс оценки качества жизни (QOL) урологических больных, свидетельствующий об отношении пациента к предполагаемой возможности жить с имеющимися проблемами мочеиспускания до конца его жизни, — $4,4 \pm 0,1$ балла. У 28 (56 %) пациентов имели место проявления эректильной дисфункции, и средний суммарный показатель шкалы МИЭФ-5 составил у них $12,02 \pm 0,4$ балла. У 22 (44 %) пациентов были отмечены различные разновидности тазовых болей, сопровождавшиеся проявлениями цисталгии, орхиалгии и нарушениями чувствительности в области наружных половых органов.

У представителей 2-й группы нарушения мочеиспускания имели место у 48 (96 %) пациентов, обструктивные нарушения — у 26 (54,17 %) из них, ирритативные — у 6 (12,5 %), смешанные — у 16 (33,33 %). Средний суммарный показатель шкалы I-PSS составил $21,54 \pm 0,33$ балла, индекс оценки качества жизни (QOL) — $5,1 \pm 0,2$ балла. У 39 (78 %) пациентов отмечены проявления эректильной дисфункции при среднем суммарном показателе шкалы МИЭФ-5, равном $11,3 \pm 0,39$ балла. На хронические тазовые боли жаловались 16 (32 %) пациентов.

Сравнительные данные о разных нарушениях тазовых функций у представителей обеих групп представлены на рис. 1. Они свидетельствуют о том, что расстройства мочеиспускания и эрек-

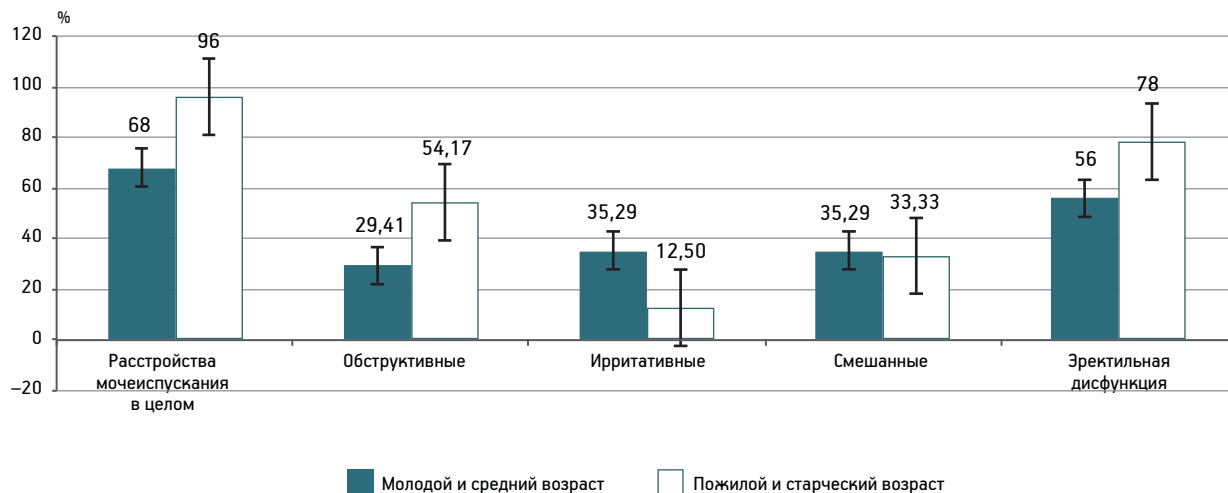


Рис. 1. Расстройства тазовых функций у мужчин разного возраста

тальной функции чаще имели место у представителей пожилого и старческого возраста, чем у более молодых мужчин. Но при этом у лиц молодого и среднего возраста значительно чаще ($p < 0,05$) определяли нарушения мочеиспускания ирритативного типа, тогда как у пожилых преобладали обструктивные расстройства.

После хирургического лечения по поводу ДГПЖ у 3 (50%) из 6 представителей 1-й группы не получено положительной динамики, в том числе по результатам урофлоуметрии. Такая же ситуация отмечена у 6 (23,08%) из 26 пациентов 2-й группы. Полученные результаты заставили предположить, что причины нарушений мочеиспускания у 9 (28,12%) из 32 прооперированных пациентов были связаны не только и не столько с ДГПЖ, сколько с иными причинными факторами, и это было особенно заметным у лиц молодого и среднего возраста.

При дополнительном обследовании пациентов 1-й группы с отсутствием позитивного результата хирургического вмешательства, у 2 (66,67%) из них выявлены признаки гипертонуса поперечно-полосатого сфинктера уретры, у 1 (33,33%) — снижение сократительной активности детрузора. У пациентов 2-й группы с аналогичными результатами хирургического вмешательства гипертонус поперечно-полосатого сфинктера уретры был выявлен у 4 (15,38%), снижение сократительной активности детрузора — у 2 (7,69%). Среди неоперированных представителей 1-й группы, страдавших нарушениями мочеиспускания ($n=28$), гипертонус поперечно-полосатого сфинктера уретры был выявлен у 15 (53,6%) человек, снижение сократительной активности детрузора — у 3 (10,7%),

гиперактивный мочевой пузырь — у 10 (35,71%). Среди неоперированных пациентов 2-й группы с нарушениями мочеиспускания ($n=22$) гипертонус поперечнополосатого сфинктера уретры выявили у 8 (36,4%) человек, снижение сократительной активности детрузора — у 6 (27,3%), гиперактивный мочевой пузырь — у 8 (36,4%). Суммарные относительные показатели присутствия выделенных урологических мышечных нарушений у лиц с расстройствами мочеиспускания ($n=82$) в зависимости от возраста пациентов представлены на рис. 2.

Из представленных данных очевидно, что проявления мышечной спастичности, такие как гипертонус поперечнополосатого сфинктера уретры и гиперактивный мочевой пузырь, почти в 2 раза более характерны для представителей молодого и среднего возраста, чем пожилого и старческого. А вот снижение сократительной способности детрузора, наоборот, несколько чаще встречается у пожилых.

Пациентам, у которых выявлены описанные выше мышечно-тонические синдромы, связанные с нарушениями мочеиспускания, вполне можно введение ботулотоксина типа А в дозе 100 Ед в поперечнополосатый сфинктер уретры. Инъекции выполняли через промежность под контролем МРТ, что позволяло точно контролировать нацеливание кончика иглы в нужную мышцу. Данный вид лечения использовали в комбинации с мануальной терапией и физиотерапевтическими методами. У всех получен положительный результат. Пациентам с выявленной гиперактивностью мочевого пузыря проводили мануальную терапию в сочетании с физиотерапией, но без



Рис. 2. Урологические мышечные расстройства у мужчин разного возраста

использования ботулотоксина типа А. После проведенных вариантов лечения суммарный показатель шкалы I-PSS у представителей 1-й группы наблюдений снизился с $18,63 \pm 0,38$ до $8,1 \pm 0,4$ балла ($p < 0,05$), индекс оценки качества жизни (QOL) — с $4,4 \pm 0,1$ до $2,1 \pm 0,05$ балла ($p < 0,05$). У представителей 2-й группы также произошло отчетливое снижение указанных показателей: I-PSS — с $21,54 \pm 0,33$ до $11,3 \pm 0,3$ балла ($p < 0,05$), QOL — с $5,1 \pm 0,2$ до $2,5 \pm 0,1$ балла ($p < 0,05$). Ни в одном случае не отмечено каких-либо неблагоприятных побочных эффектов проводимой терапии. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о высокой результативности и безопасности используемого лечения вне зависимости от возраста пациентов.

Пациентам, страдавшим эректильной дисфункцией ($n=67$), изначально назначали ингибиторы фосфодиэстеразы 5-го типа. При этом хороший эффект от их применения отметили 16 (57,14 %) представителей 1-й группы и 12 (30,77 %) — 2-й. Удовлетворительные результаты имели место у 5 (17,86 %) пациентов 1-й группы и у 7 (17,95 %) — 2-й. Полученная не слишком высокая результативность применения указанных лекарственных препаратов, в особенности у пожилых, а также наличие у всех пациентов жалоб на периодические болевые ощущения в поясничной, тазовой области, по задней и внутренней поверхности бедра заставили прибегнуть к подробному обследованию у невролога и мануального терапевта. В процессе обследования у всех пациентов выявлены мышечно-тонические синдромы с заинтересованностью большой поясничной мышцы, связанные с патологическими изменениями поясничного отдела по-

звоночника. В связи с этим дополнительно были проведены курсы мануальной терапии, физиотерапии в сочетании с инъекциями ботулотоксина типа А в большую поясничную мышцу с двух сторон, по 75 Ед в каждую мышцу. Хороший эффект проведенной комплексной терапии отметили 26 (92,86 %) представителей 1-й группы и 33 (84,62 %) — 2-й. Показатели шкалы МИЭФ-5 возросли у пациентов 1-й группы с $12,02 \pm 0,4$ до $23,1 \pm 0,28$ балла, 2-й группы — с $11,3 \pm 0,39$ до $19,2 \pm 0,2$ балла ($p < 0,05$). Неблагоприятных побочных эффектов проводимого лечения не зафиксировано ни в одном случае. У 2 (7,14 %) представителей 1-й группы и у 6 (15,38 %) 2-й группы положительного результата лечения не получено, а при дополнительном обследовании выявлена сосудистая патология либо в виде нарушения веноокклюзивного механизма ($n=3$; 4,48 %), либо расстройств артериального кровоснабжения ($n=5$; 7,46 %). Всем этим пациентам рекомендованы консультации сосудистого хирурга.

У всех 38 пациентов с синдромами хронической тазовой боли в процессе обследования неврологом и мануальным терапевтом были выявлены мышечно-тонические синдромы с заинтересованностью грушевидных и подвздошно-поясничных мышц, что было расценено в качестве одной из причин возникновения и хронизации тазовых болей. В связи с этим, 17 (77,27 %) из 22 человек 1-й группы были проведены курсы мануальной терапии и физиотерапии, а 5 (22,73 %) получили инъекции ботулотоксина А в большую поясничную (100 Ед) или грушевидную мышцу (50 Ед) в зависимости от преобладающей локализации болевых ощущений. Во 2-й группе воздействие мануаль-

ными и физиотерапевтическими методами лечения проведено 11 (68,75 %) из 16 пациентов, а 5 (31,25 %) сделаны инъекции ботулотоксина типа А в большую поясничную (100 Ед) или грушевидную мышцу (50 Ед), также в зависимости от преобладающей локализации болей.

Хороший результат лечения был получен в 1-й группе у 16 (72,73 %) человек, удовлетворительный — у 4 (18,18 %). У представителей 2-й группы хорошие результаты получены в 9 (56,25 %) случаях, удовлетворительные — в 5 (31,25 %). Побочных негативных эффектов использованных методов лечения не зафиксировано. У 2 (9,09 %) человек 1-й группы и у 2 (12,5 %) 2-й группы лечение оказалось неэффективным.

Таким образом, в происхождении тазовых болей у мужчин разного возраста нередко имеет значение не только и не столько урологическая патология, даже при наличии иных, кроме болей, её клинических признаков. Актуальными для формирования такого рода болей являются также мышечно-тонические синдромы при вовлечении групп мышц пояснично-тазовой области. Несколько чаще (в 1,4 раза) это отмечено у более молодых пациентов, хотя и в пожилом, и старческом возрасте показатель присутствия мышечно-тонических синдромов у пациентов с тазовыми болями довольно высок — 32 %. Отчетливый позитивный эффект разных вариантов терапии, направленной на купирование мышечного спазма, подтверждает высказанные нами соображения.

Заключение

Результаты исследования представляют научный и практический интерес по целому ряду позиций. Вполне закономерным и ожидаемым оказалось преобладание расстройств мочеиспускания и эректильной функции у лиц пожилого и старческого возраста по отношению к более молодым. Но при этом у лиц молодого и среднего возраста в 3 раза чаще, чем у пожилых, отмечали ирритативные расстройства мочеиспускания, а обструктивные расстройства, наоборот, почти в 2 раза чаще встречали у пожилых. Также в пожилом и старческом возрасте чаще выявляли снижение сократительной способности детрузора, а в более молодом возрасте отчетливо преобладали спастические мышечно-тонические расстройства в виде гипертонуса поперечно-полосатого сфинктера уретры и гиперактивности мочевого пузыря. Показано участие длительно существующего спазма ряда мышечных

образований поясничной, тазовой и бедренной области не только в генезе нарушений мочеиспускания, но и в формировании эректильной дисфункции и тазовых болей. Несколько чаще это наблюдали у представителей молодого и среднего возраста, чем пожилого и старческого.

С учетом данного факта становится возможным объяснить случаи неэффективности хирургического лечения доброкачественной гиперплазии предстательной железы, когда после резекции последней сохраняют свою актуальность мышечно-тонические синдромы, развивающиеся чаще всего на фоне проблем с поясничным отделом позвоночника. Данное предположение подтверждается тем, что при использовании целенаправленных методов мануальной терапии, физиотерапии и ботулинотерапии удается достигнуть позитивных результатов в отношении расстройств мочеиспускания, эректильной функции и тазовых болей в подавляющем числе случаев у представителей любого возраста при отсутствии каких-либо побочных эффектов лечения.

По нашему мнению, при обследовании пациентов любого возраста следует расширить классический набор диагностических методик, используемых в урологических клиниках, привлекая для этого специалистов в области неврологии и мануальной терапии и увеличивая спектр диагностических возможностей КТ и МРТ. В случаях диагностики мышечно-тонических расстройств, не связанных с патологическими процессами в предстательной железе, мочевом пузыре и в других составляющих мочеполовой системы, в комплекс лечебных мер рекомендуется строго по показаниям включать методы мануальной терапии, физиотерапии, ботулинотерапии.

Литература

1. Аляев Ю.Г., Винаров А.З., Демидко Ю.Л., Спивак Л.Г. Лечение хронического простатита как профилактики возможного развития аденомы предстательной железы // Урология. 2012. № 2. С. 39–43.
2. Аполихина И.А., Миркин Я.Б., Эйзенах И.А. и др. Тазовые дисфункции и болевые синдромы в практике уролога // Экспер. и клин. уrol. 2012. № 2. С. 84–90.
3. Беляев А.Р., Рахматуллина Э.Ф. Клинические варианты нейрогенной дисфункции нижних мочевых путей при поясничном остеохондрозе // Неврол. вестн. 2007. Т. 39. № 1. С. 110–114.
4. Кривобородов Г.Г., Мазо Е.Б., Ефремов Н.С. «Мягкий» уретральный катетер-стент в диагностике причин нарушения опорожнения мочевого пузыря у мужчин с неврологическими заболеваниями // Урология. 2009. № 1. С. 13–16.
5. Трэвелл Д.Г., Симонс Л.С. Миофасциальные боли и дисфункции: Рук. по триггерным точкам (в 2-х т.). Т. 2. М.: Медицина, 2005.

6. Barry M. J., Fowler F.J.Jr., O'Leary M.P. et al. American Urological Association symptom index for benign prostatic hyperplasia. Measurement Committee of the American Urological Association // J. Urol. 1992. Vol. 148. № 5. P. 1549–1557.

7. Djavan R. The Correlation between inflammation, BPH and prostate cancer // Europ. Urol. Suppl. 2009. Vol. 8 (Iss. 13). P. 863–898.

8. Howard F.M., Perry P., Carter J.E., El-Minawi A. M. Pelvic pain: diagnosis and management. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

9. Montenegro M.L., Gomide L.B., Mateus-Vasconcelos E.L. et al. Abdominal myofascial pain syndrome must be considered in the differential diagnosis of chronic pelvic pain // Europ. J. Obstet. Gynec. Reproductive Biol. 2009. Vol. 147. № 1. P. 21.

10. Nogueira A.A., Poli Neto O.B., Silva J.C., Reis F.J. Myofascial syndrome: a common and underdiagnosed cause of chronic pelvic pain in women // Rev. Bras. Ginec. Obstet. 2009. Vol. 31. № 9. P. 425.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 403–409

V.S. Myakotnykh, V.V. Tret'yakov, A.A. Balbert

AGE ASPECTS OF THE MUSCULAR-TONIC AND UROLOGICAL SYNDROMES IN MEN WITH DISORDERS OF THE PELVIC FUNCTIONS: THE FEATURES OF CLINIC, DIAGNOSTICS, TREATMENT

Ural state medical University, 3, Repin str., Ekaterinburg, 620028; e-mail: vmaykotnykh@yandex.ru

A comparative examination of 100 patients at different ages, suffering from disorders of micturition, erectile function and pelvic pain, identified age-related peculiarities of these pathological manifestations. Irritative disorders of urination was detected significantly more frequently among persons of young and middle age than the elderly, and obstructive-related disorders were more frequent in the elderly. In elderly and senile age more prevalent was reducing of the contractility of the detrusor, and at a younger age — increased tone of striated sphincter of the urethra and bladder hyperactivity. It was shown that the participation of long-existing spasm of some muscle formation of the lumbar, pelvic and femoral region in the genesis of urinary symptoms, erectile dysfunction and pelvic pain. When using manual therapy, physiotherapy and botuline-therapy high effectiveness against disorders of micturition, erectile function and pelvic pain was achieved regardless of the age of the patients. It is recommended for the diagnosis of urological pathology to involve specialists in the field of neurology and manual therapy. In cases of diagnosis of musculo-tonic disorders not etiologically associated with pathological processes in the organs of the urogenital system, in the complex of therapeutic measures it is recommended to include methods such as manual-therapy, physiotherapy, botuline-therapy.

Key words: *men, disorders of the pelvic functions, urological syndromes, muscular-tonic syndromes, botuline-therapy, manual therapy, physical therapy*

В. В. Петров, Д. Л. Теплый

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА СЕКРЕТОРНОЙ, ВСАСЫВАТЕЛЬНОЙ, БУФЕРНОЙ И КАЛОРИФЕРНОЙ СПОСОБНОСТЕЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ НОСА ЧЕЛОВЕКА

Астраханский государственный университет, 414000, Астрахань, ул. Шаумяна, 1, e-mail: dima.teplyi@yandex.ru

Проблема возрастных функциональных изменений органов и систем организма человека является одной из актуальных в современной физиологии и геронтологии. Важнейшей и сложноорганизованной является система дыхания, особенно ее «первая линия защиты» — полость носа. На этапах постнатального онтогенеза функциональные показатели полости носа претерпевают ряд специфических изменений, изучение которых имеет не только научное, но и прикладное значение для экспериментальной физиологии и клинической медицины. В статье приведены данные о возрастной динамике и адаптивности таких функциональных показателей слизистой оболочки полости носа человека, как секреторная и всасывающая активность, калориферная функция, буферные свойства эндоназального секрета. Данные показатели изучены на этапах постнатального развития в сравнительном аспекте на основе изучения их возрастных градиентов.

Ключевые слова: геронтология, возрастная физиология, полость носа, слизистая оболочка, инволюция, постнатальный онтогенез

В функциональном отношении полость носа человека — важнейшая часть системы органов дыхания, в которой каждое анатомическое образование имеет не только специфическую структурную организацию, но и несет определенную физиологическую нагрузку [1, 5]. На этапах постнатального онтогенеза функциональные показатели полости носа претерпевают ряд специфических изменений, некоторые из которых определяются структурными преобразованиями эндоназальных компонентов. Имеющиеся к настоящему времени сведения [5, 8] о морфофизиологических особенностях эндоназальных структур, микроструктуре и гистофизиологии их слизистой оболочки существенно расширили представление о физиологическом значении полости носа в системе органов дыхания и организме в целом. При этом функциональные исследования полости носа у человека сосредоточены, преимущественно, на изучении респираторной и обонятельной функции, мукоцилиарного

клиренса, эндоназальной гемодинамики внутриносовых структур, что объясняется их важностью для клинической медицины [3, 4, 6, 7]. Несмотря на достаточную полноту имеющихся морфологических и клинических научных данных о возрастных изменениях полости носа [8, 10], имеется определенный дефицит сведений о состоянии ее калориферной, буферной, секреторной и всасывательной способностей, которые немногочисленны с позиции их комплексной оценки на этапах постнатального онтогенеза. Большая часть работ посвящена прикладным аспектам — исследованию этих функций при различной патологии (хроническом рините, деформации носовых перегородок и др.) [2, 6, 10].

Таким образом, правомочно предположить, что оценка возрастной динамики функциональных параметров полости носа и степени их адаптивной «напряженности» на этапах постнатального онтогенеза и в сравнительном аспекте представляет собой одну из актуальных проблем современной геронтологии, физиологии и медицины [8, 10].

Цель исследования — выявление возрастных особенностей и сравнительный анализ секреторной, инкреторной, калориферной и буферной способностей слизистой оболочки полости носа человека на этапах постнатального онтогенеза.

Материалы и методы

Исследования функциональных показателей полости носа выполнены в период 2012–2016 гг. в рамках плановых медицинских осмотров жителей Астрахани и Астраханской обл. В исследование были включены лица детского, подросткового, юношеского, зрелого, пожилого и старческого возраста ($n=120$), у которых была исключена фоновая патология полости носа и органов дыхания (использовали возрастную периодизацию онтогенеза 1965 г.). Изучали:

- всасывательную способность — с помощью «атропинового теста по Сагаловичу» — проба со смазыванием слизистой оболочки полости носа данным препаратом (0,1% раствор) и оценка времени наступления действия атропина (по увеличению ЧСС);

- секреторную активность — методом сравнительного взвешивания на электронных микро-весах сухого ватного шарика и после нахождения его в течение 10 мин в полости носа (шарик с носовой слизью);

- калориферную функцию — путем эндоназальной термометрии с помощью электронного термометра;

- ρh -критерий эндоназальной слизи — определяли стандартной тест-полоской «mediatest» по изменению ее цвета.

Функциональные исследования выполнены в соответствии с положениями Хельсинкской декларации. Статистическую обработку показателей проводили с помощью программы MS Excel в компьютерной обработке.

Результаты и обсуждение

Изучение калориферной функции полости носа с использованием электронного термометра показало, что данный показатель в исследуемых возрастных группах варьировал в определенном диапазоне. В детском возрасте этот показатель сохранял относительную стационарность, без достоверной статистической разницы между мальчиками и девочками, составляя в среднем $36,6(\pm 0,25)$. Колебания термометрического параметра у детей находились в диапазоне $0,1-0,25$ °C ($\rho=0,05$).

В подростковом возрасте — на пике пубертатных изменений показатель был достоверно выше ($\rho<0,05$), чем в 1-м и 2-м периодах детства, на $1-1,3$ °C, составляя в среднем $37,5(\pm 0,26)$ °C. При этом у мальчиков-подростков вариация температурных показателей в полости носа была менее выражена ($0,2-0,3$ °C), чем у девочек, у которых колебания эндоназального термомаркера были в диапазоне $0,3-0,5$ °C. Различий в эндоназальной температуре по конституциональному признаку (у нормо-, гипер-, и гипостеников) нами также не выявлено. В целом в подростковом возрасте средний температурный показатель эндоназальной среды был максимальным ($\rho<0,05$) по сравнению с другими возрастными группами, достигая наибольшего различия ($\rho<0,01$) с показателем в старческом возрасте. Это свидетельству-

ет о функциональном скачке калориферного показателя мукоперихондрия полости носа человека на пубертатном этапе и сочетается как с общими ростовыми тенденциями организма человека (период истинного роста) [2], так и сходными тенденциями в изменении других физиологических показателей полости носа (дыхательной функции, мукоцилиарной активности, гемодинамического потенциала, обонятельной способности) [5, 8, 9]. В юношеском возрасте значимого прироста параметров эндоназальной температуры не происходило ($\rho<0,05$). Различия с подростковым возрастом были минимальны, в пределах температурного диапазона $0,23-0,35$ °C. Гендерных и конституциональных различий показателей в данной возрастной группе нами не выявлено ($\rho>0,05$). Среднее значение эндоназальной температуры в группе — $36,7(\pm 0,24)$ °C.

В зрелом возрасте показатели калориферной функции полости носа у обследованных лиц находились в дифинитивном состоянии, достоверных различий с юношеским периодом онтогенеза не выявлено ($\rho=0,05$), а среднее значение эндоназальной температуры составило $36,4(\pm 0,25)$ °C. При этом диапазон колебаний данного параметра внутри группы был минимальным ($0,1-0,2$ °C). Каких-либо различий эндоназальной температуры по гендерному и конституциональному признаку нами не выявлено ($\rho>0,05$).

У пожилых людей, как мужчин, так и женщин, калориферная функция сохраняла относительную дифинитивность, составляя в среднем $36,2(\pm 0,27)$ °C, причем независимо от типа телосложения. Диапазон колебаний эндоназальной температуры составил $0,1-0,25$ °C и существенно не отличался от показателей в зрелом возрасте ($\rho=0,05$).

Максимальное изменение эндоназального температурного показателя достоверно в сторону снижения выявлено в старческом возрасте, где калориферный ценз имел достоверный дефицит в диапазоне $1-1,5$ °C по сравнению с показателями в дифинитивном состоянии (зрелый возраст). В старческом возрасте эндоназальная температура была достоверно ниже, чем в пожилом возрасте ($\rho<0,01$), составляя в среднем $35,4(\pm 0,4)$ °C. При этом у долгожителей (на рисунках отдельно показатели долгожителей не выделены — они объединены с лицами старческого возраста) средний показатель эндоназальной температуры был еще ниже ($\rho<0,01$), достигая величины $34,4(\pm 0,25)$ °C, рис. 1.

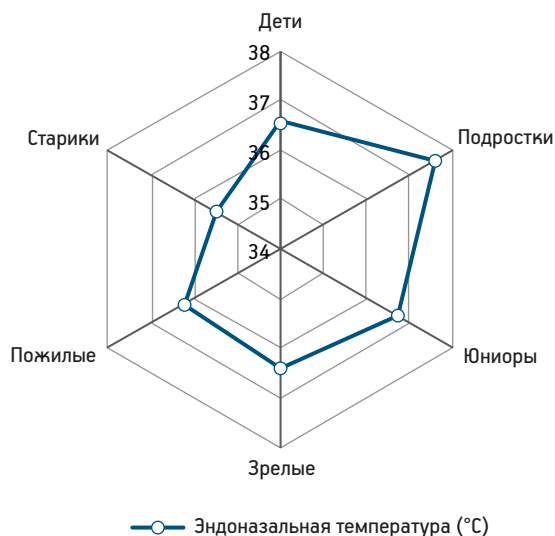


Рис. 1. Показатели калориферной функции носа в исследуемых группах

Таким образом, калориферный показатель полости носа на этапах развития претерпевает ряд специфических изменений. Пик этих изменений (прирост функции) приходится на пубертатный период развития и старческий возраст (убыль функции). Оба эти периода обоснованно можно определить как критические функциональные периоды. Морфологической основой данных изменений, с нашей точки зрения, может быть сходная тенденция в структурной перестройке сосудистого русла мукоперихондрия полости носа [5, 10] — нарастание гемодинамического потенциала полости носа у подростков и редукция сосудистого русла мукоперихондрия носа в старческом возрасте. Такие изменения не исключают прямую корреляционную зависимость по данным признакам. С позиции учения об эндоназальном гомеостазе [3, 10], такой «прирост—убыль» калориферной функции может свидетельствовать о высокой (в пубертате) и низкой (в старческом возрасте) адаптивной способности слизистой оболочки полости носа.

Состояние всасывательной способности слизистой оболочки полости носа в исследуемых возрастных категориях также отличалось некоторым разнообразием. В детском и особенно в подростковом возрасте была отмечена наибольшая всасывательная способность слизистой оболочки носа, выраженная в коротком рефрактерном периоде (с момента нанесения атропина на слизистую оболочку до начала фармакологического его эффекта — учащения сердцебиения), составляя 12,1–14,2 мин. Преобладали показатели в пубертатном периоде онтогенеза ($\rho < 0,01$) в диапазоне



Рис. 2. Показатели всасывательной функции носа в исследуемых группах

10,1–12,3 мин, но без четкой статистической разницы между гендерными и конституционными категориями ($\rho > 0,05$). Данный возраст мы расценили как критический функциональный период инкреторной способности слизистой оболочки полости носа.

В юношеском и зрелом возрасте атропиновый тест выявил относительную дифинитивность показателей, дальнейшего прироста функциональных параметров не происходило, среднее значение теста в зрелом возрасте составило 13–15,5 мин, в юношеском — 12–14 мин. Различия показателей в этих группах были $\rho = 0,05$.

Достоверное изменение показателя в виде его удлинения ($\rho < 0,05$) наблюдали у обследованных лиц в пожилом возрасте, при этом диапазон разброса составил 14,5–18,5 мин. Однако по среднему значению признака несколько преобладали изменения параметра у женщин, что вполне совпадало с постклимактерическими изменениями в организме. Но достоверной разницы по гендерному и конституциональному признаку в этой группе в целом не выявили ($\rho < 0,05$), рис. 2.

В старческом возрасте показатель инкреции достигал максимальной убыли своего функционального значения, находясь в диапазоне 21,4–25,1 мин. Такое изменение показателя расценено нами как критический период функции. Достоверность различий показателя с юношеским, зрелым и пожилым возрастом составила $\rho < 0,01$, а с детским и особенно подростковом возрастом — $\rho < 0,001$.

Секреторная активность полости носа в исследованных периодах коррелировала полно-

стью с динамикой всасывательной способности слизистой оболочки. В этих показателях выявлена сильная положительная корреляционная связь ($r > 0,72$). Максимальные показатели отмечены нами в подростковом возрасте ($\rho < 0,01$), а максимальная убыль параметров — в пожилом и особенно старческом периоде онтогенеза $\rho < 0,001$. Дифинитивное состояние данного показателя отмечено в юношеском и зрелом возрасте, различие между параметрами которых не превышало значения $\rho < 0,05$. Закономерности изменения секреторной активности полностью совпадают с тенденциями динамики всасывательной способности слизистой оболочки полости носа. Гендерных или конституциональных различий при исследовании инкреции мукоперихондрия полости носа не выявлено ($\rho > 0,05$), рис. 3.

При изучении буферных свойств эндоназальной среды (ρH -метрия носового секрета) выявлена следующая динамика: в детском возрасте и пубертатном периоде ρH в норме составил 6,5–7,4. В юношеском возрасте, а также в 1-м и 2-м зрелом периодах динамика показателя была минимальна — 6,5–7,5. Достоверные сдвиги буферных свойств секрета полости носа отмечены нами в пожилом возрасте ($\rho < 0,05$), когда показатель ρH соответствовал 7,2–7,5. В старческом возрасте сдвиг ρH в щелочную сторону составил в среднем 7,8–8,1 у мужчин, у женщин зарегистрировали более значимый сдвиг в щелочную сторону — 8,0–8,2 (рис. 4).

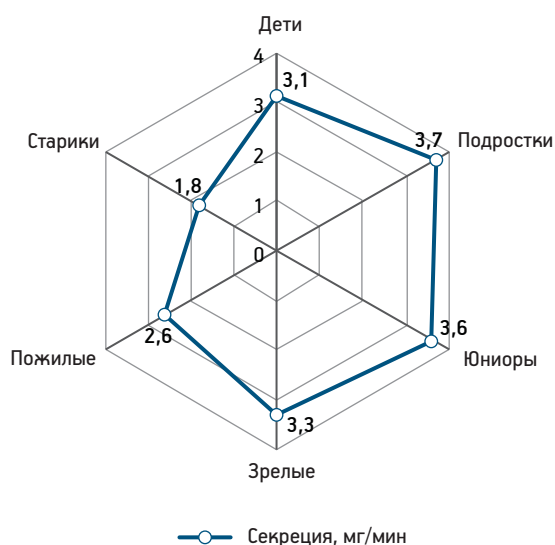


Рис. 3. Динамика секреторных свойств мукоперихондрия полости носа в исследуемых группах

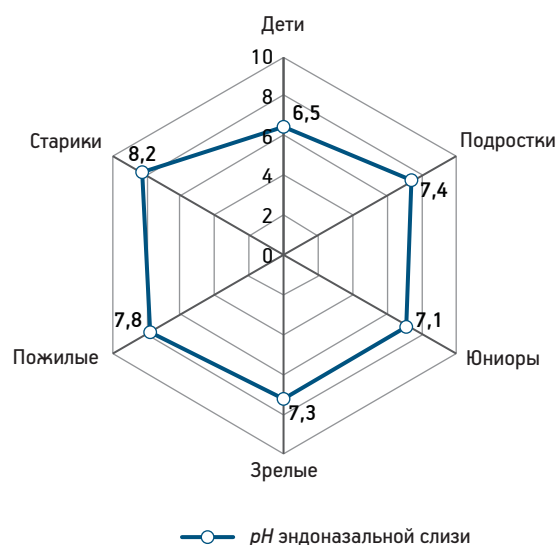


Рис. 4. Динамика буферных свойств мукоперихондрия полости носа в исследуемых группах

Заключение

Таким образом, изученные функциональные показатели имеют неодинаковую динамичность на разных этапах постнатального развития. В детском возрасте указанные параметры в функциональном отношении достаточно полноценны. Их физиологический прирост был отмечен в пубертатном и отчасти во 2-м детском и юношеском возрасте (рис. 5).

Максимальной функциональной пластичностью обладают всасывательная и особенно секреторная функции на пубертатном этапе развития. Калориферная и буферная способности полости носа человека также претерпевают сходные изменения, но более статичны.

В зрелом возрасте все исследованные функциональные показатели достигают стадии функционального плато (дифинитивное состояние) с минимальными динамическими интервалами. На завершающих этапах онтогенеза наблюдается регресс всех изученных функциональных показателей полости носа (рис. 6).

Данные изменения наиболее выражены в старческом возрасте и у долгожителей и характеризуются значимой физиологической депрессией. Максимальную отрицательную динамику имеют функции всасывания и секреторной активности слизистой оболочки полости носа, достигающие существенных статистических интервалов по сравнению со всеми периодами развития. В то же время, буферная и калориферная функции полости носа характеризуются малой динамичной способностью функциональных показателей

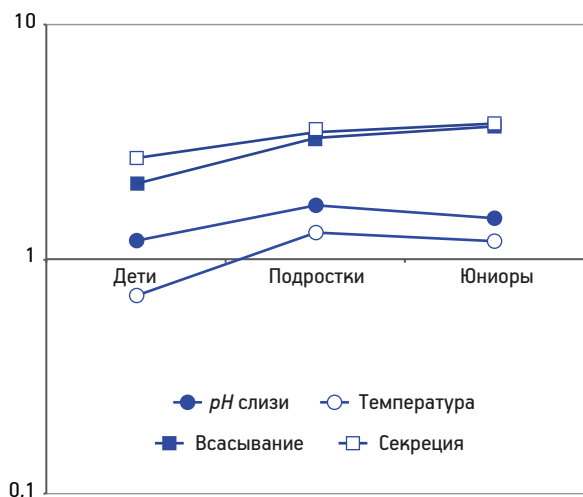


Рис. 5. Градиенты исследуемых показателей в детском, подростковом и юношеском возрасте (сравнительный анализ)

и большей их статичностью. Изменения исследованных функциональных параметров полости носа в пожилом возрасте носят начальный характер и обычно выражены в меньшей степени.

Важнейшим аспектом выявленных закономерностей является их сильная прямая корреляционная связь с возрастными морфологическими изменениями всех структурных компонентов слизистой оболочки полости носа человека [4, 5]. Градиенты изученных функциональных показателей полости носа на этапе развития и в стадии инволюции имеют разнонаправленный возрастной вектор.

Литература

1. Бреслав И.С. Физиология дыхания. СПб.: Наука, 2014.
2. Лазыко М.В. Организация системы адаптации человека в онтогенезе // Успехи соврем. естествознания. 2013. № 11. С. 65–67.
3. Михайлов Ю.Х. Некоторые теоретические и методологические проблемы современной ринологии // Воен.-мед. журн. 2013. Т. XXVII. № 6. С. 52–56.

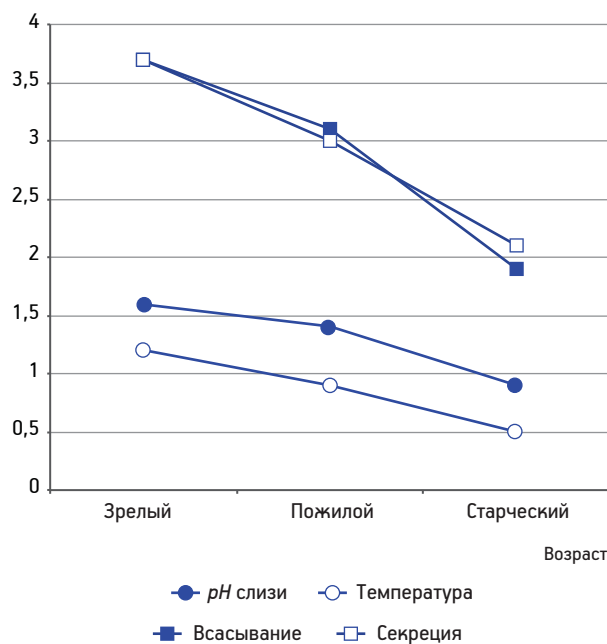


Рис. 6. Градиенты показателей в зрелом, пожилом и старческом возрасте

4. Ошикер Т.М. Структурные преобразования систем человека при старении // В сб.: Матер. междунар. науч. конф. «Экология и здоровье населения». Астрахань, 2011. С. 95–97.

5. Петров В.В. Особенности организации слизистой оболочки полости носа (морфофункциональные и клинические аспекты) // Морфология. 2010. № 6. С. 45–48.

6. Петров В.В. Возрастные особенности мукоцилиарной системы слизистой оболочки полости носа у человека // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 3. С. 597–510.

7. Петров В.В. Возрастные изменения гомеодинамического потенциала полости носа у человека // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 4. С. 624–627.

8. Пискунов С.З. Физиология и патофизиология носа и околоносовых пазух // Рос. ринолог. 2012. № 3. С. 19–39.

9. Теплый Д.Л. Современные проблемы геронтологии. Астрахань: АИПКП, 2012. С. 56–72.

10. Holt G. R. Nasal region // Otolaryngol. Clin. North Amer. 2016. Vol. 32. № 8. P. 615–619.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 410–414

V. V. Petrov, D. L. Teplyy

AGE DYNAMICS OF SECRETORY, ABSORPTIVE, BUFFER ABILITY OF THE MUCOSA INSIDE THE HUMAN NOSE

Astrakhan state University, 1, Shaumyana str., Astrakhan, 414000; e-mail: dima.teplyy@yandex.ru

The problem of age-related functional changes of organs and systems of the human body is one of the urgent problems of modern physiology and gerontology. The most important, complex system of human body is respiratory system, especially its «first line of defense» — the nasal cavity. Functional parameters of the nasal cavity undergo a number of specific changes at the stages of postnatal ontogenesis, the study of which has not only scientific value but also practical value for experimental physiology and clinical medicine. The article presents data on the age dynamics and adaptability of such functional parameters of the mucous membrane of the nasal cavity of the person, as secretory and suction activity, the air heater function, the buffer properties by endonasal secret. These indicators are examined at the stages of postnatal development in a comparative perspective based on the study of the age gradients.

Key words: gerontology, age physiology, nasal cavity, mucous membrane, involution, postnatal ontogenesis

О. И. Шевченко¹, О. Л. Лахман^{1,2}, Е. В. Катаманова¹

ВЗАИМОСВЯЗЬ ТЕМПОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО СТАРЕНИЯ С НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ У ПАЦИЕНТОВ С ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМИ НЕЙРОИНТОКСИКАЦИЯМИ

¹ Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований, 665827, Иркутская обл., Ангарск, микрорайон 12 «А», 3; ² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, филиал Российской медицинской академии непрерывного последипломного образования, 664079, Иркутск, микрорайон Юбилейный, 100; e-mail: oich68@list.ru

В условиях стационара изучена функциональная активность головного мозга у пациентов с профессиональными нейроинтоксикациями для выявления нейрофизиологических особенностей формирования ускоренных темпов биологического старения у работающих, подвергавшихся воздействию нейротоксикантов. В ходе исследования показано, что темпы старения у пациентов с профессиональными нейроинтоксикациями в среднем в 85% случаев носят преждевременный характер. Для данного контингента типичным нейрофизиологическим признаком является показатель, характеризующий увеличение латентности пика Р2 зрительных вызванных потенциалов. Определены общие признаки поражения структуры головного мозга при профессиональной интоксикации ртутью независимо от стадии заболевания при ускоренном биологическом старении. На основании анализа полученных взаимосвязей установлено, что следствием хронического воздействия паров металлической ртути и комплекса токсических веществ, а также причиной ускоренного биологического старения при профессиональных нейроинтоксикациях является стойкая дезорганизация функциональной активности головного мозга в виде корково-подкорковых нарушений сенсорных регуляторных систем головного мозга.

Ключевые слова: профессиональная нейроинтоксикация, темпы биологического старения, нейрофизиологические особенности, вызванные потенциалы

Известно, что процесс старения определяется надежностью конструкций организма, степенью действия повреждающих факторов внешней и внутренней среды. Условия среды, перенесенные заболевания и другие неблагоприятные факторы ускоряют, изменяют, извращают течение старения организма, приводят к возникновению преждевременного старения. Важнейшими следствиями ускорения возрастных процессов являются снижение срока предстоящей жизни, нарушение многих

жизненных функций и сужение диапазона адаптации, что может привести к развитию и усугублению болезненных состояний.

Ритм работы и функциональное состояние интегральных систем гомеостаза организма определяют биологический возраст (БВ) человека [7, 17]. Именно поэтому определение БВ направлено на количественную оценку состояния функционирования основных систем гомеостаза через количественную оценку степени его постарения. Согласно адаптационно-регуляторной теории старения В. В. Фролькиса, возникновение возрастных нарушений в центральных механизмах регуляции (особенно в гипоталамо-гипофизарном отделе) приводит к ограничению адаптационных возможностей и старению целостного организма [1–4].

В литературе имеются сведения, констатирующие, что нейрофизиологические изменения головного мозга характеризуются снижением и замедлением кровотока, уменьшением потребления кислорода, особенно в лобных и височных областях, понижением утилизации глюкозы. Наибольшее значение имеют снижение числа нервных клеток, особенно если это касается регуляторных нервных центров, и изменение их метаболической активности; типично также накопление липофусцина и признаки дистрофии и деструкции клеток. При этом работоспособность нервных клеток падает, процессы восстановления отстают, увеличивается реполяризация нейронов после волны возбуждения, удлиняется потенциал действия и снижается лабильность, отмечается развитие гиперполяризации нейронной мембраны. С возрастом формируются выраженные изменения электрических порогов для ряда вегетативных функций и внутрицентральных отношений, что отражает формирование новых

регуляторных целостных взаимосвязей, анализировать которые следует параллельно с исследованием изменения соответствующих регулируемых функций [4, 7, 15, 16].

Известно, что при острых и хронических нейроинтоксикациях в патологический процесс вовлекаются различные отделы центральной и периферической нервной системы, изменения в которых приводят к нарушениям в центральных регуляторных механизмах, определяющих развитие многих патологических состояний, которые ускоряют темпы биологического старения [13, 14].

В отдельных научных работах имеются сообщения о выявлении признаков преждевременного старения у работающих на химических производствах [9, 10, 18–20]. Сотрудниками Восточно-Сибирского института медико-экологических исследований (ВСИМЭИ) в результате многолетних исследований установлены факты формирования нарушений функциональной активности головного мозга и ускорения темпов биологического старения у пожарных-ликвидаторов в отдаленном периоде воздействия комплекса токсических веществ и у больных с хронической ртутной интоксикацией (ХРИ) по мере прогрессирования токсического поражения мозга [5, 6, 8, 12, 19].

Однако, несмотря на имеющиеся данные литературы об ускорении темпов биологического старения и снижении функциональной активности мозга в результате профессионального воздействия химических веществ, отсутствуют данные о постарении работающих, подвергавшихся воздействию нейротоксикантов, во взаимосвязи с нейрофизиологическими показателями, характеризующими состояние корково-стволовых отделов головного мозга, задействованных в реализации когнитивных функций.

Цель исследования — выявление нейрофизиологических особенностей формирования ускоренных темпов биологического старения у работающих, подвергавшихся воздействию нейротоксикантов.

Материалы и методы

В клинических условиях обследованы 111 мужчин, которые были разделены на пять групп: 1-я — 37 работников химического предприятия без установленного диагноза профессионального заболевания, со стажем, подвергавшиеся воздействию паров металлической ртути (средний возраст $48,35 \pm 1,18$ года, стаж $19,18 \pm 1,08$ года); 2-я — 17 пациентов, работавших на химическом производ-

стве в контакте с ртутью, с впервые установленным диагнозом ХРИ (средний возраст $51,41 \pm 1,36$ года, стаж $21,65 \pm 1,61$ года); 3-я — 26 пациентов в отдаленном периоде ХРИ, работавших на производстве каустика и хлора ртутным методом (средний возраст $54,07 \pm 1,12$ года, стаж $15,62 \pm 0,81$ года); 4-я — 11 человек, принимавших участие в ликвидации пожара на ОАО «Иркутсккабель» в декабре 1992 г., которым был установлен диагноз в виде последствий интоксикации комплексом токсических веществ (средний возраст $46,90 \pm 1,66$ года); 5-я (группа сравнения) — 20 условно здоровых мужчин (средний возраст $49,35 \pm 1,69$ года, общий трудовой стаж $16,2 \pm 1,12$ года), не имеющих в профессиональном маршруте контакта с вредными веществами.

Определение БВ осуществляли с помощью программы «Диагностика старения: биовозраст», разработанной Институтом системного анализа РАН, Московской медицинской академией им. И. М. Сеченова, Московским медико-стоматологическим университетом, Национальным геронтологическим центром. Методика основана на данных определения АД, скорости распространения пульсовой волны по артериальным сосудам эластического типа на участке сонная артерия—бедренная артерия и мышечного типа на участке сонная артерия—лучевая артерия, ЖЁЛ, задержки дыхания после глубокого вдоха и глубокого выдоха, аккомодации хрусталика ведущего глаза, времени статической балансировки, массы тела, субъективной оценки здоровья, функции памяти по символ-цифровому субтесту Векслера, частотного порога слуха, функции внимания по тесту Шульте, силы кисти, числа постукиваний посредством нейромышечного теста. Отклонение БВ от календарного возраста в пределах 3–4 лет являлось нормальным [11].

В работе использован комплекс клинических, нейрофизиологических методов — компьютерная ЭЭГ с определением слуховых, зрительных, когнитивных вызванных потенциалов — ВП (СВП, ЗВП, КВП, соответственно) на базе компьютерного многофункционального комплекса «Нейрон-Спектр-4».

Статистическую обработку и анализ результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0 Stat_Soft® Inc. (правообладатель лицензии — ФГБНУ ВСИМЭИ). Статистическую значимость различий оценивали по непараметрическому *U*-критерию Вилкоксона, Манна—Уитни, применяли метод ранговой корреляции Спирмена.

Статистическую значимость различий показателей, выраженных в процентах, вычисляли по методу углового преобразования Фишера. Для разработки диагностических критериев использовали дискриминантный анализ.

Работа не ущемляет права и не подвергает опасности благополучие обследованных работающих в соответствии с требованиями биомедицинской этики, предъявляемыми Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000) и Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266.

Результаты и обсуждение

В результате распределения обследованных на подгруппы в зависимости от выраженности старения (выраженность старения=БВ — календарный возраст) установлено статистически значимое преобладание в 1-й, 3-й и 4-й группах лиц с ускоренными темпами старения (92,8; 90,3; 72,7 %, соответственно); 7,2; 9,7; 27,3 %, соответственно, вошли в подгруппы с нормальными и замедленными темпами. В группе работников со стажем, подвергавшихся воздействию паров металлической ртути, большую долю составили лица с нормальным и ускоренным темпами старения (45,2; 38,7 %, соответственно). В группе сравнения темп старения достоверно был замедлен у 48,3 % лиц (рис. 1).

ЭЭГ-исследование выявило общие признаки, характерные для основных групп, независимо от представленных вариантов нейротоксикантов — преобладание общемозговых изменений,

проявляющихся отсутствием регулярной доминирующей активности и наличием вместо нее полиритмичной полиморфной активности с высоким уровнем медленных волн в паттерне ЭЭГ, нарушением нормальной организации ЭЭГ, наличием патологического очага различной локализации, частой регистрацией пароксизмальной активности, в том числе эпилептиформной, дисфункцией срединных и стволовых структур, изменением интегральных характеристик ЭЭГ.

Результаты предварительного анализа особенностей изменения показателей ЭЭГ и ВП в зависимости от выраженности старения не выявили статистически значимых различий между подгруппами с замедленным и нормальным темпами старения, в связи с чем эти две подгруппы были объединены в одну.

Анализ показателей ЭЭГ и ВП в зависимости от темпов старения позволил установить наличие большей дезорганизации биоэлектрической активности мозга у работников, имеющих ускоренные темпы старения.

Межгрупповое сравнение значений индексов ритмов ЭЭГ у лиц с ускоренным темпом старения 1-й, 2-й, 3-й, 4-й групп выявило статистически значимые различия по показателям Δ -, α -, β 1-ритмов у пациентов с профессиональными нейротоксикациями. У лиц основных групп наблюдали усиление Δ -ритма, а также β 1-ритма с тенденцией к его локальному распространению и выраженное снижение α -активности с ее инверсией, что свидетельствует о наличии дисфункции верхнестволово-диэнцефальных структур головного мозга. Пациен-

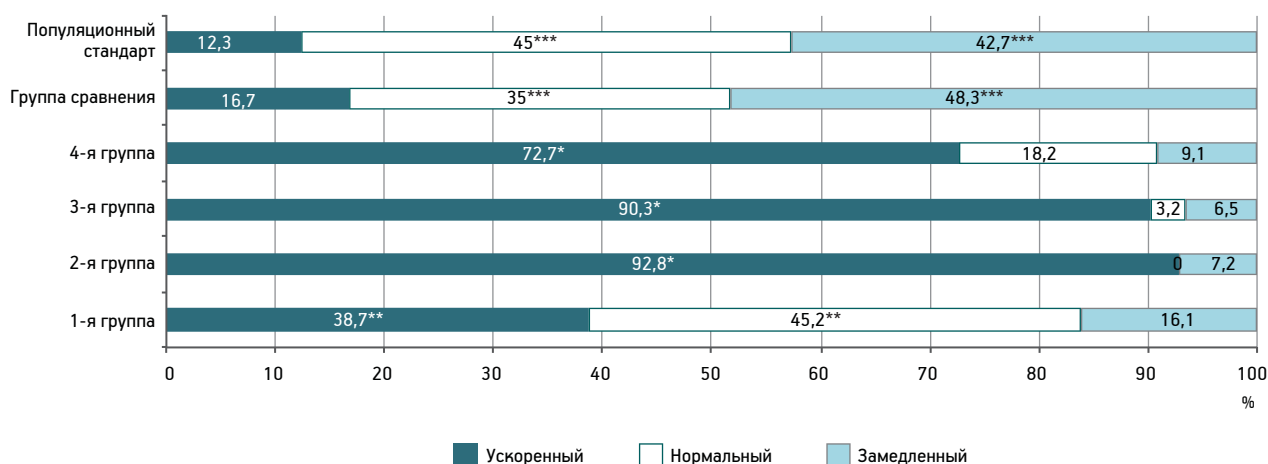


Рис. 1. Распределение обследованных лиц в зависимости от выраженности темпов старения.

* Статистически значимое преобладание ($p < 0,05$) ускоренного темпа старения; ** статистически значимое преобладание ускоренного и нормального темпов старения; *** статистически значимое преобладание нормального и замедленного темпов старения

ты с интоксикацией комплексом токсических веществ в отдаленном периоде отличались от пациентов с токсическим воздействием ртути на любой стадии заболевания большим наличием Δ -активности в фоновой записи (рис. 2).

Исследование ВП в изучаемых группах предполагалось для оценки состояния активирующих влияний со стороны корково-подкорково-стволовых структур головного мозга (рис. 3, 4). Регистрируемые ВП на вспышку света отражают разные свойства систем мозга в плане оценки процессов высшей нервной деятельности, связанные с активирующими и тормозными влияниями на кору со стороны ретикулярной формации мозга. При анализе показателя латентности ЗВП выявлено затягивание времени начала ответа пика $P2$ и окончания ответа во всех группах пациентов с профессиональными нейроинтоксикациями. Межгрупповое сравнение показало более длительное затягивание окончания ответа в 4-й группе пациентов.

Наиболее отчетливый ответ на звуковой раздражитель при анализе распределения источников СВП по областям обоих полушарий наблюдали в лобных ($FP1$ и $FP2$) отведениях во всех обследованных группах. Изменения слухового коркового ответа выявляли во всех обследованных группах в лобных отведениях. Эти изменения проявлялись затягиванием появления ответа, значительным удлинением латентности пика $P1$, что соответственно отражалось на увеличении латентности пика $N1$. Достоверно наиболее низкие амплитудные показате-

тели слухового коркового ответа (пика $N2$) были у пациентов 3-й группы с отдаленными признаками ХРИ (рис. 4).

Кроме того, при межгрупповом сравнении пациентов с ускоренными темпами биологического старения, имеющих контакт с ртутью, было выявлено удлинение латентного периода КВП с выраженным преобладанием в 3-й группе.

При анализе показателей КВП в группах с токсическим воздействием ртути и комплексом токсических веществ было выявлено достоверное увеличение латентности $P300$ у пациентов 2-й группы с впервые установленным диагнозом ХРИ и у пациентов 3-й группы в отдаленном периоде профессиональной ХРИ по сравнению с 1-й, 4-й и 5-й группами ($p < 0,05$). Амплитудные показатели $P300$ были достоверно ниже контрольных значений во всех группах.

Таким образом, в ходе изучения характеристик ВП установлено, что наибольший тропизм к нейроглии при ускоренных темпах биологического старения показала нейроинтоксикация ртутью, поскольку была выявлена более выраженная депрессия слухового коркового ответа и сенсорного зрительного ответа, проявляющаяся увеличением латентности показателей ЗВП $P2$, СВП $M1$, СВП $P1$, СВП $N2$, СВП $P2$ и наименьшими их амплитудными значениями, что особенно было отмечено в 3-й группе.

Для выявления статистически значимых отличительных нейрофизиологических признаков, сопряженных с ускоренными темпами старения у пациентов с профессиональными нейроинтоксикациями,

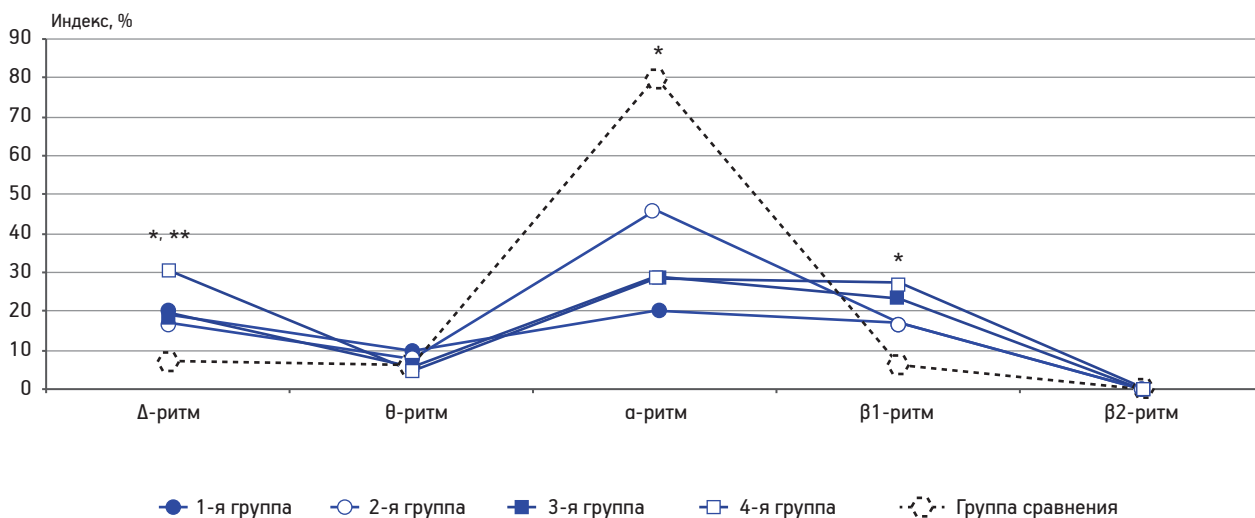


Рис. 2. Значения индексов ритмов ЭЭГ при ускоренном темпе старения у пациентов при нейроинтоксикации различной этиологии и в группе сравнения.

* Различия статистически значимы при $p < 0,05$ для лиц 1-й, 2-й, 3-й, 4-й групп и 5-й (группы сравнения), U-критерий Манна–Уитни; ** для лиц 1-й, 2-й, 3-й, 4-й групп и 5-й (группы сравнения)

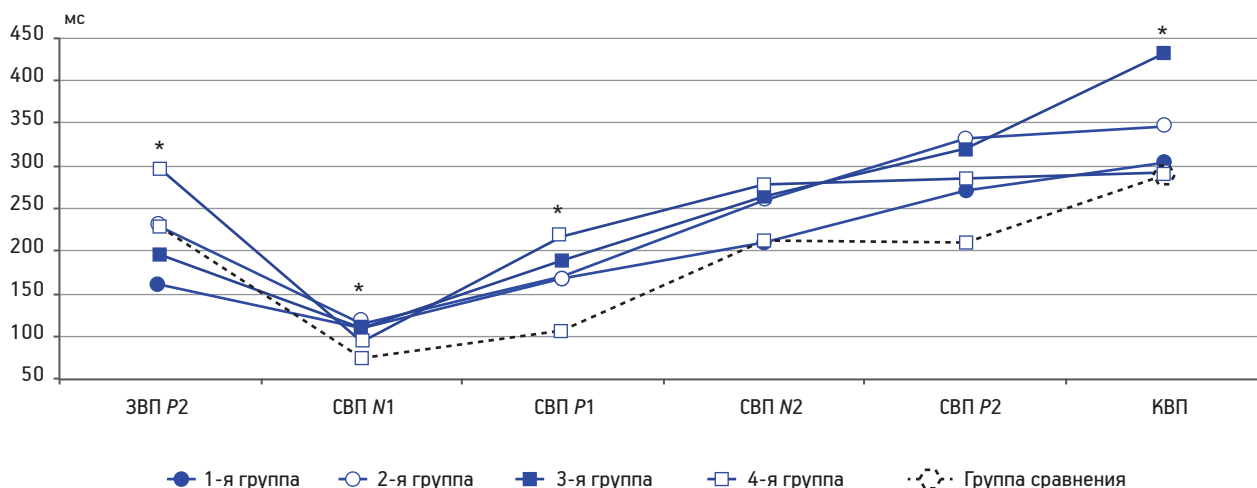


Рис. 3. Средние показатели латентности (мс) основных пиков зрительных, слуховых и когнитивных вызванных потенциалов (ЗВП, СВП, КВП) при ускоренных темпах старения у пациентов при нейротоксикации различной этиологии и в группе сравнения.

* Различия статистически значимы при $p < 0,05$

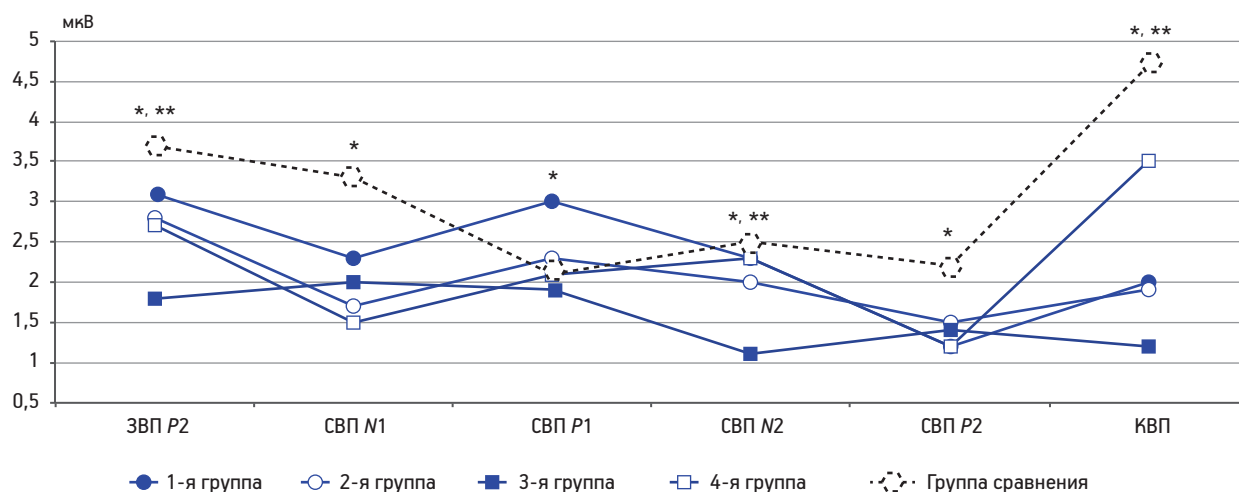


Рис. 4. Средние показатели амплитуды (мкВ) основных пиков зрительных, слуховых, когнитивных вызванных потенциалов (ЗВП, СВП и КВП) при ускоренных темпах старения у пациентов при нейротоксикации различной этиологии и в группе сравнения.

* Различия статистически значимы при $p < 0,05$ для лиц 1-й, 2-й, 3-й, 4-й групп и 5-й (группы сравнения);
** 1-й, 2-й, 4-й, 5-й и 3-й групп

проведен дискриминантный анализ. В результате анализа в 1-й и 5-й группах было выявлено семь достоверных диагностических признаков: показатели индекса Δ -, θ - и α -ритмов по ЭЭГ (%), показатели латентности пиков $N1$ и $P2$ ЗВП (мс), показатель амплитуды пика $N1$ ЗВП (мкВ), а также показатель латентности пика $N2$ СВП (мкВ). Информативными являлись параметры с уровнями значимости 0,000091–0,03. Наиболее информативным признаком был показатель латентности пика $P2$ ЗВП ($F=39,5$).

При дискриминантном анализе во 2-й и 5-й группах было выявлено пять достоверных показателей:

латентности пиков $N1$, $P2$ и $P3$ ЗВП (мс), латентности пика $P2$ СВП (мс) и амплитуды пика $P1$ СВП (мкВ). Информативными являлись параметры с уровнями значимости 0,0008–0,03. Наиболее информативным признаком являлся показатель латентности пика $P3$ ЗВП ($F=17,5$).

При дискриминантном анализе в 3-й и 5-й группах пациентов выявлено восемь достоверных признаков: показатели латентности пиков $N1$, $P2$ и $P3$ ЗВП (мс), амплитуды пика $N1$ ЗВП (мкВ), латентности пиков $N1$ и $P2$ СВП (мс) и амплитуды пика $P2$ СВП (мкВ). Информативными являлись параметры с уровнями значимости 0,0006–0,04.

Наиболее информативным признаком являлся показатель латентности пика $P2$ ЗВП ($F=20,1$).

Общими показателями для групп пациентов с токсическим воздействием ртути на любой стадии заболевания, отличающимися от таковых в группе сравнения, являлись показатели латентности пиков $N1$ и $P2$ ЗВП, $P2$ СВП. С учетом полученных изменений можно говорить о смешанном характере (корково-подкорковом) нарушений сенсорных регуляторных систем головного мозга при ртутной интоксикации, а также о рассогласованности влияния на кору со стороны ретикулярной формации мозга.

При дискриминантном анализе в группах пациентов с профессиональной интоксикацией комплексом токсических веществ с ускоренными темпами старения и в группе сравнения было выявлено пять достоверных признаков: показатели индекса Δ - и $\beta 1$ -ритмов по ЭЭГ (%), показатели латентности пиков $P2$ и $P3$ ЗВП (мс), амплитуды $P300$ слева. Информативными являлись параметры с уровнями значимости 0,008–0,02. Наиболее информативным признаком являлся показатель латентности пика $P2$ ЗВП ($F=11,7$).

Проведенный корреляционный анализ выявил взаимосвязь нейрофизиологических показателей и темпов старения у пациентов с профессиональными нейроинтоксикациями.

В 1-й группе пациентов установлена прямая корреляционная связь между латентностью пика $N2$ ЗВП, латентностью пика $P2N2$ СВП ($r_s=0,39$; 0,34, соответственно). Во 2-й группе установлена достоверная прямая корреляционная связь БВ с индексом Δ -ритма, латентностью пиков $P2$ ЗВП и $P300$ ($p<0,05$). В 3-й группе выявлена достоверная прямая корреляционная связь показателя БВ с показателем латентности пика $P2$ ЗВП ($r_s=0,43$), определяющая вклад снижения ЗВП в отдаленном периоде ХРИ в ускорение темпов биологического старения. Установленные связи показывают, что на скорость темпов биологического старения по мере прогрессирования ртутной интоксикации достоверно значимое влияние оказывает снижение функциональной активности лобной, височной и затылочной областей коры, стволовых структур головного мозга.

В 4-й группе пожарных-ликвидаторов увеличение БВ сопряжено со снижением индексов Δ -ритма, θ -ритма, показателями латентности пика $P2$ ЗВП, латентностью пика $P1$ СВП, латентностью пика $P300$ ($r_s=0,61$; 0,63; 0,75; 0,38; 0,52, соответственно). Указанные зависимости отражают дезинтеграцию биоэлектрической активности

при ускорении темпов биологического старения у лиц с установленным диагнозом в виде последствий интоксикации комплексом токсических веществ. Снижение амплитуды α -ритма, нарастание медленных форм активности, удлинение времени возникновения реакции (задержки ответа), снижение амплитуды и латентности пиков ВП являются приоритетными нейрофизиологическими признаками преждевременного старения мозга в отдаленном периоде интоксикации комплексом токсических веществ.

В 5-й группе сравнения корреляционный анализ установил достоверную прямую корреляционную связь между показателями амплитуды $P1$ ЗВП и БВ ($r_s=0,40$). Данный факт указывает на то, что по мере ускорения темпов старения в группе сравнения не происходит статистически значимых изменений нейрофизиологических показателей.

Таким образом, для токсических воздействий на нервную систему общим, типичным нейрофизиологическим признаком является показатель, характеризующий увеличение латентности пика $P2$ зрительных ВП.

На основании анализа полученных данных можно предположить, что процесс постарения пациентов с нейроинтоксикациями связан, главным образом, с изменениями параметров ЭЭГ и ВП, указывающих на признаки дисфункции стволовых структур, вовлечение в патологический процесс лобных и затылочных долей мозга.

Выводы

Темпы старения у пациентов с профессиональными нейроинтоксикациями в среднем в 85 % случаев носят преждевременный характер.

Общими признаками поражения структур головного мозга при профессиональной интоксикации ртутью на любой стадии заболевания является ухудшение показателей латентности пиков $N1$ и $P2$ ЗВП, $P2$ СВП.

Следствием хронического воздействия паров металлической ртути и комплекса токсических веществ и причиной ускоренного биологического старения при профессиональных интоксикациях является стойкая дезорганизация функциональной активности головного мозга в виде корково-подкорковых нарушений сенсорных регуляторных систем головного мозга, определяющих развитие патологических состояний, которые вносят значимый вклад в формирование ускоренных темпов биоло-

гического старения у пациентов с профессиональными нейротоксикациями.

Функциональным маркером ускоренного биологического старения при профессиональных нейротоксикациях является увеличение латентности пика P2 зрительных вызванных потенциалов.

Литература

1. Белозерова Л.М. Биологический возраст: фундаментальные и прикладные аспекты // В сб.: Материалы III Съезда геронтологов и гериатров России. Новосибирск, 2012. С. 27–28.
2. Белозерова Л.М. Сравнительная оценка биоэлектрической активности головного мозга и биологического возраста в периоды зрелости и старения // В сб.: Материалы III Съезда геронтологов и гериатров России. Новосибирск, 2012. С. 28–29.
3. Дильман В.М. Большие биологические часы. М.: Знание, 1981.
4. Донцов В.И., Крутько В.Н., Подколзин А.А. Старение: механизмы и пути преодоления (Серия «Проблемы геронтологии»). М., 1997. С. 82.
5. Катаманова Е.В., Лахман О.Л., Андреева О.К. и др. Сравнительная характеристика когнитивных нарушений у больных с токсической (ртутной) и сосудистой (дисциркуляторной) энцефалопатией // Бюл. сибир. мед. 2009. № 1–2. С. 46–49.
6. Катаманова Е.В., Лахман О.Л. Изменения вызванных потенциалов головного мозга у пациентов, подвергающихся воздействию различных нейротоксикантов // В сб.: Материалы III Всероссийского съезда врачей профпатологов. Новосибирск, 2008. С. 263–264.
7. Кишкун А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции: Рук. для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
8. Лахман О.Л., Рукавишников В.С., Катаманова Е.В. и др. Нейрофизиологические методы диагностики профессиональных поражений нервной системы: Учеб. пособие. Иркутск-Ангарск, 2008.
9. Максимов С.А. Особенности профессионального старения работников химических производств // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. 2006. Т. 9. № 6. С. 16–20.
10. Михайлуц А.П., Першин А.Н., Максимов С.А. Влияние на состояние здоровья работников химических производств профессиональных и экологических нагрузок вредными веществами // Бюл. Вост.-Сибир. НЦ СО РАМН. 2005. № 8 (46). С. 141–144.
11. Подколзин А.А., Крутько В.Н., Донцов В.И. Количественная оценка показателей смертности, старения, продолжительности жизни и биологического возраста. М.: МГМСУ, 2001.
12. Потрохов О.И., Долгих Д.В., Касьяновская В.П., Шевченко О.И. Клинико-функциональная характеристика неблагоприятного действия комплекса токсичных веществ на организм ликвидаторов пожара // Мед. труда и промышлен. экол. 1997. № 7. С. 14–18.
13. Профессиональная патология: Национальное рук. / Под ред. Н.Ф. Измерова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011.
14. Тарасова Л.А., Думкин В.Н. Профессиональные заболевания с преимущественным поражением нервной системы // В кн.: Профессиональные заболевания / Под ред. Н.Ф. Измерова. М.: Медицина, 1996. С. 136–200.
15. Фролькис В.В. Старение и продолжительность жизни. Л.: Наука, 1988.
16. Фролькис В.В. Старение и увеличение продолжительности жизни. Л., 1988.
17. Фролькис В.В. Старение. Психология развития. СПб.: Питер, 2001. С. 465–471.
18. Шевченко О.И., Дьякович М.П., Лахман О.Л. Психологические и нейрофизиологические особенности больных с токсической энцефалопатией с ускоренными темпами биологического старения // В сб.: Материалы II Междунар. науч.-практич. конф. «Wykształcenie i nauka bez granic — 2005». Т. 19. Психология и социология. Przemysl: Sp. Z o.o. «Nauka i stadia», 2005. С. 39–41.
19. Шевченко О.И. Оценка темпов биологического старения в отдаленном периоде хронической ртутной интоксикации // Бюл. Вост.-Сибир. НЦ СО РАМН. 2009. № 1. С. 220–223.
20. Шешунов И.В., Лысов Н.А., Смирнов С.В. Биологический возраст как интегральный показатель влияния условий труда на здоровье рабочих // Гигиена и санитария. 2011. № 4. С. 51–53.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 415–421

O.I. Shevchenko¹, O.L. Lakhman^{1,2}, E.V. Katamanova¹

INTERRELATION OF RATES OF A BIOLOGICAL AGING WITH NEUROPHYSIOLOGICAL FEATURES AT PATIENTS WITH PROFESSIONAL NEUROTOXICATIONS

¹ East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, P.O. Box 1170, Angarsk, 665827, ² Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, branch of the Russian medical Academy of postgraduate continuous education, 100, residential district Anniversary, Irkutsk, 664079; e-mail: oich68@list.ru

In the hospital conducted studying of functional activity of a brain of patients with professional neurotoxications for the purpose of detection of neurophysiological features of formation of the accelerated rates of biological aging at the working, being affected neurotoxicant is carried out. During the research it is shown that rates of aging at patients with professional neurotoxications on average in 85% of cases have premature character. The general signs of defeat of structures of a brain at professional intoxication are defined by mercury irrespective of a disease stage at the accelerated biological aging. For toxic impacts on a nervous system the characteristic, uniting sign distinguishing from the accelerated rates of aging of other etiology is the indicator characterizing augmentation of a latence of peak of P2 of the visual caused potentials. Based on the analysis of the received correlations it is set that in case of professional neurotoxications permanent disorganization of the functional activity of a brain in the form of cortical and subcortical violations of sensor regulatory systems of a brain is a consequence of chronic influence of vapors of metal mercury and a complex of toxic substances and the reason of the accelerated biological aging.

Keywords: occupational neurotoxication, rate of biological aging, neurophysiological features, caused potentials

С. В. Трофимова¹, Н. С. Линькова^{1,2}, А. А. Клименко³, Т. В. Кветная¹, В. Х. Хавинсон^{1,4}

ПИНЕАМИН ПОВЫШАЕТ СИНТЕЗ МЕЛАТОНИНА В ЭПИФИЗЕ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

¹ Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3; e-mail: linkova@gerontology.ru; ² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29; ³ Группа компаний «Герофарм», 191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., 11Б; ⁴ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

В исследовании на 55 пациентах пожилого возраста со сниженной мелатонинообразующей функцией эпифиза методом иммуноферментного анализа изучено влияние полипептидного комплекса эпифиза «Пинеамин» на экскрецию 6-сульфатоксимелатонина (6-СОМТ) в моче. Пинеамин в курсовой дозе 100 мг повышал ночной уровень экскреции 6-СОМТ в моче в 1,9 раза по сравнению с соответствующим показателем до лечения. Сходный эффект ранее был получен при введении препарата «Эпиталамин», также способствующего восстановлению синтеза мелатонина в эпифизе человека и животных при старении. Таким образом, Пинеамин и Эпиталамин обладают односторонним стимулирующим свойством в отношении мелатонинообразующей функции эпифиза у людей пожилого возраста.

Ключевые слова: Пинеамин, 6-сульфатоксимелатонин, эпифиз, старение

Эпифиз (пинеальная железа) является одним из центральных органов эндокринной системы. Темп старения эндокринной системы и развитие возрастной патологии во многом связаны с involuцией эпифиза, которая выражается в нарушении его мелатонинообразующей функции [2, 13, 23]. В мировой медицинской практике имеется опыт применения лекарственных препаратов мелатонина при лечении разных ассоциированных с возрастом заболеваний и для профилактики ускоренного старения организма. На территории РФ зарегистрирован лекарственный препарат мелатонина «Мелаксен» («Unipharm Inc.», США). Несмотря на его успешные клинические испытания, нельзя исключить ряд побочных эффектов и факторов риска, которые может вызвать этот гормональный лекарственный препарат [17, 24]. Так, Мелаксен может спровоцировать обострение психических заболеваний, развитие аутоиммунных процессов и аллергических заболеваний, развитие опухолей (лимфом, лейкозов), он не применяется у женщин, находящихся на грудном вскармливании,

не сочетается с применением некоторых лекарственных препаратов (препараты, затрагивающие функции цитохрома P450 и микросомальных оксидаз) [17, 18]. В связи с этим для профилактики ускоренного старения актуальной задачей является поиск путей повышения синтеза эндогенного мелатонина.

В 1974 г. В. Г. Морозов и В. Х. Хавинсон выделили методом уксуснокислой экстракции из эпифиза головного мозга крупного рогатого скота комплекс полипептидов с молекулярной массой около 10 кДа, впоследствии зарегистрированный как лекарственный препарат «Эпиталамин» (рег. №90/250/6, Приказ МЗ СССР № 250 от 19.06.1990). Основным показанием к применению Эпиталамина, указанным в инструкции к препарату, является климактерическая кардиомиодистрофия у женщин. Эпиталамин также успешно применялся в клинической практике при реабилитации после хирургических вмешательств, у онкологических больных, при разных травматических повреждениях, при ИБС, в неврологии, офтальмологии, дерматологии, стоматологии, эндокринологии и в качестве геропротектора [2, 5–7, 9, 12, 19–22]. Основные эффекты Эпиталамина связаны с нормализацией показателей клеточного и гуморального иммунитета, уровня в крови кортизола, инсулина, тимического сывороточного фактора, мелатонина и других гормонов. Эпиталамин нормализует показатели функциональной активности сердечно-сосудистой, антиоксидантной систем и гемостаза [7, 8, 9, 19, 22]. Установлено, что применение Эпиталамина способствовало достоверному снижению смертности лиц пожилого и старческого возраста [7, 8, 22].

Многие из перечисленных эффектов Эпиталамина обусловлены его способностью восстанавливать ночной пик секреции мелатонина в крови,

который снижается у людей старше 60 лет [9]. В исследовании на 40 пациентах пожилого возраста Эпиталамин (5 инъекций по 10 мг внутримышечно с интервалом в 2 сут) повышал ночной пик секреции мелатонина в крови в 2,45 раза по сравнению с группой плацебо. При этом на фоне введения Эпиталамина у пожилых людей было отмечено повышение физической и психомоторной работоспособности, восстанавливался суточный ритм деятельности сердечно-сосудистой и вегетативной нервной систем, нормализовался гормональный статус [9].

Эти данные хорошо согласуются с результатами о влиянии Эпиталамина на мелатонинообразующую функцию у животных. В работе О. В. Коркушко и соавт. (2007) у старых обезьян со сниженным уровнем мелатонина в крови концентрация этого гормона в 21 ч (соответствует ночному пику синтеза мелатонина в крови у человека) под действием Эпиталамина возрастала в 1,79 раза [5]. В другом исследовании у молодых и старых крыс пятидневное введение Эпиталамина в дозе 2,5 мг/кг массы тела в 10 ч утра приводило к повышению концентрации мелатонина в крови в ночные часы, соответственно, на 55 и 49% [1, 7]. Однако с 2006 г. по ряду технологических причин Эпиталамин был снят с производства в качестве фармакологического препарата.

В 2011–2015 гг. группой компаний «Герофарм» был разработан аналог Эпиталамина — препарат «Пинеамин». Пинеамин, так же как и Эпиталамин, представляет собой комплекс полипептидов, выделенных из эпифиза крупного рогатого скота. Из описания свойств Пинеамина следует, что препарат оптимизирует эпифизарно-гипоталамические взаимоотношения, нормализует функцию передней доли гипофиза, баланс гонадотропных гормонов. Многоцентровое двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование терапевтической эффективности и безопасности препарата «Пинеамин» доказало эффективность его применения при климактерическом синдроме у женщин [10].

Можно предположить, что Пинеамин имеет общий с Эпиталамином механизм влияния на мелатонинообразующую функцию эпифиза, поскольку Эпиталамин и Пинеамин имеют сходный состав полипептидов и регулируют функции женской репродуктивной системы.

Цель работы — изучение влияния Пинеамина на синтез мелатонина в эпифизе у людей пожилого возраста.

Материалы и методы

Исследование выполнено в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии. Обследованы 75 лиц пожилого возраста 60–74 лет (45 женщин и 30 мужчин). Все пациенты дали письменное согласие на участие в исследовании. Все участники на основании клинического, лабораторного и инструментального обследований были отнесены к категории практически здоровых людей в соответствии с возрастной нормой. У них не было выявлено заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной и эндокринной систем в фазе обострения. В период исследования они получали стандартное питание и находились на свободном режиме с обычным уровнем физической активности. Исследование проводили в зимне-весенний период года (декабрь—апрель 2016 г.).

При первичном исследовании у 20 пациентов (контрольная группа) уровень экскреции 6-сульфатоксимелатонин (6-СОМТ) соответствовал возрастной норме [3, 11], поэтому лечения им не проводили, а у остальных 55 человек был снижен. Возрастная норма ночной экскреции 6-СОМТ у лиц 60–74 лет варьирует в пределах 380–800 нг/ч [3]. Пациенты со сниженной мелатонинообразующей функцией эпифиза были разделены на две группы — получающую плацебо ($n=20$) и с введением Пинеамина ($n=35$). Пациенты группы плацебо получали 0,9% раствор натрия хлорида (2 мл ежедневно однократно внутримышечно в течение 10 сут); пациенты 2-й группы получали Пинеамин (10 мг в 2 мл 0,9% раствора натрия хлорида ежедневно однократно внутримышечно в течение 10 сут).

Для изучения мелатонинообразующей функции эпифиза у пациентов определяли экскрецию 6-СОМТ в моче по стандартной методике [15] до начала лечения и через 5 сут после окончания лечения. В исследовании был использован унифицированный протокол данных, заполняемый при клиническом определении экскреции 6-СОМТ у человека [4]. Пробы мочи собирали в отдельную емкость в период с 23 ч вечера до 7 ч утра. Все пациенты были проинформированы о недопустимости включения источников света в течение времени сбора проб. После измерения общего объема выделенной за ночь мочи отбирали три пробы по 1 мл в пробирке, замораживали и хранили при температуре -20°C . Данные о пациентах занесли в протокол определения экскреции 6-СОМТ, которое осуществляли методом иммуноферментно-

Таблица 1

**Экскреция 6-сульфатоксимелатонина (6-COMT)
у людей пожилого возраста**

| Группа | Экскреция 6-COMT, нг/ч | | |
|-------------------|--------------------------|------------|---------------|
| | возрастная норма 380–800 | до лечения | после лечения |
| Контрольная, n=20 | 552±37 | – | – |
| Плацебо, n=20 | – | 258±29* | 273±32* |
| Пинеамин, n=35 | – | 246±30* | 467±35** |

Примечание. Здесь и табл. 2, 3: * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем в группе плацебо.

Таблица 2

**Экскреция 6-сульфатоксимелатонина (6-COMT)
у женщин пожилого возраста**

| Группа | Экскреция 6-COMT, нг/ч | | |
|-------------------|--------------------------|------------|---------------|
| | возрастная норма 380–800 | до лечения | после лечения |
| Контрольная, n=13 | 562±42 | – | – |
| Плацебо, n=11 | – | 255±27* | 282±30* |
| Пинеамин, n=21 | – | 250±34* | 473±35** |

Таблица 3

**Экскреция 6-сульфатоксимелатонина (6-COMT)
у мужчин пожилого возраста**

| Группа | Экскреция 6-COMT, нг/ч | | |
|------------------|--------------------------|------------|---------------|
| | возрастная норма 380–800 | до лечения | после лечения |
| Контрольная, n=7 | 542±32 | – | – |
| Плацебо, n=9 | – | 261±31* | 264±34* |
| Пинеамин, n=14 | – | 242±26* | 461±35** |

го анализа («Bio Tek Instruments», модель ELx808) с использованием набора «6-Sulfatoxymelatonin ELISA Kit» («Buhlmann Laboratories AG», Швейцария), включающего материалы для прямого определения 6-COMT в моче человека. Метод иммуноферментного анализа позволяет определить концентрацию 6-COMT в моче, но не учитывает такого важного параметра, как объем мочи. Количество мочи, выделенной в ночное время у пациентов, зависит от различных факторов (количество выпитой за день жидкости, функциональное состояние почек, индивидуальные особенности организма и т. д.) и может сильно варьировать

(в нашем исследовании — 150–550 мл). Для того, чтобы учесть этот фактор, мы проводили пересчет концентрации 6-COMT в моче по следующей формуле: $A = K \cdot V / t$, где A — концентрация 6-COMT в моче за 1 ч, нг/ч; K — концентрация 6-COMT в моче за 8 ч, нг/мл; V — объем мочи (мл), собранной за 8 ч (в период с 23 ч до 7 ч); t — время, в течение которого собирали мочу (ч), $t = 8$. Таким образом, в нашем исследовании экскрецию 6-COMT в моче рассчитывали в нг/ч, такой подход используют и в других исследованиях [3, 16].

Динамику психоэмоционального и физического состояния пациентов оценивали с помощью следующих тестов: «Методика диагностики оценки самочувствия, активности и настроения», «Методика Спилбергера–Ханина».

Обработку полученных данных проводили с использованием статистического пакета программ Statistica 7.0. Для анализа результатов исследования применяли параметрические и непараметрические методы статистики с использованием t -критерия Стьюдента и U -критерия Манна–Уитни. Статистическую достоверность полученных результатов оценивали на уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У пациентов группы плацебо уровень экскреции 6-COMT в моче исходно был меньше нижней границы возрастной нормы и после инъекций физиологического раствора достоверно не изменился (табл. 1). Экскреция 6-COMT у пациентов после курса Пинеамина возросла в 1,9 раза по сравнению с показателем до лечения (см. табл. 1). В табл. 2, 3 представлены данные гендерного исследования, которые свидетельствуют об отсутствии у мужчин и женщин пожилого возраста достоверных различий в экскреции 6-COMT.

У пациентов, получавших Пинеамин, по данным опроса в 92 % случаев отмечена выраженная положительная динамика психоэмоционального и общего физического состояния. При этом у пациентов в группе плацебо положительная динамика самочувствия была выявлена только в 26 % случаев. Важно отметить, что при введении Пинеамина — как во время всего курса лечения, так и после него в течение 20–30 сут — никаких побочных реакций не выявлено. В исследовании О. В. Коркушко и соавт. (2006) у людей пожилого возраста со сниженной мелатонинообразующей функцией эпифиза под действием Эпиталамина

наблюдали повышение уровня мелатонина в крови в 3 ч ночи с 24 ± 5 до 59 ± 13 нг/мл, то есть в 2,45 раза [9], что совпадало с данными, полученными на старых животных [1, 5, 7].

Можно высказать предположение о том, что механизм влияния Пинеамина на мелатонин-образующую функцию эпифиза может быть сходным с тем, который был у Эпиталамина. Установлено, что в составе Эпиталамина содержится тетрапептид *AEDG* (эпиталон), который оказывает те же биологические эффекты, что и Пинеамин, но в меньшей концентрации. В том числе, эпиталон способствовал нормализации мелатонинообразующей функции эпифиза [7, 13].

В культуре пинеалоцитов было изучено влияние эпиталона на синтез мелатонина и факторов, участвующих в этом процессе, — фермента арилалкиламин-*N*-ацетилтрансферазы (*AANAT*) и транскрипционного протеина *pCREB* [14]. Установлено, что эпиталон способен стимулировать синтез *AANAT* и *pCREB* и повышать содержание мелатонина в культуре клеток. Представляется возможным, что в составе Пинеамина, так же как и Эпиталамина, может содержаться пептид *AEDG*, регулирующий синтез молекул, стимулирующих выработку мелатонина в эпифизе. Однако это предположение требует дополнительных исследований.

Таким образом, Эпиталамин и Пинеамин оказывают сходное стимулирующее действие в отношении мелатонинообразующей функции эпифиза у людей пожилого возраста. На основании полученных результатов исследования препарат «Пинеамин» можно рекомендовать в качестве средства, восстанавливающего уровень секреции мелатонина у людей старших возрастных групп.

Литература

1. Бондаренко Л.А. Сезонные особенности влияния эпиталамина на формирование ночного пика мелатонина у старых крыс // Пробл. стар. и долголетия. 1993. Т. 3. № 2. С. 97–100.
2. Гончарова Н.Д., Хавинсон В.Х., Лапин Б.А. Пинеальная железа и возрастная патология (механизмы и коррекция). СПб.: Наука, 2007.
3. Ермаченков М.Н., Гуляев А.В., Арутюнян А.В. и др. Возрастные изменения экскреции 6-сульфатоксимелатонина у больных раком желудка и у больных раком толстой кишки // Успехи геронтол. 2012. Т. 25. № 2. С. 224–250.
4. Кветная Т.В., Князькин И.В., Кветной И.М. Мелатонин — нейроиммуноэндокринный маркер возрастной патологии. СПб.: ДЕАН, 2005.
5. Коркушко О.В., Лапин Б.А., Гончарова Н.Д. и др. Нормализующее влияние пептидов эпифиза на суточный ритм мелатонина у старых обезьян и людей пожилого возраста // Успехи геронтол. 2007. Т. 20. № 1. С. 74–85.
6. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Бутенко Г.М. и др. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. СПб.: Наука, 2002.
7. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б. Пинеальная железа: пути коррекции при старении. СПб.: Наука, 2006.
8. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б. и др. Геропротекторное действие пептидного препарата эпифиза у пожилых больных с хронической ишемической болезнью сердца (результаты лонгитудинального наблюдения) // Пробл. стар. и долголетия. 2012. Т. 1. № 3. С. 347–356.
9. Коркушко О.В., Шатило В.Б., Антонюк-Щеглова И.А. и др. Влияние курсового введения пептидных препаратов эпифиза на суточные концентрации мелатонина в плазме крови у людей пожилого возраста // Буковин. мед. вісн. 2006. Т. 10. № 4. С. 76–79.
10. Прилепская В.Н., Богатова И.К., Радзинский В.Е. Новое в профилактике и терапии климактерического синдрома // Гинекология. 2016. Т. 18. № 1. С. 7–12.
11. Трофимова С.В., Горбунов А.В., Проняева В.Е. Роль мелатонина в развитии патологии сетчатки у пациентов старшей возрастной группы // Успехи геронтол. 2012. Т. 25. № 2. С. 239–243.
12. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А. Пептидные геропротекторы — эпигенетические регуляторы физиологических функций организма. СПб.: РГПУ им. А. И. Герцена, 2014.
13. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. Морфофункциональные и молекулярные основы старения эпифиза // Физиология человека. 2012. Т. 38. № 1. С. 119–127.
14. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Кветной И.М. и др. Молекулярно-клеточные механизмы пептидной регуляции синтеза мелатонина в культуре пинеалоцитов // Бюл. экпер. биол. 2012. Т. 153. № 2. С. 223–226.
15. Цфасман А.З. Мелатонин: нормативы при различных суточных режимах. Профессиональные аспекты в патологии. М.: МИИТ, 2015.
16. Цфасман А.З., Горохов В.Д., Алпаев Д.В. Суточный ритм мелатонина при депривации ночного сна // Пробл. эндокринологии. 2013. № 2. С. 40–44.
17. Andersen L.P., Gögenur I., Rosenberg J. et al. Pharmacokinetics of melatonin: the missing link in clinical efficacy? // Clin. Pharmacokinet. 2016. Vol. 55. № 9. P. 1027–1030.
18. Andersen L.P., Gögenur I., Rosenberg J. et al. The Safety of Melatonin in Humans // Clin. Drug Investig. 2016. Vol. 36. № 3. P. 169–175.
19. Anisimov V.N., Arutjunyan A. V., Khavinson V.Kh. Effects of pineal peptide preparation Epithalamin on free-radical processes in humans and animals // Neuroendocr. Lett. 2001. Vol. 22. № 1. P. 9–18.
20. Anisimov V.N., Khavinson V.Kh. Peptide bioregulation of aging: results and prospects // Biogerontology. 2010. Vol. 11. № 2. P. 139–149.
21. Khavinson V.Kh. Peptides and Ageing // Neuroendocr. Lett. 2002. Vol. 23. № 3. P. 1–144.
22. Korkushko O.V., Khavinson V.Kh., Shatilo V.B. et al. Peptide geroprotector from the pineal gland inhibits rapid aging of elderly people: results of 15-year follow-up // Bull. exp. Biol. Med. 2011. Vol. 151. № 3. P. 366–369.
23. Pierpaoli W., Maestroni G.J.M. Melatonin: a principal neuroimmunoendocrinology and anti-stress hormone: its anti-aging effect // Immunol. Lett. 1987. Vol. 16. P. 355–362.
24. Sánchez-Barceló E.J., Mediavilla M.D., Tan D.X. et al. Clinical uses of melatonin: evaluation of human trials // Curr. Med. Chem. 2010. Vol. 17. № 19. P. 2070–2095.

S. V. Trofimova¹, N. S. Linkova^{1,2}, A. A. Klimenko³, T. V. Kvetnaia¹, V. Kh. Khavinson^{1,4}

PINEAMIN INCREASED PINEAL MELATONIN SYNTHESIS IN ELDERLY PEOPLE

¹ Sain-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 3, Dynamo pr., St. Petersburg, 197110; e-mail: linkova@gerontology.ru; ² Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University, 29, Polytechnicheskaya str., St. Petersburg, 195251; ³ Group of companies «Geropharm», Degtyarnyj lane, 11B, St. Petersburg, 191144; ⁴ Pavlov Institute of Physiology of RAS, Makarova emb., St. Petersburg, 6199034

It was investigated the influence of polypeptide complex Pineamin on the 6-sulfatoxymelatonin (aMT6S) excretion in urine by ELISA test of 55 elderly patients with diminished melatoninsynthesis pineal gland function. Pineamin in course dose 100 mg has increased night level of aMT6S urine excretion in 1,9 times in comparison with relevant value untreated. Similar effect was obtained early for medical drug Epithalamin. Epithalamin also restored melatonin level in human and animals during aging. Thus, Pineamin and Epithalamin have similar stimulate effect on melatonin synthesis in elderly people pineal gland.

Key words: *Pineamin, 6-sulfatoxymelatonin, pineal gland, aging*

I. Srivastava, Y. Hasija

STAT3 AS NOVEL DRUG TARGET FOR MULTIPLE AGE-RELATED DISORDERS: DOCKING AND SIMULATION ANALYSIS

Department of Biotechnology, Delhi Technological University, Shahbad Daultpur, Main Bawana Road, Delhi, 110042, India;
e-mail: yashahasija@gmail.com

Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) considerably contributes to various age-related disorders (ARDs) for instance cancer, autoimmune disorders, bowel-associated disorders, Alzheimer's disease, Parkinson's disease and age-related macular degeneration. Previous studies have substantiated that obstructing STAT3 activity may cure an amount of ARDs. Studies on STAT3 have proved it as a novel and promising drug target. In this study, a docking-based virtual screening combined with molecular dynamics simulation was executed to ascertain STAT3 dimerization inhibitors. It was indicated that ligand 01 (ZINC20601870) and ligand 02 (ZINC01216760) exhibited remarkably higher binding affinities (binding affinity with ligand 01 = -8,01 Kcal/mol, binding affinity with ligand 02 = -6,91 Kcal/mol) compared to other ligands. These two ligands reached equilibrium with STAT3 in molecular dynamics simulation. Hence, in this work, we suggest ligand 01 and 02 as a promising lead for further optimization and may serve as drug molecules in therapeutics of multiple ARDs.

Key words: age-related disorders, docking, ADME properties, drug target, molecular dynamics simulation

Signal transducer and activator of transcription (STAT) proteins is a family of latent cytoplasmic transcription factors. This Protein family assists normal cellular responses to growth factors, cytokines, and other polypeptide ligands. STATs protein's activation plays a significant role in the mediation of cytokine and growth factor-induced cellular and biological processes. There are total seven members of the STAT family in humans: STAT1, 2, 3, 4, 5a, 5b, and 6. All of the family members share six distinct structural domains, including the N-terminal, coiled-coil, DNA-binding, Src homology 2 (SH2), transactivation domains, and contain a critical tyrosine (Tyr) residue at the C-terminus (Tyr705 for STAT3), which is phosphorylated during activation. STAT family proteins are get activated by phosphorylation, which is mediated by growth factor receptor tyrosine kinases, and the cytoplasmic kinases, such as cytokine receptor-associated Janus kinases (JAKs),

and Src family kinases. Phosphorylation is responsible for STAT: STAT dimer formation [8]. From the cytoplasm, STATs accumulate in the nucleus where they mediate gene transcription by binding to specific DNA response elements [8]. The Jak/STAT (Janus tyrosine kinase/signal transducers and activators of transcription) pathway is critical for various late onset disorders. The expression of STAT proteins in various age-related-related disorders has been examined previously such as age-related macular degeneration (AMD), Alzheimer's disorder, Parkinson's disorders, and cancer [8, 26]. STAT3 functions as a master regulator of molecular and biological events that promote tumorigenesis [29]. Inhibiting STAT3 activity by pharmacological approaches induces growth arrest and apoptosis of tumor cells [4, 9]. Therefore, we can say that STAT3 may play the role of cancer drug target.

As mentioned earlier, STAT is not only responsible for tumor progression, but these proteins also play a crucial role in other ARDs such as immune-related disorders. Participation of STAT has also been examined in acquired immune responses in colitis. STAT enhances the pathogenic T-cells. However, there are many STAT family proteins that participate in acquired immune response, but the role of STAT3 in colitis disorders (mainly in inflammatory bowel disease) is highly documented [5]. The lower response towards therapies has been perceived in an older population. An experimental study by A. Desai et al. proved the weak response of older Crohn's disease patients towards anti-TNF therapy [30]. Enhanced activity of STAT3 molecule was examined by P. Lovato et al. in Crohn's disease patients [15]. K. Takeda also found that an amplified volume of STAT3 protein appeared in both ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) compared to non-inflammatory control cells, and total STAT3 interrelated with amplified activated pSTAT3 in tissue sections from both UC and CD. They also identified, that increased pSTAT3 also di-

rectly correlated with the histological degree of inflammation of tissues [24]. It has been observed that CD4⁺ T cells exhibit an ability to induce the development and exacerbation of not only CD-like but also UC-like experimental colitis [16, 20, 21]. Moreover, another study by knocking out T-cell specific STAT3 proves its crucial role in acquired immune response [25]. In addition to these examinations, researchers have examined STAT3 activation in IL-6 dependent T-cell proliferation through prevention of apoptosis. R. Atreya et al. found, that enhanced activity of IL-6/STAT3 cascade in lamina propria T cells induces prolonged survival of pathogenic T cells and inactivity of this cascade contributes to the attenuation of chronic intestinal inflammation [1]. IL-6, IL-15, and leptin play a pathogenic role in colitis by promoting the activity of STAT3 predominantly in the acquired immune cells. These findings suggest that it is possible to inactivate STAT3 in specific cell populations for the treatment of human inflammatory bowel disease (IBD). Recent data suggests that STAT3 is one of the crucial targets for the treatment of IBD [23].

The association of STAT family proteins with immune-related processes not only found to be responsible for its role in colitis disorders but it was observed, that STAT3 activation is also responsible for multiple sclerosis. Enhanced production of cytokines and decreased expression of suppressers of cytokine regulatory proteins causes aberrant activity of JAK/STAT pathway, especially STAT3 proteins. It has been observed, that specific JAK-STAT inhibitors impart the beneficial effect on clinical course of multiple sclerosis [3].

Due to the aging of brain cellular and biological processes become less efficient. Therefore, it is becoming extremely important to study common etiologies and mechanisms related to neurodegenerative disorders like Alzheimer's diseases, Parkinson's disease, Schizophrenia, and Huntington's disease [8]. It has been observed, that other disorders such as Parkinson's disease, spinal cord injury and Alzheimer's disease, which have a prominent neuroinflammatory component, may also benefit from JAK inhibitors [3]. I. Srivastava et al. have revealed the participation of STAT3 proteins in various pathways involved in disorders by gene enrichment analysis [22].

Besides these studies, STAT3 has been proved as promising drug target by system level examination of disorder associated proteins. Such as J. Yang et al. has proposed STAT3 as the important key connector

genes having FDRs of $9.96e-33$ for aging and ARDs [28]. The activity of STAT3 can be restricted by targeting various domains of these proteins. Some of the approaches are: 1) the direct targeting of the STAT3 protein by way of the SH2 domain inhibitors, 2) dimerization inhibitors (SDIs, site B), 3) DNA binding domain inhibitors (DBDIs, site C), 4) N terminal domain inhibitors (NDIs, site D), 5) the indirect targeting of the upstream components of the STAT3 pathway [18].

A search of inhibitors of protein molecules by wet lab experimentation is a money and time-consuming process. Virtual screening (VS) methodologies, such as pharmacophore modeling and molecular docking simulation, have played an effective role in the development of drug molecules [2, 12]. In order to discover promising lead molecules that will be useful for targeting STAT3 proteins, here we applied virtual screening and molecular simulation strategy. Molecular docking combined with molecular dynamic (MD) simulation was based on STAT3 molecule — 1bg1 (PDB ID). Firstly, ligand molecules were retrieved from ZINC database [11]. Ligands were tested on the basis of Lipinski's rule of five and the absorption, distribution, metabolism, and excretion (ADME) properties filters. All of these ligands were then subjected to docking analysis in ParDOCK [10]. Finally, ligands molecules were filtered on the basis of binding affinity of ligand-target complex obtained by ParDOCK. At last, we performed the molecular dynamic simulation of ligand and target molecule to check its behavior in bodily condition (*fig. 1*).

Materials and Methods

Ligand extraction

Ligands that can target STAT3 molecule were extracted by RASPD [17]. RASPD is a computationally fast protocol for identifying good candidates for any target protein. The binding pocket of the input target protein is scanned for the number of hydrogen bond donors, acceptors, the number of hydrophobic groups, and a number of rings. A QSAR type equation combines the previously mentioned properties of the target protein and the candidate molecule and an estimate of the binding free energy is generated if the target protein were too complex with the candidate. The database we used for ligand search in RASPD was ZINC database. Consequently, 6 top-ranked hits were identi-

fied from ZINC database. These hits were 5-(2-furyl)-N-[1-[2-(1-piperidyl) ethyl] benzimidazol-2-yl]-7-(trifluoromethyl) pyrazolo [1,5-a] pyrimidine-3-carboxamide (ZINC20601870) (ligand 01), (4-benzylpiperazin-1-yl)-[4-(2-furyl)-2-(trifluoromethyl)-1,5,9-triazabicyclo[4.3.0]nona-2,4,6,8-tetraen-7-yl]-methanone (ZINC01216760) (ligand 02), (4-benzylpiperazin-1-yl)-[5-(2-thienyl)-7-(trifluoromethyl) pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl] methanone (ZINC08680620) (ligand 03), (4-benzylpiperazin-1-yl)-[5-(2-furyl)-7-(trifluoromethyl) pyrazolo[1,5-a] pyrimidin-3-yl] methanone (ZINC19774479) (ligand 04), (4-benzylpiperazin-1-yl)-[5-(2-thienyl)-7-(trifluoromethyl)-[1,2,4]triazolo [1,5-a]pyrimidin-2-yl] methanone (ZINC00793735) (ligand 05), 1-naphthyl-diphenyl-BLAH (ZINC02060288) (ligand 06).

Ligand screening

Ligand Screening was performed on the basis of ADME (absorption, distribution, metabolism, and excretion) properties [6]. Evaluation of ligands has become one of the most important issues in the process of drug discovery and development. Since in vivo and in vitro evaluations are costly and laborious, that is why we applied in silico techniques to estimate ADME properties of our ligands of interest. With ADME properties, we also computationally analyzed our ligand's various properties that are required to act as drug molecule in biological and cellular conditions such as its permeability from different biological membranes and their interaction with cytochrome molecules. Ligands were also tested on the basis of Lipinski rule of five [14]. All compounds passing the drug-like search were further used for docking analysis.

Docking of ligand and STAT3 molecule

The docking process involves the prediction of ligand conformation and orientation within a targeted binding site. In general, there are two aims of docking studies: accurate structural modeling and correct prediction of activity [13]. In order to perform a valid docking, we used ParDOCK. ParDOCK is an all-atom energy based Monte Carlo, rigid protein-ligand docking, implemented in a fully automated, par-

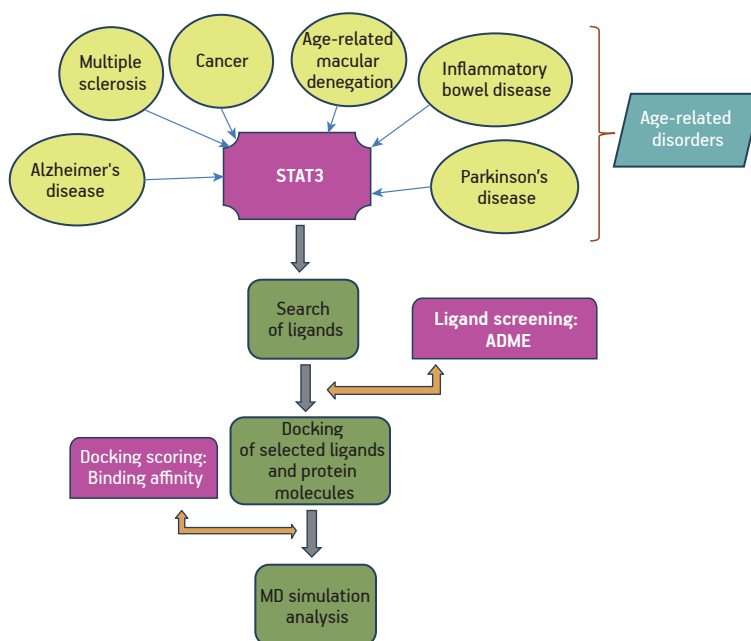


Fig. 1. Flowchart of research methodology of novel drug molecule identification for STAT3 dimerization inhibitors via docking screening and molecular dynamics simulation

allel processing mode which predicts the binding mode of the ligand in receptor target site.

Docking Screening and residue interaction analysis

For the screening of docked structure, we applied criteria of binding affinity of ligand and protein molecule. Binding affinity is typically measured and reported by the equilibrium dissociation constant (KD), which is used to evaluate and rank order strengths of bimolecular interactions. ParDOCK generated various PDB files of protein and ligand structure and calculated binding affinity of docked structure. Interaction of ligand and residues, of the binding site of proteins in selected docked molecules, were analyzed by ligplot analysis [27].

Molecular docking simulation analysis

MD simulations were performed on the best docking pose of the ligand 01 and ligand 02 complexed with the STAT3 protein molecule in AMBER 10 package. AMBER MD simulation program includes the collection of numerous programs that work together to setup, perform, and analyze MD simulations, from the preparation of the necessary input files for the examination of the results. AMBER comprised of three different MD simulation engines. Sander has been the most trivial platform for both computation and development in AMBER. Pmemd and pmemd.cuda

have focused on maximizing performance [19]. The AMBER ff99SB force field was instigated for protein and the General AMBER Force Field (GAFF) 104 for ligands. The protein structure with ligand was solvated using the TIP3P water model the solvent buffer being extended to 12° A in each direction of the solute forming an octahedron box. The system was neutralized by adding the appropriate number of Na⁺ ions and Cl⁻ ions. Systems were minimized by holding protein structure with a force of 10 Kcal·m⁻¹ with the combination of 2500 steps of steepest descent and 750 steps of conjugated gradients. Systems were gradually heated to 300K. Then, the systems were equilibrated at 300K for 1ns. Finally, the systems were run for 10 ns of production simulation at constant temperature (300 K) and pressure (1 atm). The Cpptraj module in AMBER10 was used to analyze MD trajectories.

Results and Discussion

Outcomes of virtual screening and docking studies

STAT3, being one of the most promising drug targets for treating various disorders, was virtually screened against ZINC database by a ligand search tool RASPD. We obtained six ligand molecules (*fig. 2*).

For screening of ligands, we considered ADME properties, permeability through various biological membranes, interaction with various cytochrome molecules, Lipinski rule of 5, and GI absorption capacity [5]. The reason behind the selection of these screening criteria was the failure of several drugs is due to poor pharmacokinetics and bioavailability. Gastrointestinal absorption and brain access are two significant pharmacokinetic behaviors for evaluation of different levels of the drug discovery processes. Hence, we analyzed these properties on the basis of a predictive model, Brain Or Intestinal Estimated permeation method (BOILED-Egg) proposed by A. Daina and V. Zoeteas. The BOILED-Egg can be applied in a variety of settings, from the filtering of chemical libraries at the early steps of drug discovery to the evaluation of drug candidates for development [7]. From ADME property analysis of the ligands, it was observed that these ligands have high values of human GI absorption (except ligand 06) and most of the molecule (except ligand 06) found to be correct on the basis of ADME properties. It has been that ligand 01 is violating one of the Lipinski rules of 5 that is criteria of molecular

weight. But in the past researches, it has been seen that there are many successful drugs available in the market, which did not follow all of the rules by Lipinski [31]. As our ligand 01 was found to be following all the rules and accomplishing all ADME and absorption, permeation criteria that are why we considered ligand 01 with other ligands (ligand 02, ligand 03, ligand 04, ligand 05) for further docking study (*tabl. 1*).

The docking process involved two basic steps: prediction of the ligand conformation as well as its position and orientation within these sites (usually referred to as pose) and assessment of the binding affinity. In this study, docking was performed on the basis of Monte Carlo algorithm in ParDOCK. ParDOCK generates four best-docked structure files. The result of docking was further screened on the basis of binding affinity (*tabl. 2*). It was observed that ligand 01 and ligand 02 exhibited the highest binding affinity. That is why we selected ligand 01 and 02 for further analysis (*fig. 3*).

Residue Interaction Analysis

Ligand 01 and ligand 02 were analyzed for their interaction with residues using LigPlot. Further analysis of ligplot-generated files revealed that ligand 01 is forming one hydrogen bond with aspartate at position 30, and 68 non-bonded interactions, some of the non-bonded interactions in close proximity are arginine at position 107, alanine at 28, glycine at 48, aspartate at 29, glycine at 48 and 49, leucine at 23 (*fig. 4, a*). Examination of ligand 02 and STAT3 molecule revealed that ligand 02 is forming one hydrogen bond with aspartate at position 25, and 53 non-bonded interactions. Some of the non-bonded interactions in close proximity are arginine at 107, leucine at 122, glycine at 128, alanine at 28, isoleucine with 48 and isoleucine at 47 (see *fig. 4, b*). The hydrogen bonds of these molecules with surrounding residues govern their stability.

Molecular dynamics simulations

For further refinement and stabilization of both the docked complexes, molecular dynamics simulation was carried out for STAT3 in complex with the ligand 01 and 02 for 10 ns using AMBER 10. The simulation length of 10 ns used in the study, was sufficient enough to permit the reorganization of the side chains of ligand-complexed protein thereby allowing it to acquire the energetically most stable binding conformation. The root mean square deviation (RMSD) plot of STAT3 with ligand 01 and 02 showed an ob-

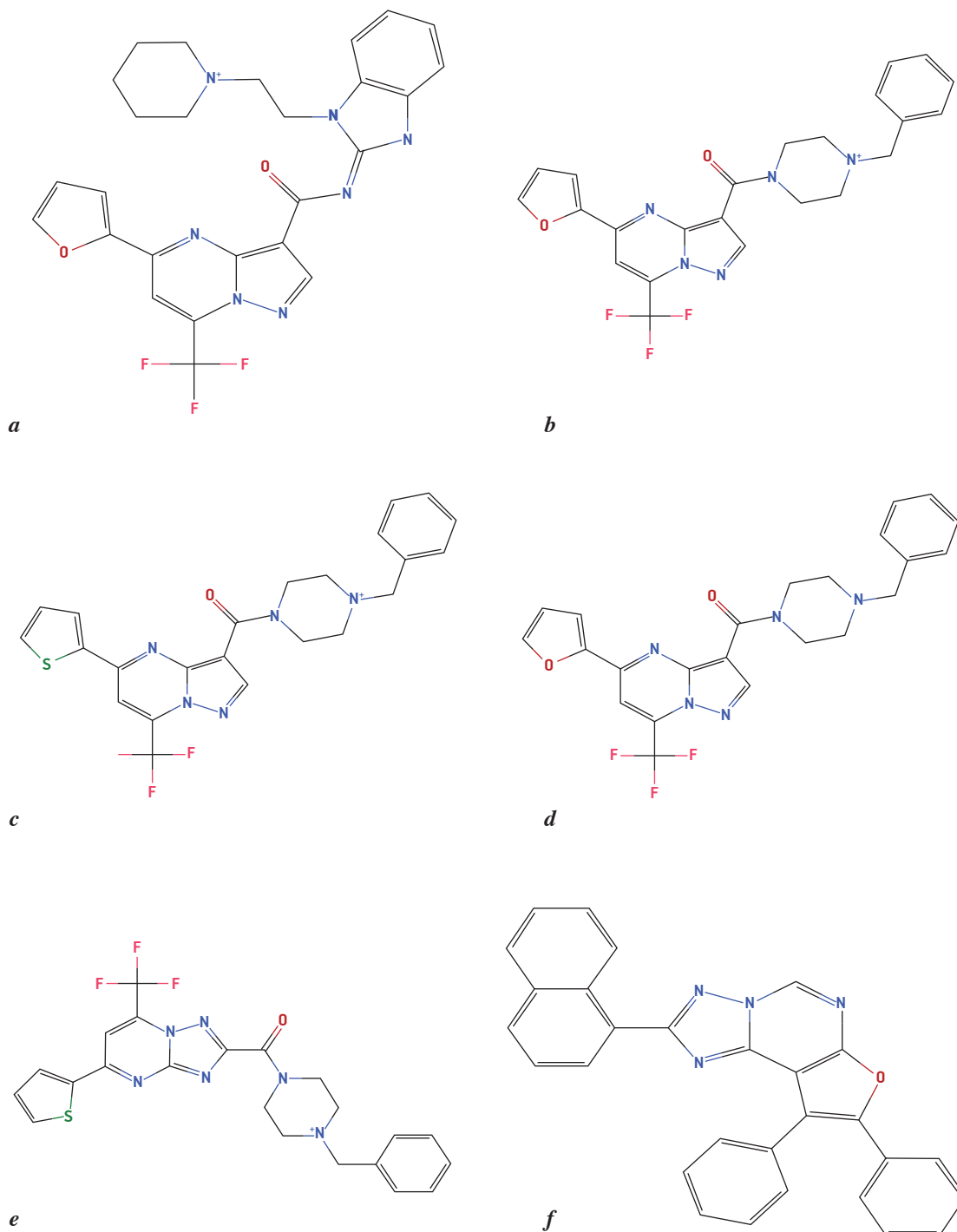


Fig. 2. Chemical structure of ligands: (a) Ligand 01 (ZINC20601870) (b) Ligand 02 (ZINC01216760) (c) Ligand 03 (ZINC08680620) (d) Ligand 04 (ZINC19774479) (e) Ligand 05 (ZINC00793735) (f) Ligand 06 (ZINC02060288)

vious increase of RMSD, observed for first 850 ps but after that, a constant RMSD was achieved. The increase of RMSD in the beginning of production phase was due to the fact that the restrains of the system applied in the equilibration phase was released at the beginning of production phase. The stabilization of structure after near 850 ps indicates that binding of ligand 01 and 02 in STAT3 shows positive behavior

and on the basis of our bioinformatics analysis it can be said that usage of ligand 01 and 02 can be used as an inhibitor of STAT3 dimerization (fig. 5, a, b).

As described earlier, inhibition of STAT3 dimerization may impart positive effect for the cure of cancer, age-related macular degeneration, multiple sclerosis etc. But several findings indicated that, in contrast to acquired immune cells, activation of STAT3 in innate

Ligands and

| Ligands | Molecular weight (gram/mol) | Number of rotatable bonds | Number of hydrogen bond donors | Number of hydrogen bond acceptors | Molar refractivity (m ³ mol ⁻¹) | TPSA (Angstrom) | Log P value |
|-----------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------|-------------|
| Ligand 01 | 524,52 | 7 | 8 | 2 | 137,64 | 97,92 | 3,8 |
| Ligand 02 | 456,44 | 6 | 7 | 1 | 122,07 | 68,08 | 3,73 |
| Ligand 03 | 472,51 | 6 | 6 | 1 | 127,68 | 83,18 | 3,51 |
| Ligand 04 | 455,43 | 6 | 8 | 0 | 121,11 | 66,88 | 3,73 |
| Ligand 05 | 473,49 | 6 | 7 | 1 | 125,48 | 96,07 | 3,37 |
| Ligand 06 | 438,48 | 3 | 4 | 0 | 134,37 | 56,22 | 3,9 |

Table 2

Ligands with their binding affinity and formal charge

| Ligands | Binding Affinity, Kcal/mol | Formal Charge |
|-----------|----------------------------|---------------|
| Ligand 01 | -8,01 | 1,00 |
| Ligand 02 | -6,91 | 1,00 |
| Ligand 03 | -5,73 | 1,00 |
| Ligand 04 | -5,24 | 0,00 |
| Ligand 05 | -5,32 | 1,00 |

cells plays a regulatory role in colitis. Hence, STAT3 inhibitors may disrupt its regulatory action in innate immune response [12].

Conclusion

In this study, a docking-based virtual screening combined with simulation was performed for STAT3 protein molecule and ligands. By conducting docking analysis and simulation it was observed that ligand 01 and 02 is establishing good interaction with STAT3 molecule and its complex structure with STAT3 are

showing stable structure after 850 ps. This result indicates that ligand 01 and 02 can be used as an inhibitor for blocking the activity of STAT3 molecule by acquiring space in its DNA binding pocket. Inhibiting activation of STAT3 molecule may cure various age related disorders. Here, we have introduced novel drug targets and ligands by utilizing in silico methods. However, to validate ligand as a drug, successful high-throughput experiments can be performed for detecting drug's efficacy, drug likeness, affinity, lipophilic efficiency, cytotoxicity, metabolic stability, cell membrane permeability, water solubility, chemical stability, synthetic tractability.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

We thank Ms Pooja Khurana for scientific inputs.

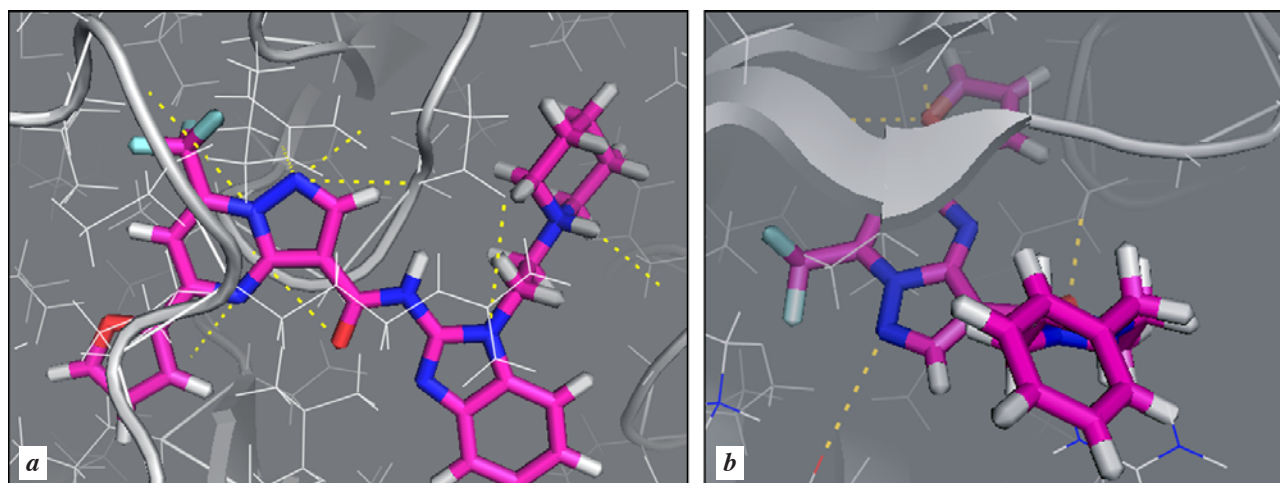


Fig. 3. Representation of (a) Ligand 01 in DNA-binding domain in STAT3 protein molecule (b) Ligand 02 in DNA-binding domain in STAT3 protein molecule

their properties

| Log S value | GI absorption | BBB permeability | CYP1A2 | CYP2C19 | CYP2C9 | CYP2D6 | CYP3A4 | Medicinal Chemistry alerts (PAINS, Brenk) |
|-------------|---------------|------------------|--------|---------|--------|--------|--------|-------------------------------------------|
| -5,24 | High | No | No | Yes | Yes | No | No | 0 alerts |
| -4,47 | High | Yes | Yes | No | No | No | No | 0 alerts |
| -4,96 | High | No | Yes | No | No | No | No | 0 alerts |
| -4,46 | High | Yes | No | Yes | Yes | Yes | No | 0 alerts |
| -5,03 | High | No | No | No | Yes | No | No | 0 alerts |
| -7,53 | Low | No | No | No | No | No | No | 0 alerts |

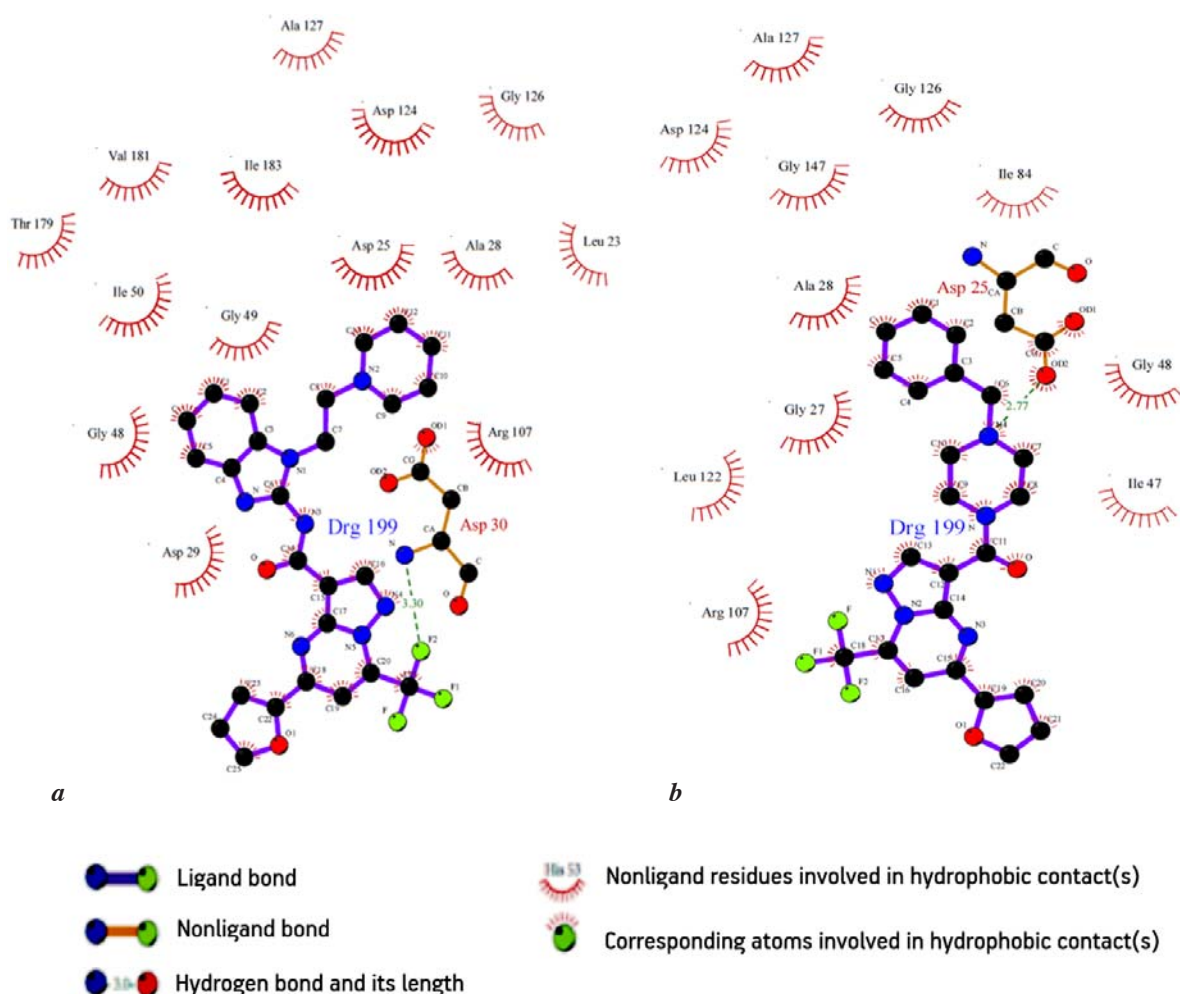


Fig. 4. Ligplot analysis: (a) Interactions of Ligand 01 with STAT3 protein in DNA binding domain (b) Interactions of Ligand 02 with STAT3 protein in DNA binding domain

References

1. Atreya R., Mudter J., Finotto S. et al. Blockade of interleukin 6 trans signaling suppresses T-cell resistance against apoptosis in chronic intestinal inflammation: evidence in crohn disease and experimental colitis in vivo // *Nature Med.* 2000. Vol. 6. № 5. P. 583–588.
2. Baxter C.A., Murray C.W., Clark D.E. et al. Flexible docking using Tabu search and an empirical estimate of binding af-

finity // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics.* 1998. Vol. 33. № 3. P. 367–382.

3. Benveniste E.N., Liu Y., McFarland B.C., Qin H. Involvement of the janus kinase/signal transducer and activator of transcription signaling pathway in multiple sclerosis and the animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis // *J. Interferon & Cytokine Res.* 2014. Vol. 34. № 8. P. 577–588.

4. Blumberg R.S., Saubermann L.J., Strober W. Animal models of mucosal inflammation and their relation to human inflam-

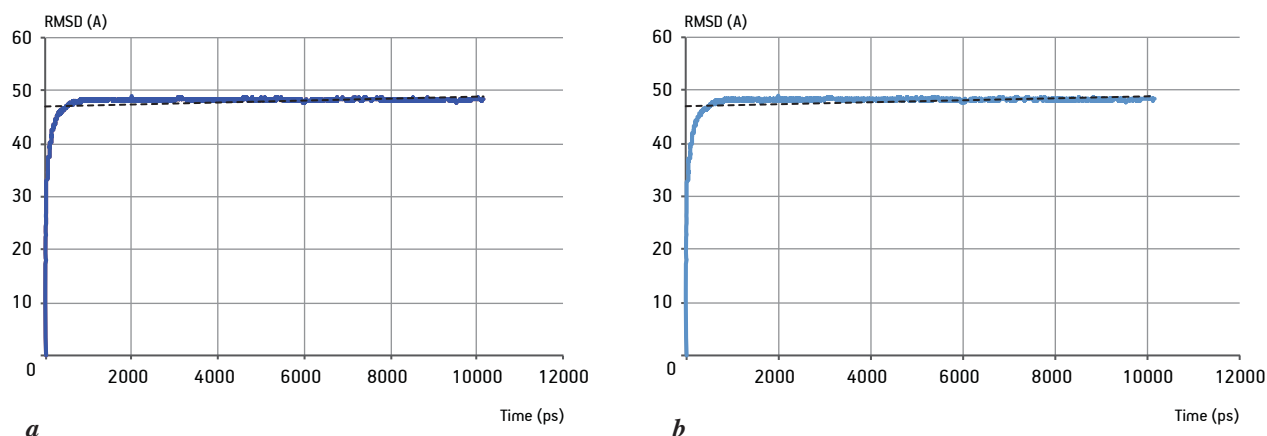


Fig. 5. RMSD vs Time plot of ligand — STAT3 complex over the 10 ns simulation run (a) Ligand 01 and STAT3 complex (b) Ligand 02 and STAT3 complex

matory bowel disease // *Curr. Opin. Immunol.* 1999. Vol. 9011. № 6. P. 648–656.

5. Bultet L.A., Aguilar-Rodriguez J., Ahrens C.H. et al. The SIB Swiss Institute of Bioinformatics» resources: focus on curated databases // *Nucleic acids res.* 2016. Vol. 44. EPFL-ARTICLE-217833. P. D27–D37.

6. Butina D., Segall M. D., Frankcombe K. Predicting ADME properties in silico: methods and models // *Drug discov. today.* 2000. Vol. 7. № 11. P. S83–S88.

7. Daina A., Zoete V. A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules // *Chem. Med. Chem.* 2016. Vol. 11. № 11. P. 1117–1121.

8. Darnell J.E. STATs and gene regulation // *Science.* 1997. Vol. 277. № 5332. P. 1630–1635.

9. Furtek S.L., Backos D.S., Matheson C.J., Reigan P. Strategies and approaches of targeting STAT3 for cancer treatment // *ACS chem. Biol.* 2014. Vol. 11. № 2. P. 308–318.

10. Gupta A., Gandhimathi A., Sharma P., Jayaram B. ParDOCK: An all atom energy based Monte Carlo docking protocol for protein-ligand complexes // *Protein and peptide lett.* 2007. Vol. 14. № 7. P. 632–646.

11. Irwin J.J., Shoichet B.K. ZINC — a free database of commercially available compounds for virtual screening // *J. chem. inf. molec.* 2005. Vol. 45. № 1. P. 177–182.

12. Jones G., Willett P., Glen R.C. et al. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking // *J. molec. Biol.* 1997. Vol. 267. № 3. P. 727–748.

13. Kitchen D.B., Decornez H., Furr J.R., Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications // *Nature rev. Drug discov.* 2009. Vol. 3. № 11. P. 935–949.

14. Lipinski C.A. Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution // *Drug discov. today: Technologies.* 2004. Vol. 1. № 4. P. 337–341.

15. Lovato P., Brender C., Agnholt J. et al. Constitutive STAT3 activation in intestinal T cells from patients with Crohn's disease // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. № 19. P. 16777–16781.

16. Mizoguchi A., Mizoguchi E., Bhan A.K. Immune networks in animal models of inflammatory bowel disease // *Inflammatory bowel dis.* 2003. Vol. 9. № 4. P. 246–259.

17. Mukherjee G., Jayaram B. A rapid identification of hit molecules for target proteins via physico-chemical descriptors // *Physical Chem. Chem. Physics.* 2003. Vol. 15. № 23. P. 9107–9116.

18. Parian A., Ha C.Y. Older age and steroid use are associated with increasing polypharmacy and potential medication

interactions among patients with inflammatory bowel disease // *Inflammatory bowel dis.* 2015. Vol. 21. № 6. P. 1392–1400.

19. Pearlman D.A., Case D.A., Caldwell J.W. et al. AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules // *Comput. Phys. Commun.* 1995. Vol. 91. № 1–3. P. 1–41.

20. Powrie F. T cells in inflammatory bowel disease: protective and pathogenic roles // *Immunity.* 1995. Vol. 3. № 2. P. 171–174.

21. Siddiquee K., Zhang S., Guida W.C. et al. Selective chemical probe inhibitor of Stat3, identified through structure-based virtual screening, induces antitumor activity // *Proc. nat. Acad. Sci.* 2007. Vol. 104. № 18. P. 7391–7396.

22. Srivastava I., Thukral N., Hasija Y. Genetics of human age related disorders // *Adv. Geront.* 2015. Vol. 28. № 2. P. 228–247.

23. Sugimoto K. Role of STAT3 in inflammatory bowel disease // *World J. Gastroenterol.* 2008. Vol. 14. № 33. P. 5110–5114.

24. Takeda K., Noguchi K., Shi W. et al. Targeted disruption of the mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality // *Proc. nat. Acad. Sci.* 1997. Vol. 94. № 8. P. 3801–3804.

25. Takeda K., Kaisho T., Yoshida N. et al. Stat3 activation is responsible for IL-6-dependent T cell proliferation through preventing apoptosis: generation and characterization of T cell-specific Stat3-deficient mice // *J. Immunol.* 1998. Vol. 161. № 9. P. 4652–4660.

26. Thomas P.C., Jones R.B. The effects of clomipramine and desmethylclomipramine on the in vitro uptake of radiolabelled 5-HT and noradrenaline into rat brain cortical slices // *J. Pharmacy and Pharmacol.* 1977. Vol. 29. № 1. P. 562–563.

27. Wallace A.C., Laskowski R.A., Thornton J.M. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions // *Protein engineering.* 1995. Vol. 8. № 2. P. 127–134.

28. Yang J., Huang T., Song W.M. et al. Discover the network mechanisms underlying the connections between aging and age-related diseases // *Sci. Reports.* 2006. № 6. P. 32566.

29. Yu H., Jove R. The STATs of cancer—new molecular targets come of age // *Nature Rev. Cancer.* 2004. Vol. 4. № 2. P. 97–105.

30. Yue P., Turkson J. Targeting STAT3 in cancer: how successful are we? // *Expert Opin. Investing.* 2009. Vol. 18. № 1. P. 45–56.

31. Zhang M.Q., Wilkinson B. Drug discovery beyond the «rule-of-five» // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007. Vol. 18. № 6. P. 478–488.

I. Srivastava, Y. Hasija

**ПРЕОБРАЗОВАТЕЛЬ СИГНАЛА И АКТИВАТОР ТРАНСКРИПЦИИ 3 (STAT3)
КАК НОВЫЙ ТАРГЕТНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ: СТЫКОВОЧНЫЙ И МОДЕЛИРУЮЩИЙ АНАЛИЗ**

Факультет биотехнологии, Технологический университет Дели, Shahbad Daultapur, Main Bawana Road, Delhi, 110042, India; e-mail: yashahasija@gmail.com

Преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3 (STAT3) вносит значительный вклад в различные возраст-ассоциированные расстройства, например рак, аутоиммунные заболевания, заболевания кишечника, ассоциированные расстройства, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и возрастную макулярную дегенерацию. Предыдущие исследования обосновали, что, сдерживая активность STAT3, можно лечить различные возраст-ассоциированные расстройства. Исследования по STAT3 подтвердили, что его можно использовать как новое и перспективное таргетное лекарство. В этой работе на основе стыковочного виртуального скрининга в сочетании с молекулярно-динамическим моделированием было выполнено исследование для выяснения ингибиторов димеризации STAT3. Отмечено, что лиганд 01 (ZINC20601870) и лиганд 02 (ZINC01216760) проявляют значительно большее сродство (общность связывания с лигандом 01 = $-8,01$ ккал/моль, общность связывания с лигандом 02 = $-6,91$ ккал/моль) по сравнению с другими лигандами. Эти два лиганда достигли равновесия со STAT3 в молекулярно-динамическом моделировании. Таким образом, в данной работе мы рассматривали лиганды 01 и 02 как перспективный путь для дальнейшей оптимизации, они могут служить молекулами препарата в терапии множественных возраст-ассоциированных расстройств.

Ключевые слова: *возраст-ассоциированные расстройства, стыковочный виртуальный скрининг, свойства ADME, таргетный препарат, молекулярно-динамическое моделирование*

*У.Ф. Гашимова¹, Н.М. Камилова², Х.Ф. Бабаев¹, П.А. Шукюрова¹, С.И. Гасанова¹,
Р.Ю. Аббасов¹*

ВЛИЯНИЕ ШАФРАНА (*CROCUS SATIVUS L. IRIDACEAE*) НА УРОВЕНЬ Фолликулостимулирующего Гормона В КРОВИ У САМОК КРЫС, КОЛИЧЕСТВО ПОТОМСТВА И ДИНАМИКУ МАССЫ ТЕЛА У КРЫСЯТ

¹ Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана, Азербайджанская Республика, AZ1100, Баку, ул. Шарифзаде, 78; e-mail: ulduz.hashimova@science.az; ² Азербайджанский медицинский университет, Азербайджанская Республика, AZ1022, Баку, ул. А. Гасымзаде, 12

Изучено влияние экстракта из рылец шафрана, произрастающего в Азербайджане, на уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в крови у крыс-самок, а также на количество и динамику массы тела у их потомства. В ходе экспериментов установлено, что под влиянием экстракта шафрана у 12-месячных животных уровень ФСГ в крови уменьшается по сравнению с аналогичным показателем у животных того же возраста, не получавших экстракт, и приближается к уровню, который отмечается у 6-месячных животных. Отмечено также достоверное увеличение количества потомства от самок, получавших экстракт шафрана в период до спаривания с интактными самцами, и весового показателя развития их крысят.

Ключевые слова: экстракт шафрана, крысы-самки, крысята 1–2-месячного возраста, фолликулостимулирующий гормон, количество потомства, весовой прирост крысят, фитогеропротектор

В настоящее время в экономически развитых странах наблюдают глобальное старение населения [2, 21, 27]. В этой связи важной задачей современной физиологии, геронтологии и медицины является продление активного периода жизни и сохранение репродуктивного здоровья. Репродуктивная функция организма является одной из основных биологически высоко значимых, а её снижение — одним из проявлений естественного старения человека и животных [3, 10, 25, 28]. Деятельность половой системы прямо связана с возрастом, а интенсивность продукции половых гормонов в значительной мере определяет биологический возраст человека. По мере старения функция половых желез постепенно снижается вплоть до угасания. Особенно это выражено у женщин в виде сложного симптомокомплекса — климакса. При этом следует обратить внимание на тот факт, что на протяжении последних 150 лет

продолжительность жизни женщины после наступления менопаузы существенно удлинилась, и сейчас женщины проводят в состоянии эстрогенного дефицита около $\frac{1}{3}$ своей жизни, что обуславливает возрастание значимости медицинских и социальных проблем у пожилых и старых женщин [22].

Вопрос профилактики и коррекции процессов преждевременного старения является одним из ключевых в антивозрастной медицине и превентивной гериатрии. Это определяет актуальность изучения свойств лекарственных средств растительного происхождения, рынок которых, согласно данным ВОЗ, неуклонно расширяется, особенно в странах Европы и Центральной Азии [11].

С этой точки зрения особый интерес представляет шафран, о целебных свойствах которого известно еще с глубокой древности. Современный уровень фармакологических исследований позволяет исследовать механизмы действия шафрана. К настоящему времени накоплено достаточно данных, которые свидетельствуют о стимулирующем влиянии экстракта шафрана и его составляющих компонентов на половое поведение у экспериментальных животных [14, 19, 20, 24]. В частности, Н. Hosseinzadeh и соавт. исследовали влияние водного экстракта шафрана и его составляющих компонентов — сафронала и кроцина — на сексуальное поведение самцов крыс. Было показано, что сафронал не оказывает возбуждающего действия на половое поведение самцов крыс, в то время как водный экстракт шафрана и другой его составляющий компонент — кроцин обладают возбуждающей активностью [20]. М. Modaresi и соавт. показали эффективность экстракта шафрана в дозе 100 мг/кг на систему гипофиз—семенники у мышей [23].

В литературе встречаются единичные работы, посвященные экспериментальному исследованию влияния шафрана на функционирование репродуктивной системы у самок млекопитающих. Так, J. Ai и соавт. в исследовании эффектов водной вытяжки из рылец шафрана на уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона, прогестерона и эстрогена, а также на фолликулогенез в сыворотке крови у 45 взрослых крыс показали, что ее введение в дозе 80 мг/кг способствует повышению уровня всех исследуемых гормонов и увеличению числа основных, вторичных и третичных фолликул [17]. Имеются также данные клинических исследований, показавшие эффективность шафрана в лечении предменструального синдрома [15]. В частности, исследование на женщинах 20–45 лет с регулярным менструальным циклом и с симптомами предменструального синдрома показало, что пероральное применение капсул шафрана в дозе 30 мг/сут (по 15 мг 2 раза в день — утром и вечером) в течение двух менструальных циклов способствовало облегчению симптомов предменструального синдрома [15].

Приведенные выше данные свидетельствуют о перспективности исследований по изучению влияния шафрана на функционирование репродуктивной системы у обоих полов, особенно в эксперименте, что необходимо для понимания механизмов фармакологического действия шафрана и разработки научно обоснованных рекомендаций по его использованию в антивозрастной медицине и превентивной гериатрии.

Цель работы — изучение влияния экстракта из рылец шафрана посевного (*Crocus sativus* L. *Iridaceae*) на уровень ФСГ в крови у крыс-самок, количество потомства и динамику их массы тела.

Материалы и методы

В экспериментах было использовано 45 крыс 6 и 12 мес линии *Wistar* (40 самок, 5 самцов), которых содержали в стандартных клетках по 10–12 особей в каждой в помещении при температуре 22 ± 2 °C. Все животные получали лабораторный корм и имели свободный доступ к отстоянной водопроводной воде. Работа выполнена с соблюдением правил гуманного отношения к животным, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕС) и Хельсинкской декларации [6]. До начала экспериментов во избежание случайной беременности в течение 21 дня животных со-

держали отдельно. Для экспериментов отбирали животных с регулярным эстральным циклом (4–5 дней) и ежедневно в течение 2 нед по общепринятым методикам брали у них влагалищные мазки для цитологической оценки эстрального цикла [7]. Животные с нарушенным эстральным циклом были исключены из исследования. Испытуемые животные на момент начала эксперимента находились на стадии цикла диэструс.

Самки крыс были разделены на четыре группы — две контрольные и две экспериментальные группы, по 10 самок в каждой. Экспериментальные группы составили 12-месячные животные, которые ежедневно в утренние часы получали экстракт шафрана из расчета 120 мг/кг в течение 14 дней — 1-я экспериментальная группа и 21 дня — 2-я экспериментальная группа. Контрольные группы включали 6-месячных (1-я контрольная) и 12-месячных (2-я контрольная) животных, которые ежедневно в утренние часы получали физиологический раствор. Экстракт шафрана и физиологический раствор вводили животным *per os* с помощью тонкого металлического зонда.

В работе был использован шафран, выращенный в поселке Бильгя Апшеронского полуострова. Экстракт из рылец шафрана получали методом перколяции. Полученный спиртовой раствор фильтровали, остаток промывали 75% спиртом и снова фильтровали, затем перегонкой отгоняли спирт. Полученное жидкое извлечение под вакуумом сгущали до сухого остатка. Выход активного густого экстракта по отношению к исходному сырью — около 56% вязкого смолообразного вещества.

Уровень ФСГ в крови изучали после окончания введения экстракта шафрана. По истечении срока введения экстракта шафрана и физиологического раствора у животных контрольных групп и 2-й экспериментальной производили забор крови. Исследования проводили утром (9–10 ч), кровь получали из хвоста, обрезая 3–4 мм от его кончика, под легким (1 мин) эфирным наркозом.

Уровень ФСГ определяли в сыворотке крови животных с помощью гормональных тест-наборов для иммуноферментного анализа *in vitro* у человека («Pishtaz», Иран) с предварительной раститровкой набора для ФСГ и подбором оптимального разведения сывороток крови крыс.

В проводимых опытах была введена группа интактных самцов (5 животных 6 мес) для изучения влияния экстракта шафрана на количество и весо-

вой показатель развития потомства у самок крыс 12 мес на фоне 14- и 21-дневного применения экстракта шафрана.

Статистическую обработку результатов проводили с применением программы Microsoft Excel, о достоверности судили по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты экспериментов показали, что имеются достоверные различия в содержании ФСГ в крови между контрольными группами, включающими животных разного возраста. Так, уровень ФСГ составил $0,7 \pm 0,04$ в 1-й контрольной группе и $1,13 \pm 0,05$ IU/L в 2-й контрольной. Согласно литературным данным, снижение полового мотивационного поведения у крыс линии *Wistar* наблюдается в 18 мес [4]. Так, в естественных условиях к 15–18-му месяцу у крыс-самок появляются признаки старения репродуктивной системы: короткие эстральные циклы исчезают, преобладают длинные овуляторные циклы (более 7 дней), снижается число регулярных циклов, появляются иррегулярные циклы и развивается синдром персистирующего эструса, переходящий в последующем в анэструс [1]. Пременопауза и менопауза характеризуются значительным и стабильным повышением уровня ФСГ в крови [12]. Повышение содержания ФСГ у крыс 2-й контрольной группы

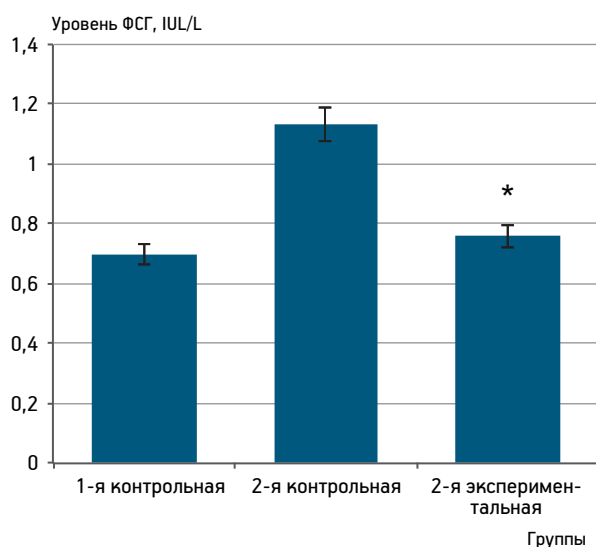


Рис. 1. Уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в сыворотке крови у крыс-самок обеих контрольных групп и 2-й экспериментальной группы;

* $p < 0,01$ — различия в группе с показателем у крыс 2-й контрольной группы

возможно связано с появлением первых признаков старения репродуктивной системы.

Анализ полученных данных показал (рис. 1), что введение шафрана в течение 21 дня животным 2-й экспериментальной группы привело к достоверному снижению содержания ФСГ в крови на 33% по сравнению с показателями у крыс 2-й контрольной группы, включающей животных того же возраста ($p < 0,01$), и приблизило его к уровню, который отмечали в 1-й контрольной группе, включающей 6-месячных животных.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о том, что экстракт шафрана при 21-дневном введении снижает уровень ФСГ в крови у 12-месячных крыс-самок, приближая его к показателю, характерному для более молодого возраста. Если принять во внимание, что ФСГ регулирует развитие, рост, половое созревание и репродуктивные процессы организма [12], то полученные данные позволяют предположить, что введение шафрана способствует замедлению возраст-ассоциированных изменений со стороны репродуктивной системы женского организма.

В этой связи было целесообразно исследовать вопрос о том, как вышеуказанные изменения под влиянием шафрана у 12-месячных самок крыс отразятся на показателях их фертильности. Поэтому на следующем этапе экспериментов мы определяли количество и весовой показатель развития потомства от самок, получавших экстракт шафрана в течение 14 и 21 дня до спаривания с интактными самцами. Эту серию экспериментов проводили с использованием группы интактных самцов (5 животных 6 мес), которые спаривались с животными обеих экспериментальных групп и 2-й контрольной группы. Такая схема опытов позволяла также исследовать влияние длительности приема экстракта шафрана на количество и весовой показатель развития потомства у 12-месячных самок.

Полученные данные указывают на достоверное увеличение количества потомства от крыс-самок обеих экспериментальных групп при сравнении их с животными 2-й контрольной группы ($p < 0,001$, $p < 0,05$, соответственно). При этом семидневная разница в приеме шафрана не влияла на количество потомства от крыс-самок, поскольку, как видно из данных рис. 2, выявляемые различия между экспериментальными группами по этому показателю статистически недостоверны.

Данные по динамике массы тела потомства от самок, получавших экстракт шафрана в период до спаривания с интактными самцами, были не-

однозначными. Так, если в период 1–30 сут жизни показатели весового прироста потомства от самок, получавших экстракт шафрана в период до спаривания с интактными самцами, были не существенными и межгрупповые различия контрольных и экспериментальных групп были статистически недостоверными ($p > 0,05$), то во второй месяц жизни весовой прирост потомства от самок, получавших экстракт шафрана в течение 21-дневного курса введения, превосходил аналогичный показатель во 2-й контрольной группе и в группе потомства самок 1-й экспериментальной группы, получавших экстракт шафрана в течение 14-дневного курса введения (рис. 3).

На фоне 14-дневного введения экстракта шафрана самкам в период до спаривания с интактными самцами, весовой прирост потомства на втором месяце жизни (40–60 сут) составил в среднем $77,2 \pm 1,6$ г. Более продолжительное введение экстракта шафрана в течение 21 дня привело к увеличению массы тела у потомства по сравнению с соответствующими показателями у потомства самок группы, получавшей экстракт шафрана 14 дней. Весовой прирост потомства в вышеуказанные сроки жизни в этой группе составил $121,8 \pm 3,6$ г ($p < 0,05$).

Обобщая полученные данные, можно заключить, что эффекты от введения шафрана отразились на уровне ФСГ в сыворотке крови животных, а также на таких показателях, как количество и динамика массы тела их потомства. При этом шафран достоверно снижал уровень ФСГ в крови у 12-месячных самок крыс и способствовал увели-

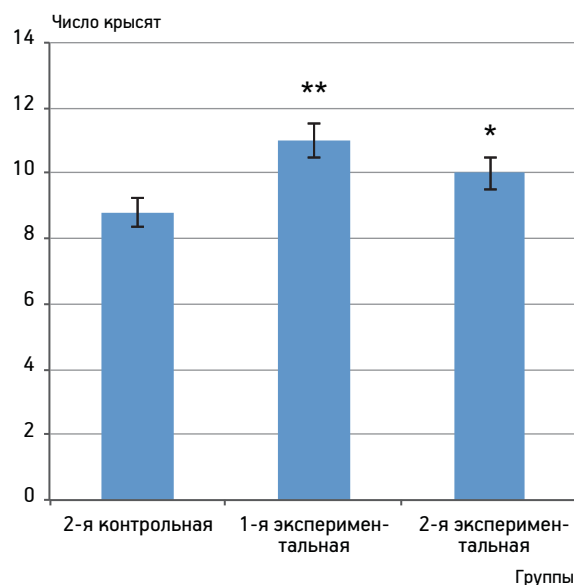


Рис. 2. Число крысят от крыс-самок 2-й контрольной группы и обеих экспериментальных групп (до спаривания с интактными самцами);

* $p < 0,05$ — различия в группе относительно 2-й контрольной группы; ** $p < 0,01$ — различия в группе относительно 2-й контрольной группы

чению количества потомства от них, а также приросту массы тела родившихся крысят.

Заключение

Лечебные свойства шафрана обусловлены уникальностью и многообразием биологически активных веществ, содержащихся в шафране [8, 13]. Представляется, что выявленные в настоящем

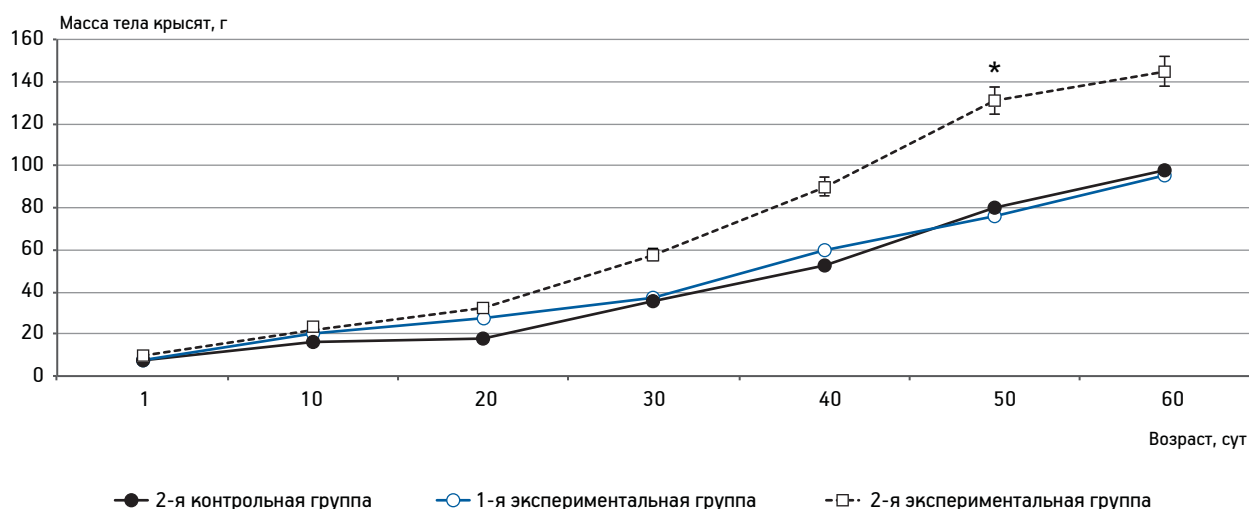


Рис. 3. Динамика массы тела у потомства от самок 2-й контрольной группы и обеих экспериментальных групп (до спаривания с интактными самцами);

* $p < 0,05$ — статистически значимые различия относительно 1-й экспериментальной группы

исследовании эффекты объясняются прямым действием шафрана и его компонентов на половые железы и ЦНС. В литературе имеются данные о том, что экстракт шафрана применяется при лечении умеренной депрессии [16]. Подобно антидепрессантам, шафранал, который является одним из основных компонентов шафрана, предотвращает обратный захват серотонина и действует как легкое психотропное средство [18], способствуя нормализации работы в системе гипоталамус—гипофиз—яичник.

Наше более раннее исследование показало, что пероральное введение экстракта шафрана в дозе 50 мг/кг способствует стабилизации показателей липидного обмена, в частности общих липидов, триглицеридов и общего холестерина. Так, у животных, получающих высококалорийную пищу, на фоне введения экстракта шафрана прослеживалось уменьшение как показателей массы тела, так и уровня общих липидов, триглицеридов и общего холестерина в крови по сравнению с аналогичными показателями у животных контрольной группы, получающих высококалорийную пищу [5].

В ходе одного из исследований [26] было отмечено, что прием 50 мг рылец шафрана, растворенного в молоке, 2 раза в день способствовал снижению восприимчивости липопротеидов к окислению как у здоровых людей контрольной группы, так и у пациентов с ИБС. Общеизвестно, что липопротеиды — транспортные формы холестерина. Поскольку холестерин участвует в синтезе жизненно важных гормонов и всех стероидов, включая тестостерон и эстрадиол, а также в построении клеточных мембран, его доставка периферическим тканям в организме играет существенную роль [9]. Способность шафрана влиять на липидный обмен и снижать окисляемость липопротеидов может быть одним из слагаемых механизма действия шафрана.

Ввиду того, что дисбаланс нейроиммуноэндокринной системы лежит в основе преждевременного старения, влияние шафрана на нейроэндокринные взаимоотношения представляется исключительно важным с точки зрения теории и практики антивозрастной медицины. В целом выявление подобного фармакологического действия экстракта шафрана открывает новые перспективы для разработки научно обоснованных рекомендаций по его дальнейшему использованию в практической медицине в качестве потенциального фитогеропротектора.

Литература

1. Анисимов В.Н., Батулин Д.А., Айламазян Э.К. Эпифиз, свет и рак молочной железы // *Вопр. онкол.* 2002. Т. 48. С. 524–535.
2. Анисимов В.Н. Приоритетные направления фундаментальных исследований в геронтологии: вклад России // *Успехи геронтол.* 2003. Т. 12. С. 9–27.
3. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения (в 2-х т.). Т. 1. СПб.: Наука, 2008.
4. Белоусова И.И. Возрастные особенности гормональной и нейрохимической регуляции репродуктивной функции самок с различным темпом старения: Автореф. дис. канд. биол. наук. Новосибирск, 2012.
5. Гашимова У.Ф., Бабаев Х.Ф., Садык-заде Р.А. и др. Потенциальные геропротективные свойства шафрана (*Crocus sativus* L.) // *Врач.* 2016. № 6. С. 35–38.
6. Директива 2010/63/ EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. СПб., 2012.
7. Кабак Я.М. Практикум по эндокринологии: основные методики экспериментально-эндокринологических исследований. М.: Изд. МГУ, 1968.
8. Касумов Ф.Ю., Несруллаева Г.М., Абдуллаева И.М. Биологическая характеристика и химический состав шафрана посевного // *Актуальные пробл. офтальмол.* 2002. С. 95–97.
9. Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия (пер. с нем.). М.: Мир, 2009.
10. Лопатина О.В., Балан В.Е., Ткачева О.Н. и др. Факторы женского здоровья с точки зрения старения репродуктивной системы и риска развития сердечно-сосудистых заболеваний // *Альманах клин. мед.* 2015. № 37. С. 111–117.
11. Монографии ВОЗ о лекарственных растениях, широко используемых в Новых Независимых Государствах (ННГ). ВОЗ, 2010.
12. Руководство по эндокринной гинекологии / Под ред. Е. М. Вихляевой. М.: Мед. информ. агентство, 2006.
13. Abdullayev F. I. Biological effects of saffron // *J. BioFactors.* 1993. Vol. 4. P. 83–86.
14. Agmo A. Male rat sexual behavior // *Brain Res. Brain Res. Protoc.* 1997. Vol. 1. № 2. P. 203–209.
15. Agha-Hosseini M., Kashani L., Aleyaseen A. et al. Crocus sativus L. (saffron) in the treatment of premenstrual syndrome: a double-blind, randomized and placebo-controlled trial // *VJOG.* 2008. № 115. Vol. 4. P. 515–519.
16. Akhondzadeh S., Fallah-Pour H., Afkham K. et al. Comparison of Crocus sativus L. and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a pilot double-blind randomized trial [ISRCT N 45683816] // *BMC Complement Altern. Med.* 2004. № 2. P. 6771.
17. Ai J., Nekooeian A.A., Takhshid M.A. et al. Effect of aqueous extract of *Crocus sativus* L. (saffron) stigma on serum levels of gonadotropins and folliculogenesis in adult rats // *J. Appl. Animal Res.* 2009. № 35. P. 49–52.
18. Georgiadou G., Tarantilis PA, Pitsikas N. Effects of the active constituents of Crocus Sativus L., crocins, in an animal model of obsessive-compulsive disorder // *Neurosci Lett.* 2012. Vol. 528 № 1. P. 27–30.
19. Heidary M., Vahhabi S., Reza Nejadi J. et al. Effect of saffron on semen parameters of infertile men // *Urol. J.* 2008. Vol. 4. № 5. P. 255–259.
20. Hosseinzadeh H., Zeall T., Sadeghi A. The effect of saffron, Crocus sativus stigma, extract and its constituents safranal and crocin on sexual behaviors in normal male rats // *Phytomedicine.* 2008. Vol. 15. № 6–7. P. 491–495.
21. Lutz W., Sanderson W., Scherbov S. The end of world population growth // *Nature.* 2001. Vol. 412. P. 543–545.
22. Minici F., Tiberi F., Tropea A. et al. Paracrine regulation of endometrial tissue // *Gynec. Endocr.* 2007. Vol. 23. № 10. P. 574–580.

23. Modaresi M., Messripour M., Marghmaleki M.A. et al. Effect of saffron (*Crocus sativus*) extract on level of FSH, LH and testosterone in mice // ZUMS J. 2008. Vol. 16. № 63. P. 11–18.

24. Shamsa A., Hosseinzadeh H., Molaie M. et al. Evaluation of *Crocus sativus* L. (saffron) on male erectile dysfunction: a pilot study // Phytomedicine. 2009. Vol. 8. № 16. P. 690–693.

25. Svendsen K., Schultz A. Seksuell dysfunksjon hos menn // Tidsskrift Norsk Legeforening. 2008. Vol. 128. P. 448–452.

26. Verma S.K., Bordia A. Antioxidant property of Saffron in man // Indian J. Med. Sci. 1998. Vol. 52. № 5. P. 205–207.

27. *World Population Prospects: The 2008 Revision* population division of the Department of Economic and Social Affairs of the United Nations Secretariat. June, 2009.

28. Wu D., Gore A.C. Changes in androgen receptor, estrogen receptor alpha, and sexual behavior with aging and testosterone in male rats // Norm. Behav. 2010. Vol. 58. № 2. P. 306–316.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 436–441

U.F.Hashimova¹, N.K.Kamilova², Kh.F.Babaev¹, P.A.Shukurova¹, S.I.Hasanova¹,
R.Y.Abbasov¹

EFFECTS OF SAFFRON (*CROCUS SATIVUS* L. *IRIDACEAE*) ON BLOOD LEVEL OF FOLLICLE-STIMULATING HORMONE, AND NUMBER AND DYNAMICS OF BODY WEIGHT OF OFFSPRING IN FEMALE RATS

¹ A. I. Garayev Institute of Physiology, Azerbaijan National Academy of Sciences, 78, Sharifzadeh Str., Baku, AZ1100, Republic of Azerbaijan; e-mail: ulduz.hashimova@science.az; ² Azerbaijan Medical University, 12, A. Gasimzadeh Str., Baku, AZ1022, Republic of Azerbaijan

This paper reviews the effects of saffron *Crocus sativus* L. *Iridaceae* which grow in Azerbaijan on blood level of follicle-stimulating hormone (FSH), and number and dynamics of body weight of offspring in female rats. The findings indicated that the *per os* administration of alcoholic extract of saffron was able to decrease the FSH levels in blood of the 12-month-old rats as compared to that in the control group, involving the animals of the same age which have not received the saffron extract, and was close to the FSH levels reported for the 6-month rats. There was also an increase in number and body weight of pups from rats receiving the saffron extract prior to pairing with the intact males.

Key words: saffron extract, female-rats, pups of 1–2 month age, follicle-stimulating hormone, number of offspring, dynamics of pups body weight, phytotheroprotector

И. А. Новикова¹, А. Г. Соловьев², В. В. Попов²

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ КОГНИТИВНЫХ И ЭМОЦИОНАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

¹ Северный (Арктический) федеральный университет им. М. В. Ломоносова, 163002 Архангельск, наб. Северной Двины, 17;

² Северный государственный медицинский университет, 163000, Архангельск, пр. Троицкий, 51, e-mail: ASoloviev1@yandex.ru

Для разработки алгоритма диагностики когнитивных и аффективных расстройств у лиц пожилого и старческого возраста были обследованы 98 человек (1-я группа — 68 человек 60–74 лет, 2-я группа — 30 человек старше 75 лет). Использовали методику «Краткая шкала оценки когнитивных функций» для диагностики когнитивных расстройств, «Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS)» — для диагностики эмоциональных расстройств. Когнитивные расстройства выявлены у 39,8% лиц пожилого и старческого возраста (в 1-й группе — у 28,7%, во 2-й — у 61,6%). Аффективные расстройства имели 51,9% лиц старшего возраста, в том числе признаки тревоги — 40,9% и депрессии — 27,7%. Алгоритм диагностики когнитивных и эмоциональных расстройств в пожилом и старческом возрасте, включающий четыре этапа (скрининг-диагностический, клинично-патопсихологический, лабораторно-инструментально-диагностический, психодиагностический), может быть рекомендован для использования в общей медицинской практике (терапевтами, врачами общей практики, гериатрами) для ранней вторичной профилактики расстройств и, при необходимости, ранней коррекции нарушений психического здоровья.

Ключевые слова: когнитивные расстройства, аффективные расстройства, лица пожилого возраста

В последнее десятилетие увеличивается доля населения 60 лет и старше. Ожидается, что к 2030 г. эта возрастная группа в мире будет составлять 800 млн [4] и, соответственно, предполагается рост медицинских и социальных проблем [7]. Отмечена высокая частота распространенности психических расстройств в пожилом возрасте, составляющая 40–74% [1, 11]. Так, симптомы тревоги и депрессии наблюдают у 25–30% лиц старше 65 лет [5]. Чаще всего расстройства эмоциональной сферы у лиц пожилого возраста — депрессивный, тревожный и астенический синдро-

мы, которые нередко сочетаются с коморбидной кардио- и цереброваскулярной патологией [14]. Пожилой возраст рассматривают как второй возрастной пик депрессивных расстройств у пациентов общей медицинской практики, причем депрессии имеют тенденции к затяжному течению и обычно хуже поддаются терапии, а сами депрессивные расстройства приобретают характерные черты за счет действия ряда внешних и внутренних факторов риска (преморбидные особенности личности, большее влияние факторов внешней среды, сосудистая патология и др.) [2].

В процессе старения инволюционные изменения головного мозга сопровождаются уменьшением объема мозга, его отдельных частей, содержания нейромедиаторов, снижением численности нейронов, дендритов, синапсов и рецепторов, а также уровня метаболизма и перфузии мозга. Появлению когнитивного дефицита способствуют курение, низкая интеллектуальная и двигательная активность, наследственная предрасположенность. Ряд заболеваний, в первую очередь артериальная гипертензия, атеросклероз, сахарный диабет, ожирение, также отрицательно влияют на возможность сохранения высших функций головного мозга [3, 6, 12].

Распространенность деменции прогрессирующе увеличивается в старших возрастных группах. Так, если в популяции до 65 лет деменцией страдают до 2% населения, в 65–70 лет — до 5%, то у лиц 80 лет и старше ее выявляют в 20% случаев. Установлено, что наличие деменции увеличивает смертность пожилых больных почти в 3 раза [2].

В последние годы первостепенное значение приобретают ранняя диагностика и профилактика нарушений психического здоровья у лиц пожилого возраста [13]. Это имеет не только большое медицинско-социальное, но и экономическое значение,

особенно в рамках утвержденной Правительством РФ Стратегии в отношении граждан пожилого возраста до 2025 г. [10]. В связи с этим необходим поиск наиболее оптимальных решений ранней диагностики и профилактики когнитивных и аффективных расстройств в пожилом возрасте.

Цель исследования — разработка алгоритма диагностики когнитивных и аффективных расстройств у лиц пожилого и старческого возраста.

Материалы и методы

Были обследованы 98 лиц старшей возрастной группы, из них 88 — женского и 10 — мужского пола, — слушателей «Университета здоровья» Северного ГМУ. Анализировали результаты в двух возрастных группах: 1-я ($n=68$) — лица 60–74 лет (средний возраст $63,77 \pm 0,49$ года), 2-я ($n=30$) — 75 лет и старше (средний возраст $76,11 \pm 0,63$ года). Критерии включения: отсутствие тяжелых когнитивных нарушений и соматической патологии в стадии декомпенсации, хорошая социальная активность.

Согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ от 29.01.2016 № 38н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю „Гериатрия”» [9] проводится первичная комплексная гериатрическая оценка пациента, а именно оценка физического состояния, функционального статуса, психического здоровья и социально-экономических условий жизни. Оценка психического статуса включает *Краткую шкалу оценки психического статуса* (MMSE), *тест рисования часов* и *Гериатрическую шкалу депрессии*. Данный комплекс методик рекомендован к использованию врачом-гериатром, однако имеются сложности при использовании их врачом-терапевтом или врачом общей практики — в связи с ограниченным временем приема пациента, также он не может быть использован самостоятельно больным. В связи с этим для исследования когнитивных расстройств у лиц пожилого и старческого возраста нами разработана и адаптирована для скрининговых исследований методика *Краткая шкала оценки когнитивных функций* [15] (рис. 1). Из *Монреальской шкалы оценки когнитивных функций* (MoCA) [17] и *Краткой шкалы оценки психического статуса* (MMSE) [16] были взяты только те субтесты, которые могут быть использованы при самостоятельном заполне-

нии пациентом. Критерии оценки нормы по предложенной нами методике *Краткая шкала оценки когнитивных функций* представлены в табл. 1.

Для скрининговой диагностики аффективных расстройств использовали *Госпитальную шкалу тревоги и депрессии* (HADS) [18], так как методика позволяет оценить выраженность не только депрессии, как это предлагается в комплексной гериатрической оценке (*Гериатрическая шкала депрессии*), но и тревоги.

Для обработки результатов исследования применяли пакет прикладных статистических программ SPSS (версия 17.0) и стандартные расчетные методы [8]. Для оценки достоверности разницы средних значений использовали *t*-критерий Стьюдента и *U*-критерий Манна–Уитни, для анализа различий по частоте встречаемости — ϕ -критерий Фишера, применяли корреляционный анализ.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов по методике *Краткая шкала оценки когнитивных функций* (табл. 2) показал, что ориентировка во времени была нарушена у каждого шестого пожилого пациента (больше всего они путались в месяце и дате); при этом данное нарушение чаще более чем в 2 раза встречалось во 2-й группе ($p < 0,05$). У $1/3$ всех обследованных наблюдали нарушения ориентировки в месте (путали этаж, не могли назвать полный адрес своего местонахождения), чаще всего — почти в $1/2$ случаев — это отмечали во 2-й группе ($p < 0,001$).

Кратковременная память была нарушена у 60 % респондентов. Представители 2-й группы чаще имели эти нарушения ($p < 0,001$), возможной причиной чего являются более выраженные атеросклеротические изменения сосудов головного мозга и дегенеративные процессы в старшем возрасте периоде. У каждого четвертого обследованного отмечали расстройства внимания, достоверно чаще такие нарушения выявлены во 2-й группе ($p < 0,05$).

Задание на диагностику письменной речи в целом выполнили все, что говорит об отсутствии выраженных сосудистых нарушений у обследуемых (последствий нарушений мозгового кровообращения). В то же время почти у $1/2$ респондентов выявлено снижение беглости речи, что указывает на когнитивные трудности, связанные с замедле-

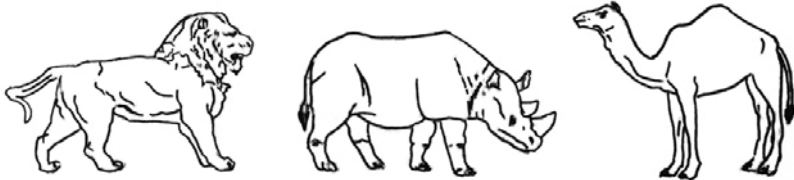
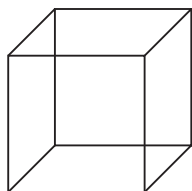
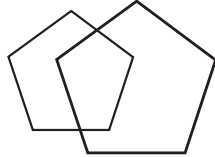
| | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ФИО: | | Образование: |
| Возраст: | | Дата обследования: |
| <p>1) Назовите и запишите: год _____, время года _____, месяц _____, число _____, день недели _____, город _____, страна _____, область _____, Запишите учреждение, в котором Вы находитесь сейчас _____ На каком вы этаже находитесь сейчас _____</p> | <p>5) Напишите название животных</p>  <p>[] [] []</p> | |
| <p>2) Срисуйте изображение</p>  | <p>6) За одну минуту запишите как можно больше слов на букву «К»</p> <p>..... </p> | <p>9) Срисуйте изображение (два пересекающихся пятиугольника)</p>  |
| <p>3) Нарисуйте, пожалуйста, круглые часы с цифрами на циферблате, и чтобы стрелки часов показывали десять минут двенадцатого</p> | <p>7) Напишите свое имя, отчество</p> <p>..... </p> | <p>10) Придумайте и запишите какое-нибудь законченное предложение</p> <p>..... </p> |
| <p>4) Сейчас Вам будут прочитаны 10 простых слов. Ваша задача — запомнить и записать их в течение 1 минуты в любом порядке. Во время прочтения слов не записываются.</p> <p>..... </p> | <p>8) Вам необходимо вычесть из 100 число 7, затем из остатка вычесть 7, и так 5 раз. Каждый раз запишите полученный результат.</p> <p>..... </p> | <p>11) Ответьте на вопрос: «Что общего между яблоком и грушей?»</p> <p>..... </p> |

Рис. 1. Методика «Краткая шкала оценки когнитивных функций»

нием подбора слов, это может быть связано с замедлением процессов в нервной системе в пожилом возрасте, при этом беглость речи достоверно ниже была во 2-й группе ($p < 0,001$). Нарушения предметного узнавания имелись у каждого десятого пожилого человека, возможной причиной чего является сосудистая патология затылочных отделов коры головного мозга при участии височно-теменных отделов.

Расстройства конструктивного праксиса отмечены у 43,8% всех обследованных лиц, при этом у представителей 1-й группы — в $1/3$ случаев,

во 2-й — в 2 раза чаще ($p < 0,001$). По субтесту «часы» нарушения выявлены в общей выборке в $1/3$ случаев. При конструктивной апраксии страдает, прежде всего, правильное направление действий; пациентам трудно конструировать целое из частей; для апраксических расстройств большое значение имеет нарушение связей между корковыми отделами анализаторов (особенно кинестетического) и исполнительными двигательными системами. При конструктивной апраксии очаги поражения чаще находят в угловой извили-

не теменной доли доминантного полушария головного мозга.

Абстракция была нарушена у каждого десятого обследованного, при этом чаще во 2-й группе ($p < 0,05$). Общий показатель когнитивных функций был снижен у 39,6 %, в том числе в 1-й группе более чем в $1/4$ случаев, во 2-й — у 60 % ($p < 0,001$).

Средние показатели *Краткой шкалы оценки когнитивных функций* (табл. 3) показывают аналогичные результаты. Так, у лиц 2-й группы была больше нарушена ориентировка в месте и времени ($p < 0,05$), кратковременная память также страдала у них чаще ($p < 0,01$).

Таким образом, вполне закономерно у обследованных лиц старше 75 лет по сравнению с лицами 60–74 лет чаще отмечаются нарушения ориентировки в месте и времени, кратковременной памяти и внимания, речи, конструктивного праксиса, абстракции.

По *Госпитальной шкале тревоги и депрессии* (HADS) аффективные расстройства выявлены у 51,9 % всех обследованных, при этом признаки тревоги — у 40,9 %, депрессии — у 27,7 %. У лиц 1-й группы проявления тревоги на субклиническом уровне встречали чаще, чем во 2-й ($p < 0,01$), рис. 2, а.

В целом у 27,7 % обследованных выявлены признаки депрессии, при этом у 6,6 % — клинически выраженной депрессии, а каждый пятый имел субклиническую стадию (см. рис. 2, б). У лиц 2-й группы чаще присутствовали депрессивные признаки, в первую очередь за счет проявлений субклинической депрессии.

Таким образом, более $1/2$ лиц пожилого возраста имеют аффективные расстройства, при этом у 60–74-летних преобладают тревожные, а в группе старше 75 лет — депрессивные расстройства. У лиц пожилого возраста тревожные проявления чаще всего были обусловлены беспокойством за свое соматическое здоровье (сердечно-сосудистая патология), а у лиц старческого возраста причиной депрессии в большинстве своем являлся стресс в связи со смертью родных.

В ходе исследования установлено, что никто из обследуемых пожилого и старческого возраста по поводу выявленных когнитивных и эмоциональных нарушений за медицинской помощью ранее не обращался и не получал соответствующего лечения.

Таблица 1

| Критерии оценки по методике <i>Краткая шкала оценки когнитивных функций</i> | |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Когнитивная функция | Оценка, баллы |
| Ориентировка во времени | 0–5 |
| Ориентировка в месте | 0–5 |
| Кратковременная память | 0–10 (норма 7–10) |
| Внимание | 0–5 |
| Речь (напишите предложение) | 0–1 |
| Беглость речи (больше 11 слов) | 0–1 |
| Предметное узнавание | 0–3 |
| Конструктивный праксис | |
| геометрические фигуры | 0–2 |
| часы | 0–2 |
| Интеллект (абстракция) | 0–1 |
| Общий балл | 0–35 (норма 28–35) |

Таблица 2

| Частота встречаемости нарушений когнитивных функций у лиц пожилого и старческого возраста, % | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|------------|------------|
| Когнитивная функция | Все обследованные | 1-я группа | 2-я группа |
| Ориентировка во времени | 15,1 | 10,8 | 23,5* |
| Ориентировка в месте | 31,5 | 11,8 | 47,3*** |
| Кратковременная память | 61 | 53,3 | 76,8*** |
| Внимание | 25,9 | 22,7 | 32,6* |
| Письменная речь (предложение) | 0 | 0 | 0 |
| Беглость речи | 47,8 | 41,6 | 58,5** |
| Предметное узнавание | 10,9 | 10,6 | 11,3 |
| Конструктивный праксис | | | |
| геометрические фигуры | 43,8 | 36, | 58,9*** |
| часы | 35,3 | 28,2 | 46,9*** |
| Интеллект (абстракция) | 10,7 | 7,6 | 17,7* |
| Общий показатель | 39,8 | 28,7 | 61,6*** |

Примечание. Здесь и в табл. 3: различия достоверны между группами при: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

На рис. 3 представлен алгоритм диагностики когнитивных и эмоциональных расстройств в пожилом и старческом возрасте. Обследование пациентов, у которых есть подозрение на наличие когнитивных и эмоциональных расстройств, может начинаться с проведения скрининговых методик — *Краткой шкалы оценки когнитивных функций*

Результаты обследования у лиц пожилого и старческого возраста по Краткой шкале оценки когнитивных функций, $M \pm t$

| Когнитивная функция | Все обследованные | 1-я группа | 2-я группа |
|-------------------------------------------------|-------------------|------------|---------------|
| Ориентировка во времени | 4,73±0,07 | 4,84±0,07 | 4,58±0,14* |
| Ориентировка в месте | 4,57±0,08 | 4,65±0,08 | 4,36±0,13* |
| Кратковременная память | 6,13±0,17 | 6,41±0,21 | 5,52±0,26** |
| Внимание | 4,22±0,15 | 4,40±0,17 | 3,95±0,28 |
| Письменная речь (предложение) | 1 | 1 | 1 |
| Беглость речи | 0,52±0,06 | 0,60±0,07 | 0,40±0,06** |
| Предметное узнавание | 2,91±0,04 | 2,94±0,05 | 2,83±0,07 |
| Конструктивный праксис геометрические фигуры | 1,42±0,08 | 1,56±0,08 | 1,14±0,15** |
| часы | 1,47±0,09 | 1,59±0,10 | 1,22±0,15* |
| Интеллект (абстракция) | 0,88±0,04 | 0,93±0,04 | 0,82±0,08 |
| Общий показатель | 27,81±0,38 | 28,85±0,42 | 25,82±0,48*** |

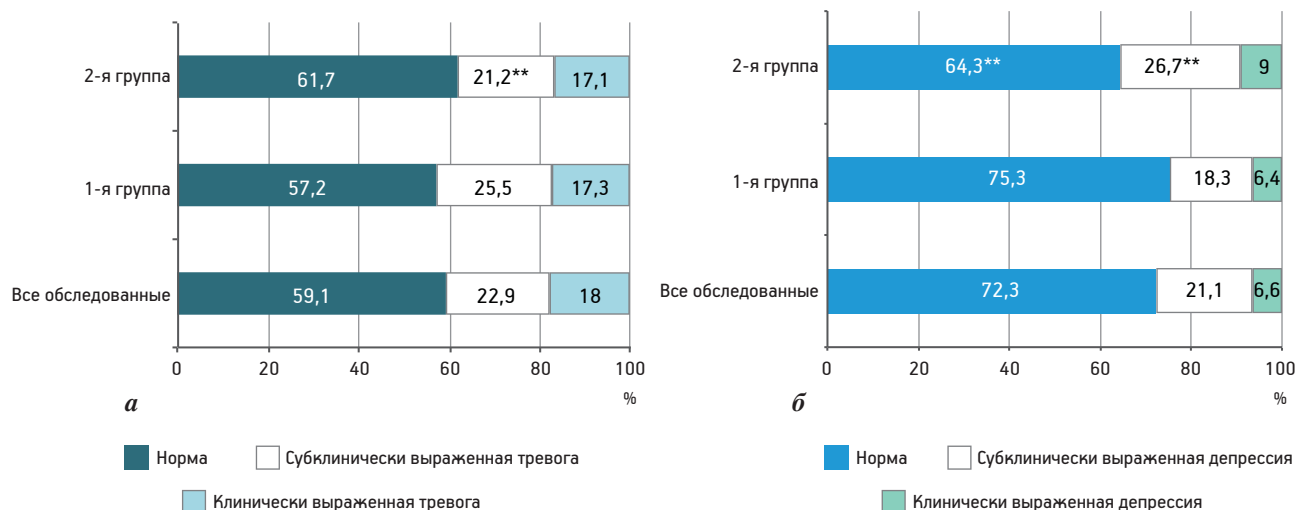


Рис. 2. Результаты обследования лиц пожилого возраста по Госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS), ** $p < 0,01$

и Госпитальной шкалы депрессии и тревоги (HADS). Данные опросники могут быть заполнены пациентом в поликлиническом учреждении на приеме у врача (терапевта, врача общей практики, гериатра) либо после первичного приема пациента или до повторного приема (во время ожидания приема врача).

На следующем этапе по результатам скрининговой диагностики врач (терапевт, врач общей практики, гериатр) оценивает наличие признаков когнитивного расстройства, депрессивного или тревожного синдрома. Лабораторно-инструментально-диагностический этап позволяет убедиться, что выявленный синдром не является

первичным проявлением соматической или неврологической патологии. По результатам обследования проводят консультацию психотерапевта или психиатра для установления диагноза когнитивного или эмоционального расстройства у пожилого человека. Далее на психодиагностическом этапе исследования для более детальной диагностики расстройства используют психодиагностические методики, позволяющие установить особенности проявлений когнитивного расстройства, депрессивного или тревожного синдрома. Данный этап позволяет подобрать более адекватные психотерапевтические подходы и фармакотерапию.

Выводы

Алгоритм диагностики когнитивных и эмоциональных расстройств в пожилом и старческом возрасте включает этапы: скрининг-диагностический, клинико-патопсихологический, лабораторно-инструментально-диагностический, психо-диагностический. Для скрининговой диагностики когнитив-

ных и аффективных расстройств у лиц пожилого и старческого возраста рекомендуется применение разработанной и адаптированной методики «Краткая шкала оценки когнитивных функций», предназначенной для самостоятельного заполнения пациентом, и Госпитальной шкалы тревоги и депрессии (HADS).

1-й этап – скрининг-диагностический

| | | |
|------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Диагностика когнитивных нарушений | Диагностика депрессии | Диагностика тревоги |
| Краткая шкала оценки когнитивных функций | Госпитальная шкала депрессии (HADS) | Госпитальная шкала тревоги (HADS) |

2-й этап – клинико-патопсихологический

| Когнитивные нарушения | Депрессивный синдром | Тревожный синдром |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> жалобы на снижение памяти или уменьшение умственной работоспособности от пациента и/или его родственников и ближайшего окружения; свидетельства снижения когнитивных способностей по сравнению с индивидуальной нормой, полученные от пациента и/или его ближайшего окружения; наличие когнитивных нарушений, которые ограничивают обычную повседневную деятельность пациента (работа, хобби, социальные связи, быт, самообслуживание) | <ul style="list-style-type: none"> снижение настроения, преобладающее ежедневно и большую часть дня и продолжающееся не менее 2 нед вне зависимости от ситуации; отчетливое снижение интересов или удовольствия от деятельности, связанной с положительными эмоциями; снижение активности; повышенная утомляемость; снижение работоспособности, концентрации внимания; чувство неуверенности в себе, снижение самооценки; ощущение вины и склонность к самоунижению; мрачное и пессимистическое видение будущего; идеи или действия, направленные на самоповреждение или самоубийство; нарушенный сон; нарушенный аппетит | <ul style="list-style-type: none"> наличие симптомов повышенной тревожности (чувство тревоги, страхи, нарушения сна и вегетативной регуляции и т. д.); длительность существования симптомов (симптомы сохраняются на протяжении нескольких недель или дольше); имеющиеся симптомы не являются нормальной реакцией на стресс; имеющиеся симптомы не связаны с заболеваниями внутренних органов и не являются вторичными по отношению к психическим расстройствам; условия, в которых появляются симптомы (постоянная тревожность при генерализованном тревожном расстройстве; приступы, не имеющие четкой зависимости от условий при паническом расстройстве; приступы, связанные с конкретным объектом при простых фобиях, или возникающие в определенных ситуациях при агорафобии и социофобии) |

3-й этап – лабораторно-инструментально-диагностический

- исследования соматического и неврологического статуса;
- ультразвуковая доплерография сосудов головы и шеи;
- проведение компьютерной или магнитно-резонансной томографии головного мозга;
- лабораторная диагностика (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови (кальций и другие электролиты, глюкоза, белок, альбумин, глобулин, креатинин, АЛТ, АСТ, щелочная фосфатаза, С-реактивный белок, ревматоидный фактор), гормоны щитовидной железы);
- консультация врача-терапевта, узкого специалиста – кардиолога, пульмонолога, эндокринолога и др., невропатолога;
- консультация психотерапевта или психиатра

4-й этап – психодиагностический

| Когнитивные расстройства | Депрессивный синдром | Тревожный синдром |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • Шкала памяти Векслера (Wechsler Memory Scale, WMS) • Таблицы Шульте; корректурная проба Бурдона • Методика «Быстрота мышления» • Детальная диагностика дисграфии, акулькулии, дислексии • Шкала общего ухудшения когнитивных функций (Global deterioration scale); шкала тяжести деменции (CDR) | <ul style="list-style-type: none"> • Шкала самооценки депрессии (В. Цунга) • Опросник депрессивных состояний (ОДС-2) • Опросник раннего выявления соматизированной депрессии | <ul style="list-style-type: none"> • Шкала тревоги Бека (Beck Anxiety Inventory) • Шкала тревожности Спилбергера—Ханина • Интегративный тест тревожности (ИТТ) • Метод цветочных выборов М. Люшера |

Рис. 3. Алгоритм диагностики когнитивных и эмоциональных расстройств в пожилом и старческом возрасте

Когнитивные расстройства выявляют у 39,8 % лиц пожилого и старческого возраста (в 60–74 года — у 28,7 %, в 75 лет и старше — у 61,6 %). Аффективные расстройства имеют 51,9 % лиц пожилого и старческого возраста, в том числе признаки тревоги — 40,9 %, депрессии — 27,7 %; у лиц 60–74 лет чаще отмечают проявления тревожных расстройств, у лиц старше 75 лет — депрессивных.

Алгоритм диагностики когнитивных и эмоциональных расстройств у лиц пожилого и старческого возраста может быть рекомендован для использования в общей медицинской практике (терапевтам, врачам общей практики, гериатрам) для более ранней вторичной профилактики расстройств и, при необходимости, ранней коррекции нарушений психического здоровья.

Литература

1. Аксёнов М.М., Стоянова И.Я., Цыбульская Е.В., Костин А.К. Психологические особенности пациентов пожилого возраста с непсихотическими психическими расстройствами // Вест. ТГПУ. 2015. Т. 3. № 156. С. 58–63.
2. Балунов О.А., Лукина Л.В., Семенова Н.В., Ситник Л.И. Дифференциальная диагностика деменций и аффективных расстройств у лиц пожилого возраста в амбулаторной практике невролога: Метод. рекомендации. СПб.: НИПНИ им. В.М. Бехтерева, 2012.
3. Захаров В.В. Распространенность и лечение когнитивных нарушений в неврологической клинике (результаты все-российского исследования «Прометей») // Consilium medicum. 2008. № 2. С. 114–117.

4. Захаров В.В., Вахнина Н.В. Когнитивные нарушения при артериальной гипертензии // Нервные бол. 2013. № 3. С. 16–21.

5. Капустенская Ж.И., Шпрах В.В., Зайцева О.И. Аффективные и когнитивные расстройства у лиц пожилого и старческого возраста // Бюл. Вост.-Сибир. НЦ СО РАМН. 2010. Т. 2. № 72. С. 52–54.

6. Крючкова О.Н., Ицкова Е.А., Турна Э.Ю. и др. Умеренные когнитивные расстройства в практике терапевта: возможности коррекции // Крым. тер. журн. 2016. Т. 2. № 29. С. 23–26.

7. Локшина А.Б. Современные представления о недементных когнитивных расстройствах // Эффективная фармакология. 2015. №1. С. 36–44.

8. Наследов А.Д. Математические методы психологического исследования: анализ и интерпретация данных. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2006.

9. Приказ Минздрава РФ от 29.01.2016 № 38н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю „Гериатрия“».

10. Распоряжение Правительства РФ от 5.02.2016 № 164-р «Стратегия действий в интересах граждан старшего поколения до 2025 года».

11. Сиденкова А.П. Когнитивные расстройства позднего возраста — актуальная медицинская, социальная, психологическая проблема современности // Урал. мед. журн. 2010. Т. 9. № 74. С. 1–4.

12. Сидоров П.И., Соловьев А.Г., Новикова И.А. Социально-психологические аспекты качества жизни больных сахарным диабетом // Пробл. эндокринол. 2002. Т. 48. № 1. С. 9–12.

13. Соловьев А.Г., Новикова И.А., Местечко В.В. Диагностика когнитивной сферы у лиц пожилого возраста // Успехи геронтол. 2015. Т. 28. № 2. С. 366–373.

14. Соловьев А.Г., Попов В.В., Новикова И.А. Диагностика расстройств эмоциональной сферы у лиц пожилого возраста // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 1. С. 141–153.

15. Соловьев А.Г., Попов В.В., Новикова И.А. Ранняя диагностика и профилактика психических расстройств в пожилом возрасте: Учеб.-метод. пособие. Архангельск: СГМУ, 2016.

16. *Folstein M.F., Folstein S.E., McHugh P.R.* «Mini-Mental State». A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician // *J. Psychiat. Res.* 1975. Vol. 12. P. 189–198.

17. *Nasreddine Z.S., Phillips N.A., Bedirian V. et al.* The Montreal Cognitive Assessment MoCA: a brief screening tool

for mild cognitive impairment // *J. Amer. Geriat. Soc.* 2005. Vol. 53. № 4. P. 695–699.

18. *Zigmond A.S., Snaith R.P.* The Hospital Anxiety and Depression scale // *Acta Psychiat. Scand.* 1983. Vol. 67. P. 361–370.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 442–449

I.A. Novikova¹, A.G. Soloviev², V.V. Popov²

COGNITIVE AND AFFECTIVE DISORDERS IN THE ELDERLY

¹ Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, 17, Severnoi Dviny emb., Arkhangelsk, 163002; e-mail: ASoloviev1@yandex.ru; ² Northern State Medical University, 51, Troitsky pr., Arkhangelsk, 163000

To develop algorithm of diagnostics of cognitive and affective disorders in elderly and senile age 98 representatives of this age group were examined (1st group — 68 persons 60–74 years, 2nd group — 30 patients older than 75 years). For the diagnosis of cognitive disorders the developed and adapted «Short rating scale of cognitive functions», to diagnose emotional disorders — «Hospital scale of anxiety and depression HADS» were used. Cognitive impairment was revealed in 39,8% of the elderly (1st group — 28,7% in 2nd group — 61,6%). Affective disorders 51,9% of respondents had; however, signs of anxiety — 40,9% and depression — 27,7%. Algorithm for the diagnosis of cognitive and emotional disorders in elderly and senile age, comprising the steps of: screening and diagnostic, clinical and pathopsychological, laboratory and instrumental diagnostic, psychodiagnostic, can be recommended for use in general medical practice (therapists, general practitioners, geriatrics) for an earlier secondary prevention and, if necessary, early correction of mental health disorders.

Key words: *cognitive disorders, affective disorders, elderly persons*

*В. В. Захаров¹, И. Ю. Савушкина¹, Э. А. Мхитарян^{1,2}, Н. Н. Коберская¹, А. Б. Локшина¹,
Д. А. Гришина¹, С. И. Посохов¹, А. В. Тараповская¹, Н. Н. Яхно¹*

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ У ЛИЦ 50–85 ЛЕТ

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, НИО неврологии, 119435, Москва, ул. Россолимо, 11, стр. 1, Клиника нервных болезней им. А. Я. Кожевникова; e-mail: melen99@mail.ru;

² Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Российский геронтологический научно-клинический центр, 129226, Москва, ул. 1-я Леонова, 16

В статье приводятся результаты собственно исследования динамики когнитивных функций у лиц 50–85 лет в отсутствие нейродегенеративных, сосудистых и иных значимых для познавательной деятельности заболеваний. Показано, что с возрастом умеренно снижается память по типу недостаточности воспроизведения при относительной сохранности запоминания, также было отмечено негрубое нарушение управляющих функций (планирование и контроль). В основе указанных возрастных изменений с точки зрения общепринятых нейропсихологических представлений лежит дисфункция передних отделов головного мозга и/или связи лобных долей с подкорковыми базальными ганглиями. Показано, какие физиологические изменения происходят в сфере памяти и управляющих функций с возрастом, что имеет большое клиническое значение для дифференциальной диагностики нормального старения и начальных стадий распространенных в пожилом возрасте церебральных заболеваний.

Ключевые слова: когнитивные нарушения, память, управляющие функции, старение, пожилой и старческий возраст

В последние десятилетия неуклонно возрастает интерес неврологов, психиатров и представителей других нейронаук к проблеме когнитивных расстройств. Это обусловлено увеличением числа пациентов с когнитивными расстройствами, негативным влиянием данных патологий на качество жизни пациентов и их родственников, значительным социально-экономическим бременем, которое ложится в связи с обсуждаемой проблемой на общество в целом.

Как известно, в подавляющем большинстве случаев когнитивные расстройства развиваются в пожилом возрасте. В процессе физиологического старения в головном мозге происходит ряд закономерных (инволютивных) изменений, которые могут предрасполагать к формированию когнитивной недостаточности. Показано, что при-

близительно с 40–50-летнего возраста начинают уменьшаться объём и масса головного мозга, причем к 80–90 годам эти изменения могут достигать 10% от изначальных показателей. В наибольшей степени потеря нейронов выявлена в лобной и теменных долях, а также в области гиппокампа [5, 16]. С возрастом изменяются макро- и микроструктура таламических ядер, особенно передних, а также организация их функциональных связей. В первую очередь страдают таламофронтальные, талампариетальные и таламолимбические сети [11]. Указанные изменения функционирования фронтостриарных систем могут приводить к ухудшению управляющих функций мозга (планирование, контроль) [21].

Цель исследования — уточнение, какие изменения познавательной деятельности могут происходить с возрастом в отсутствие признаков заболеваний головного мозга. Ответ на этот вопрос имеет большое значение для оптимизации максимально ранней диагностики заболеваний деменции на основании результатов когнитивного тестирования.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие здоровые лица старших возрастных групп — 141 человек 50–85 лет (37 мужчин и 104 женщины, средний возраст $66,79 \pm 8,61$ года). Критерии включения: информированное согласие; отсутствие ранее установленного диагноза какого-либо заболевания (соматического, неврологического, психиатрического), которое может приводить к когнитивным нарушениям, и отсутствие при клиническом осмотре признаков таких заболеваний; отсутствие жалоб когнитивного характера (забывчивость, трудности концентрации, повышенная утомляемость при умственной работе и др.);

нормальное функционирование (работа, социальная жизнь, домашние обязанности, самообслуживание). Обследованных лиц разделили на три возрастные группы: 50–59 лет — 35 человек (24,8%), 9 мужчин и 26 женщин, средний возраст $55,11 \pm 2,95$ года; 60–74 года — 72 человека (51,1%), 21 мужчина и 52 женщины, средний возраст $67,45 \pm 3,83$ года; 75 лет и старше — 34 человека (24,1%), 7 мужчин и 27 женщин, средний возраст $77,65 \pm 2,9$ года.

Для оценки когнитивных функций использовали краткую шкалу оценки психического статуса М. F. Folstein и соавт. [12], батарею лобных тестов В. Dubois и соавт. [10], включающую задания на абстрагирование, беглость речи, способность к приобретению новых двигательных навыков и сложное произвольное внимание, тест рисования часов, тесты категориальных и литеральных ассоциаций, тест на заучивание и воспроизведение 12 слов с семантическим опосредованием запоминания и воспроизведения, тест соединения цифр и букв [4]. Также оценивали уровень личностной и реактивной тревожности с помощью опросника Спилберга [4].

Обработку данных проводили с использованием статистического пакета SPSS 17.0. Применяли следующие методы анализа: таблицы сопряженности с проверкой критерия χ^2 по Пирсону, тест Колмогорова—Смирнова, U-тест Манна—Уитни для независимых выборок, тест Вилкоксона для связанных выборок. Результаты представлены в виде средних величин со стандартным отклонением ($M \pm SD$).

Результаты и обсуждение

У 113 обследованных лиц (80,1%) было высшее образование, у 27 (19,1%) высшего образования не было. Между возрастными группами отсутствовали статистические различия по уровню образования ($p=0,420$).

По краткой шкале оценки психического статуса не было получено статистически значимых различий между возрастными группами ни по одному из анализируемых показателей.

Однако сравниваемые возрастные группы достоверно отличались между собой по выраженности когнитивных симптомов лобной дисфункции. Об этом свидетельствовала возрастная динамика результатов батареи лобных тестов. Более пожилые люди достоверно хуже выполняли пробы на «динамический праксис». Статистической

значимости достигали также различия суммарной оценки батареи лобных тестов (табл. 1).

Наиболее существенные различия между сравниваемыми возрастными группами были получены в сфере памяти. При этом с возрастом уменьшается только показатель свободного воспроизведения, в то время как введение семантических подсказок нивелировало возрастные различия. Описанная тенденция была выявлена как при непосредственном, так и при отсроченном воспроизведении, то есть не зависела от отсутствия или наличия интерферирующей паузы (рисунок).

Не было получено достоверных различий между сравниваемыми возрастными группами по беглости речи (литеральные и категориальные ассоциации), темпу и планированию познавательной деятельности (тест соединения цифр и букв) и тесту рисования часов (табл. 2).

Согласно результатам когнитивного тестирования, возрастное ухудшение памяти и управляющих функций сочеталось с увеличением уровня тревоги. Как личностная, так и ситуативная тревожность по шкале Спилберга у лиц 60–74 лет была достоверно выше, чем у более молодых. В то же время отсутствовали статистически значимые различия между лицами 60–74 лет и 75 лет и старше (табл. 3).

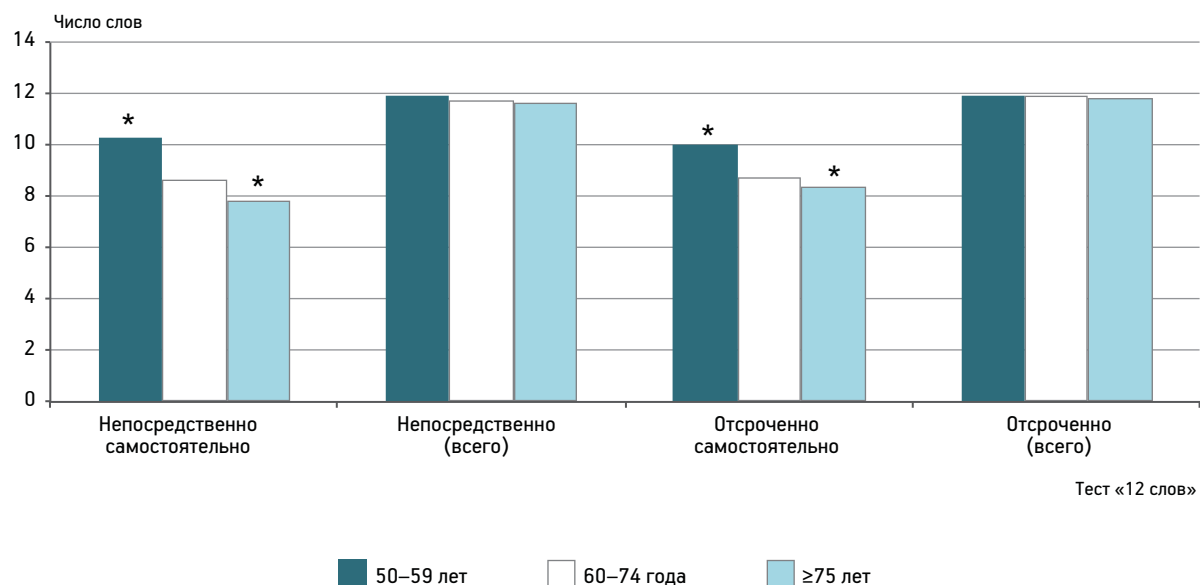
По нашим данным, пол и уровень образования существенного влияния на результаты тестирования когнитивных функций не оказывали. У лиц старческого возраста (75 лет и более) женщины имели незначительное, но достоверное преимущество перед мужчинами по показателю «ориентировка во времени» (5 к 4,83, соответственно, $p < 0,04$). Также женщины несколько лучше выполняли задание на абстрагирование, о чем свидетельствовала разница по показателю «концептуализация» батареи лобных тестов (женщины — 2,92 балла, мужчины — 2,67 балла, $p < 0,03$). Несущественные и разнонаправленные, но достоверные различия были выявлены между мужчинами и женщинами в сфере памяти. Так, у женщин моложе 60 лет объем непосредственного воспроизведения был достоверно выше, чем у мужчин (12 и 11,78, соответственно, $p < 0,02$). У обследованных лиц 60–74 лет аналогичный показатель, напротив, был достоверно выше у мужчин (12 и 11,72 соответственно, $p < 0,05$). По остальным тестам достоверных различий между мужчинами и женщинами не отмечено.

Уровень образования оказывал незначительное, но статистически значимое влияние на способ-

Сравнение показателей управляющих («лобных») функций, батарея лобных тестов

| Тест | Возрастная группа, лет | <i>n</i> | Среднее | <i>SD</i> | <i>p</i> |
|-----------------------------------|------------------------|-----------|--------------|--------------|-----------------|
| Концептуализация | 50–59 | 17 | 2,82 | ±0,39 | >0,05 |
| | 60–74 | 27 | 2,85 | ±0,36 | >0,05 |
| | ≥75 | 59 | 2,80 | ±0,56 | >0,05 |
| Беглость речи | 50–59 | 17 | 3,00 | 0 | >0,05 |
| | 60–74 | 27 | 2,96 | ±0,19 | >0,05 |
| | ≥75 | 59 | 3,00 | 0 | >0,05 |
| Праксис | 50–59 | 17 | 2,94 | ±0,24 | <0,01 |
| | 60–74 | 27 | 2,67 | ±0,62 | >0,05 |
| | ≥75 | 59 | 2,27 | ±0,88 | <0,01 |
| Реакция выбора простая | 50–59 | 17 | 3,00 | 0 | >0,05 |
| | 60–74 | 27 | 3,00 | 0 | >0,05 |
| | ≥75 | 59 | 2,98 | ±0,26 | >0,05 |
| Реакция выбора усложнённая | 50–59 | 17 | 2,94 | ±0,24 | >0,05 |
| | 60–74 | 27 | 2,89 | ±0,32 | >0,05 |
| | ≥75 | 59 | 2,87 | ±0,35 | >0,05 |
| Хватательные рефлексы | 50–59 | 17 | 3,00 | 0 | >0,05 |
| | 60–74 | 27 | 3,00 | 0 | >0,05 |
| | ≥75 | 59 | 3,00 | 0 | >0,05 |
| Батарея лобных тестов, общий балл | 50–59 | 35 | 17,40 | ±0,74 | <0,02 |
| | 60–74 | 49 | 17,22 | ±0,77 | >0,05 |
| | ≥75 | 17 | 16,76 | ±0,90 | <0,02 |

Примечание. Жирным шрифтом выделены параметры, имеющие статистическую достоверность.



Сравнение показателей выполнения теста «12 слов» с указанием различий между группами; * $p < 0,05$

ность к абстрагированию и темп познавательной деятельности. У пациентов с высшим образованием был выявлен более высокий показатель «концептуализации», результат батареи лобных тестов

по сравнению с пациентами без высшего образования ($2,88 \pm 0,354$ и $2,82 \pm 0,434$ балла, соответственно, $p < 0,03$), а также у них был лучше результат теста соединения цифр и букв, части А ($43,35$

Таблица 2

Дополнительные когнитивные тесты

| Тест | Возрастная группа, лет | <i>n</i> | Среднее | <i>SD</i> | <i>p</i> | |
|-----------------------------|------------------------|----------|---------|-----------|----------|-------|
| Литеральные ассоциации | 50–59 | 31 | 15,71 | ±3,03 | >0,05 | |
| | 60–74 | 49 | 15,08 | ±3,15 | >0,05 | |
| | ≥75 | 23 | 14,17 | ±3,68 | >0,05 | |
| Категориальные ассоциации | 50–59 | 31 | 17,10 | ±2,93 | >0,05 | |
| | 60–74 | 36 | 16,83 | ±2,80 | >0,05 | |
| | ≥75 | 13 | 14,92 | ±3,70 | >0,05 | |
| Тест рисования часов | 50–59 | 35 | 9,74 | ±0,44 | >0,05 | |
| | 60–74 | 71 | 9,65 | ±0,48 | >0,05 | |
| | ≥75 | 33 | 9,61 | ±0,49 | >0,05 | |
| Тест соединения цифр и букв | часть А | 50–59 | 23 | 45,61 | ±10,19 | >0,05 |
| | | 60–74 | 48 | 50,08 | ±11,55 | >0,05 |
| | | ≥75 | 25 | 54,56 | ±17,71 | >0,05 |
| | часть В | 50–59 | 18 | 134,44 | ±32,36 | >0,05 |
| | | 60–74 | 22 | 153,41 | ±18,94 | >0,05 |
| | | ≥75 | 4 | 157,75 | ±13,76 | >0,05 |

Таблица 3

Уровень тревоги в разных возрастных группах

| Показатель | Возрастная группа, лет | <i>n</i> | Среднее | <i>SD</i> | <i>p</i> |
|-------------------------|------------------------|----------|---------|-----------|----------|
| Личностная тревожность | 50–59 | 20 | 31,95 | ±8,90 | <0,001 |
| | 60–74 | 26 | 41,46 | ±6,77 | – |
| | ≥75 | 3 | 44,00 | ±12,29 | – |
| Ситуативная тревожность | 50–59 | 20 | 34,55 | ±10,08 | <0,01 |
| | 60–74 | 26 | 40,92 | ±7,74 | – |
| | ≥75 | 3 | 34,67 | ±4,62 | – |

и 60,67 с, соответственно, $p < 0,05$). Также пациенты с высшим образованием лучше справлялись с пробой на динамический праксис, что достигало статистической значимости только у людей 75 лет и старше — 2,50 и 1,33 балла, соответственно, $p < 0,04$.

Получены достоверные различия между подгруппами с разным уровнем образования по выраженности личностной и реактивной тревожности. По данным опросника Спилбергера, личностная и реактивная тревожность была достоверно выше у пациентов с высшим образованием (личностная — $38,78 \pm 8,35$ и $21,67 \pm 8,33$ балла, $p < 0,012$; реактивная — $38,63 \pm 8,81$ и $27,33 \pm 7,51$ балла, $p < 0,041$).

Исследование показало, что в отсутствие клинически значимого цереброваскулярного, нейродегенеративного или иного поражения головного мозга с возрастом отмечается только весьма

незначительное снижение отдельных когнитивных способностей. Обнаружено лишь небольшое ухудшение памяти и управляющих функций. Интегральный показатель интеллекта (суммарный балл КШОПС), а также такие клинически важные когнитивные показатели, как тест рисования часов и литеральные ассоциации, оставались неизменными.

Наиболее заметные изменения происходили в мнестической сфере. Обследованные 75 лет и старше самостоятельно вспоминали в среднем на 2–3 слова меньше, чем лица моложе 60 лет. Однако различия между возрастными группами нивелировались при использовании категориальных подсказок. С помощью подсказок представители как более молодых, так и более старших возрастных групп одинаково успешно могли извлечь из памяти нужную информацию. Это позволяет определить в качестве ведущего механизма воз-

растного ухудшения памяти нарушение воспроизведения информации при сохранной способности к её запоминанию. Согласно общепринятым представлениям, такой тип нарушений памяти характерен для дисфункции лобных долей головного мозга, его описывают обычно при так называемом подкорково-лобном типе когнитивных расстройств [6, 8, 17, 18].

По нашим данным, эффективность воспроизведения не зависела от наличия или отсутствия интерферирующей паузы между предъявлением и припоминанием слов. Показатели непосредственного и отсроченного воспроизведения, как свободного, так и с подсказкой, были приблизительно одинаковыми. Возможно, это объясняется тем, что в методике «12 слов» используется специальный метод семантического опосредования. Предъявляемые для запоминания слова нужно вначале просто прочитать и постараться запомнить, а потом — рассортировать по семантическим категориям. Вероятно, эта процедура способствует формированию более устойчивого по отношению к интерферирующим воздействиям мнестического следа.

Полученные в исследовании результаты имеют существенную практическую значимость, так как демонстрируют качественные различия мнестических расстройств при «нормальном старении» и при болезни Альцгеймера. По имеющимся данным литературы, уже на ранних стадиях болезни Альцгеймера выявляют такие признаки первичной недостаточности запоминания, как значительная разница между непосредственным и отсроченным воспроизведением, неэффективность категориальных подсказок, посторонние вpletения [9, 13, 15, 19, 20]. У обследованных нами пожилых людей ни один из этих признаков не был зафиксирован. Существенно более трудной представляется дифференциальная диагностика «нормальных» возрастных изменений и когнитивных симптомов цереброваскулярного заболевания. Для последнего также будет характерен подкорково-лобный тип мнестических расстройств.

О том, что в основе возрастного ухудшения когнитивных способностей, возможно, лежит дисфункция передних отделов головного мозга, свидетельствуют также изменения в сфере управляющих функций (планирование и контроль). Вторым после памяти показателем, который отличал пожилых от более молодых людей, был суммарный результат батареи лобных тестов. Анализ различий по отдельным показателям указанной методики выявил,

что наиболее существенно затрудняется усвоение новых двигательных навыков, требующих серийной организации и автоматизации движений (проба А. Р. Лурия «кулак—ребро—ладонь»). Эта проба наиболее сложна и в меньшей мере опирается на прошлый опыт и знания, чем другие задания батареи лобных тестов. При цереброваскулярной патологии, наряду с «динамическим праксисом», обычно нарушаются также абстрагирование (проба на «концептуализацию» батареи лобных тестов), рисование часов и беглость речи. Указанные особенности могут быть использованы в дифференциальной диагностике нормальных возрастных изменений когнитивных функций и сосудистых когнитивных нарушений.

Снижение когнитивных функций у здоровых людей в проведенном исследовании сопровождалось повышением уровня тревоги. Можно предположить, что увеличение тревожности было следствием субъективного осознания когнитивного снижения пожилыми лицами с полностью сохранной критикой. Возможно также, что повышение тревоги не было связано с когнитивными трудностями, но отражало другие пространственные в пожилом возрасте актуальные жизненные ситуации (проблемы со здоровьем, потеря близких родственников, изменение социального статуса и др.). Представляется маловероятным, что повышение тревоги могло быть причиной когнитивных трудностей. По некоторым данным, у пациентов с легкими когнитивными расстройствами сосудистой этиологии повышенный уровень тревоги, напротив, ассоциировался с более высокими когнитивными показателями [1, 2]. В основе этого может лежать активирующая и мобилизующая психологическая роль умеренной тревоги у лиц без тяжелого когнитивного дефицита.

По нашим данным, пол и уровень образования не оказывают существенного влияния на когнитивные способности здоровых лиц старших возрастных групп. Те отличия, которые были выявлены, носят разнонаправленный характер и в целом не имеют клинической значимости. Единственным исключением следует признать отличие в уровне тревоги, который был устойчиво повышен у лиц с высшим образованием. Нелишне отметить, что связь тревожности с образовательным цензом была отмечена нами также и у лиц молодого и среднего возраста, перенесших легкую черепно-мозговую травму [3].

О нарушениях мнестической и управляющих функций при нормальном старении сообщают так-

же другие авторы. Так, по данным R. Fama [11], старение сопровождается ухудшением оперативной памяти, снижением внимания и замедлением темпа познавательной деятельности. Слухоречевая память, вероятно, страдает в большей степени, в то время как способность к запоминанию и воспроизведению информации зрительной модальности остается относительно сохранной [21, 22]. В сфере управляющих функций с возрастом отмечают снижение интеллектуальной гибкости в отсутствие изменений функции когнитивного контроля [7]. Описанный выше тип когнитивных нарушений, согласно общепринятым представлениям, считается характерным для дисфункции дорсолатеральных отделов префронтальной коры и/или для нарушения их связи с полосатыми телами.

В настоящее время имеются также полученные с помощью методов функциональной визуализации свидетельства того, что с возрастом уменьшается выраженность межполушарной асимметрии. В рамках исследования HAROLD (Hemispheric Asymmetry Reduction in Older Age model) [14] было показано, что у здоровых пожилых лиц снижается выраженность различий между активацией правого и левого полушария при выполнении заданий на запоминание информации различной модальности. Интересным является тот факт, что введение семантического опосредования запоминания и подсказок при воспроизведении восстанавливало явление межполушарной асимметрии у пожилых лиц. Приведенные данные согласуются с результатами нашего исследования, согласно которому опосредованное запоминание у здоровых пожилых лиц не пострадало.

Выводы

Проведенное исследование свидетельствует, что старение сопровождается статистически достоверным ухудшением памяти, а также серийной организации и автоматизации движений, в основе которых, вероятно, лежит дисфункция передних отделов головного мозга. Указанные изменения выражены в небольшой степени и имеют существенный ряд качественных и количественных отличий с нейродегенеративной и цереброваскулярной патологией, что может быть использовано при дифференциальной диагностике.

Литература

1. Вознесенская Т.Г. Эмоционально-аффективные и поведенческие нарушения при легких и умеренных когнитивных расстройствах: опыт применения мемантина // Неврол. журн. 2009. Т. 14. № 3. С. 49–54.

2. Вознесенская Т.Г. Некогнитивные нервно-психические расстройства при когнитивных нарушениях в пожилом возрасте // Неврол. журн. 2010. Т. 15. № 2. С. 4–18.

3. Дроздова Е.А., Захаров В.В. Когнитивные функции в остром периоде сотрясения головного мозга // Неврол. журн. 2012. Т. 17. № 2. С. 15–21.

4. Захаров В.В., Вознесенская Т.Г. Нервно-психические нарушения: диагностические тесты. М.: МЕДпресс-Информ, 2014.

5. Яхно Н.Н., Лавров А.Ю. Изменения центральной нервной системы при старении: нейродегенеративные болезни и старение: Рук. для врачей. М., 2001. С. 242–261.

6. Яхно Н.Н., Захаров В.В., Локшина А.Б. Нарушения памяти и внимания в пожилом возрасте // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С.Корсакова. 2006. Т. 106. № 2. С. 58–62.

7. Allain P., Berrut G., Etcharry-Bouyx F. et al. Executive functions in normal aging: an examination of script sequencing, script sorting, and script monitoring // J. Geront. B. Psychol. Sci. Soc. Sci. 2007. Vol. 62. № 3. P. 187–190.

8. Bonelli R.M., Cummings J.L. Frontal-subcortical dementia // Neurologist. 2008. Vol. 14. № 2. P. 100–107.

9. Di Paola M., Macaluso E., Carlesimo G. et al. Episodic memory impairment in patients with Alzheimer's disease is correlated with entorhinal cortex atrophy: A voxel-based morphometry study // J. Neurol. 2007. Vol. 254. № 6. P. 774–778.

10. Dubois B., Slachevsky A., Litvan I., Pillon B. The FAB: a frontal assessment battery at bedside // Neurology. 2000. Vol. 55. P. 1621–1626.

11. Fama R., Sullivan E.V. Thalamic structures and associated cognitive functions: Relations with age and aging // Neurosci. Biobehav. Rev. 2015. Vol. 54. P. 29–37.

12. Folstein M.F., Folstein S.E., McHugh P.R. Mini-Mental State: a practical guide for grading the mental state of patients for the clinician // J. Psychiat. Res. 1975. Vol. 12. P. 189–198.

13. Grober E., Bushke H., Crystal H. et al. Screening for dementia by memory testing // Neurology. 1988. Vol. 38. P. 900–903.

14. Kirova A.-M., Bays R.B., Lagalwar S. Working memory and executive function decline across normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease // BioMed. Res. Int. Vol. 2015. Article ID: 748212. doi:10.1155/2015/748212.

15. Kopelman M.D. Amnesia: organic and psychogenic // Brit. J. Psych. 1987. Vol. 150. P. 428–442.

16. Peters R. Ageing and the brain // Postgrad. Med. J. 2006. Vol. 82. № 964. P. 84–88.

17. Pillon B., Deweer B., Agid Y., Dubois B. Explicit memory in Alzheimer's, Huntington's and Parkinson's diseases // Arch. Neurol. 1993. Vol. 50. P. 374–379.

18. Pillon B., Deweer B., Michon A. et al. Are explicit memory disorder of progressive supranuclear palsy related to damage to striatofrontal circuits? Comparison with Alzheimer's disease, Parkinson's disease and Huntington's disease // Neurol. 1994. Vol. 44. № 7. P. 1264–1269.

19. Sarazin M., Berr C., De Rotrou J. et al. A syndrome of medial temporal type identifies prodromal Alzheimer's disease: a longitudinal study // Neurology. 2007. Vol. 69. № 19. P. 1859–1864.

20. Sarazin M., Chauvire V., Gerardin E. et al. The amnesic syndrome of hippocampal type in Alzheimer's syndrome: an MRI study // J. Alzheimers Dis. 2010. Vol. 22. № 1. P. 285–294.

21. Sweeney J.A., Fosano C., Berman R.A., Luna B. Inhibitory control of attention declines more than working memory during normal aging // Neurobiol. Aging. 2001. Vol. 22. № 1. P. 39–47.

22. Sylvain-Roy S., Lungu O., Belleville S. Normal aging of the attentional control functions that underlie working memory // J. Geront. B. Psychol. Sci. Soc. Sci. 2015. Vol. 70. № 5. P. 698–708.

V. V. Zakharov¹, I. Yu. Savushkina¹, E. A. Mkhitarian^{1,2}, N. N. Koberskaya¹, A. B. Lokshina¹,
D. A. Grishina¹, C. I. Posokhov¹, A. V. Tarapovskaya¹, N. N. Yakhno¹

AGE DYNAMICS OF COGNITIVE FUNCTIONS IN PERSONS 50–85 YEARS

¹ Scientific-Research Department of Neurology and Neurology and Neurosurgery Department of First I. M. Sechenov's Moscow State Medical University, 11, building 1, Rossolimo str., Moscow, 119435, A. Ya. Kojevnikov's Clinic of Nervous Diseases; e-mail: melen99@mail.ru; ² Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Gerontology Clinical Research Center, 16, 1st Leonova str., Moscow, 129226

The paper presents original study results of cognitive changes associated with aging in the absence of neurodegenerative, vascular and other significant for cognition disorders in period from 50 to 85 years. It was shown that aging is associated with moderate memory decrease predominantly because of retrieval deficit but not acquisition insufficiency. It was also shown that aging is associated with non-severe executive dysfunction (lack of planning and control). According usual neuropsychological approaches pattern of cognitive changes described above reflects anterior cortical dysfunction or/and impaired interaction between frontal lobes and subcortical basal ganglia. Shows what physiological changes occur with age in the field of memory and executive functions, which is of great clinical importance for the differential diagnosis of normal aging and early stages of common in the elderly cerebral diseases.

Key words: *cognitive impairment, memory, executive function, aging, elderly, senile*

*А. И. Божков, С. Л. Огиенко, Ю. А. Кузнецова, А. Ю. Бондарь, В. П. Марченко,
М. С. Гуменная*

ВОЗРАСТ ДОНОРА ВЛИЯЕТ НА «ПОВЕДЕНИЕ» И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА К ИОНАМ МЕДИ В ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ

Научно-исследовательский институт биологии Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина, Украина,
61022, Харьков, пл. Свободы, 4; e-mail: bozhkov@univer.kharkov.ua

В первичной культуре клеток костного мозга, полученной у молодых (3-месячных) и старых (20-месячных) крыс, исследовали изменение количества клеток с 0 до 4 сут, паттерн клеточных морфотипов и время жизни («продолжительность жизни») миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. Показано, что количество клеток костного мозга, полученных у старых животных (20-месячных) в первичной культуре, увеличивалось быстрее, чем количество клеток костного мозга молодых животных (3-месячных). Наличие *Cu*-индуцированного фиброза печени у животных оказывало разное влияние на скорость увеличения количества клеток костного мозга, полученных у молодых и старых животных. Внесение 4 и 8 ммоль $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в культуру клеток костного мозга у молодых и старых животных вызывало дозозависимое ингибирование пролиферативных процессов в клетках молодых животных. В том случае, если ионы меди вносили в культуру клеток костного мозга, полученных у старых животных, то ингибирование пролиферации было выражено в меньшей степени, чем для молодых животных, и концентрация 8 ммоль $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ингибировала пролиферацию в меньшей степени, чем 4 ммоль $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. Наличие фиброза печени у животных ускоряло процесс гибели клеток костного мозга в первичной культуре у молодых и старых животных. Однако этот эффект был выражен в большей степени у молодых животных. Высказано предположение, что в процессе онтогенеза в клетках костного мозга происходят такие эпигенетические изменения, которые меняют их функциональные свойства.

Ключевые слова: клетки костного мозга, старение, фиброз печени, первичная культура

Одним из наиболее ярких достижений биологии XX в., наряду с расшифровкой первичной последовательности генома, явилось выделение, изучение и разработка методов культивирования стволовых клеток [15, 18, 22]. Возможности практического использования стволовых клеток

вдохновили не только медицинских работников, но и геронтологов [4, 27].

Появились новые геронтологические гипотезы, согласно которым стволовые клетки могут стать тем самым средством, которое способно устранить возрастзависимые изменения, ускорить регенерацию органов, нормализовать способности организма адаптироваться к различным дегенеративным изменениям [7, 19, 24].

Главные доводы сторонников этих представлений основывались на двух основных позициях: 1-я — стволовая клетка может дифференцироваться в любой тип клеток в зависимости от микроокружения или ниши; 2-я — с возрастом уменьшается количество стволовых клеток, и, трансплантируя стволовые клетки стареющему организму, можно устранить возрастзависимые патологии.

Действительно, имеется достаточное количество работ, в которых показано, что в стареющем организме уменьшается количество гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге и у них чаще, чем у молодых, развиваются лейкозы [13, 29]. Наряду с этим, имеются данные, которые не подтверждают явного снижения количества стволовых клеток в онтогенезе [28, 30].

Результаты фундаментальных исследований этой проблемы оказались неоднозначными и противоречивыми [25, 31]. Имеющиеся данные позволяют прийти к заключению, что проблема старения не сводится к количественным или качественным изменениям стволовых клеток; что свойства стволовых клеток определяются их микроокружением, которое может иметь возрастзависимый характер; что трансплантация стволовых клеток не решает проблемы возрастзависимой инволюции.

В связи с этим важно установление закономерностей взаимодействия или взаимовлияния клеток

и факторов среды. Так как клетка—микроокружение или клетка—организм — чрезвычайно сложные динамические системы, то исследователи прибегают к относительно простым моделям *in vitro*.

Как известно, источником получения и дальнейшего изучения стволовых клеток является костный мозг [6, 23], который является системообразующим органом. Он обеспечивает кроветворение, синтез иммунокомпетентных клеток, является «хранителем» пула мезенхимальных стволовых клеток, которые, в свою очередь, обеспечивают остеогенез [16], регенерацию печени и других органов [26].

Клетки костного мозга представлены чрезвычайно гетерогенной и быстро меняющейся популяцией клеток. Наряду с мезенхимальными стволовыми клетками, это клетки эритроидного, лимфоидного, миелоидного ряда разной степени зрелости. Как известно, клетки крови имеют разную продолжительность жизни. Если «родоначальница» всех клеток крови — мезенхимальная стволовая клетка является иммортаальной, то дифференцированные клетки крови имеют короткую и очень разную продолжительность жизни. Так, если эритроциты в кровяном русле функционируют около 3 мес, то лейкоциты — от нескольких часов (нейтрофилы) и нескольких недель (лимфоциты) до десятка лет — «клетки памяти» [12, 21].

Программа клеточной гибели может включаться под влиянием разнообразных экзогенных и эндогенных факторов. По сути, время жизни клеток — интегральный показатель взаимовлияния разнообразных сигналов, которые определяют стратегический выбор между дальнейшим функционированием, пролиферацией или апоптозом.

Следовательно, выбор стратегии поведения клеток зависит от эндогенных и экзогенных факторов. Можно полагать, что если высоко гетерогенную популяцию клеток костного мозга выделить у молодых и старых животных, интактных и с патологическими признаками, и поместить в одинаковые условия *in vitro*, то, вероятно, различный характер их «поведения» в строго контролируемых условиях будет зависеть от исходных характеристик этих клеток. Если у старых животных уменьшается пул стволовых клеток, то интенсивность пролиферации клеток костного мозга в первичной культуре без внесения каких-либо индукторов пролиферации должна уступать таковым у молодых. Уменьшение пула стволовых клеток у старых животных может повлиять и на количественный

и качественный характер дифференцировки клеток в костном мозге, то есть на степень гетерогенности клеточной популяции и время культивирования клеток в первичной культуре.

При исследовании стволовых клеток, как правило, их выделяют из гетерогенной популяции, в которой они составляют не более 0,01%, для исследования их свойств в культуре. В настоящей работе определяли интенсивность роста первичной культуры клеток костного мозга, влияние концентраций ионов меди на интенсивность их роста, паттерн основных морфотипов клеток костного мозга и «продолжительность жизни» клеток в первичной культуре, полученных у интактных молодых и старых животных и у крыс с *Cu*-индуцированным фиброзом печени.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на половозрелых крысах-самцах 3 мес (молодых) и 20 мес (старых) линии *Wistar*. Все процедуры с животными выполняли с соблюдением биоэтических правил и норм [10] и с учетом циркадных ритмов формирования биологических ответов. Для этого животные в одно и то же время суток получали пищу, их содержали в стандартных условиях вивария и все манипуляции (введение токсических препаратов, выделение клеток костного мозга — КМ) осуществляли в одно и то же время суток до приема пищи. За 12 ч до выделения клеток костного мозга животные не получали пищу. Клетки КМ выделяли всегда с 8 до 10 ч утра по местному времени, подсчет и морфологические исследования — с 9 до 12 ч по местному времени.

Остановку экспериментальных процедур осуществляли погружением животных в эфирный наркоз с последующим выделением у них клеток костного мозга.

Все животные были разделены на четыре группы (рис. 1): 1-я — клетки КМ, выделенные из интактных животных 3 мес ($n=8$ животных) и 20 мес ($n=6$) — истинная контрольная группа; 2-я — клетки КМ животных 3 мес ($n=12$) и 20 мес ($n=6$) с *Cu*-индуцированным фиброзом печени, который моделировали, как описано в работе [1]; 3-я — клетки КМ интактных животных 3 мес ($n=6$) и 20 мес ($n=6$), в культуру клеток КМ которых в начале инкубирования вносили по 4 и 8 ммоль $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 4-я — клетки КМ животных 3 мес ($n=6$) и 20 мес ($n=6$), которые получали у животных с *Cu*-индуцированным фиброзом



Рис. 1. Схема экспериментальных процедур, которая демонстрирует, что клетки костного мозга выделяли у молодых и старых животных, интактных и с *Cu*-индуцированным фиброзом (варианты экспериментальных групп)

печени, и в эту культуру вносили по 4 и 8 ммоль $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (см. рис. 1).

Из полученных клеток всех четырех вариантов формировали по три варианта культуры для системы *in vitro*; в один из них вносили физиологический раствор (контрольная культура), во второй — 4 ммоль $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, в третий — 8 ммоль $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. Спустя 1, 2, 3 и 4 сут культивирования определяли количество клеток, морфотипы, время сохранения основных морфотипов в культуре, условно — «продолжительности жизни».

Клетки костного мозга выделяли из двух бедренных костей крысы по методу [2] и культивировали в среде 199 с добавлением антибиотиков (8 % гентамицина и 8 % стрептомицина) и 20 % инактивированной фетальной телячьей сыворотки. Культивирование проводили при 37 °С в стандартных условиях в атмосфере 5 % CO_2 в течение 4 сут. Среду культуры клеток при этом не меняли («накопительное культивирование»). Начальная концентрация клеток костного мозга при культивировании во всех вариантах всегда составляла 2 млн кл/мл.

Подсчёт и оценку жизнеспособности клеток костного мозга животных проводили, как описано в работе [8]. Морфотипы клеток костного мозга определяли сразу после получения суспензии клеток костного мозга, а также на 2-е и 4-е сутки культивирования, как описано в работе [20]. Цитологические препараты окрашивали по Романовскому—Гимзе, анализировали их при ув. 100 на микроскопе «ZeissPrimoStariLED» (Германия).

Для определения продолжительности жизни миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в системе *in vitro*

подсчитывали их количество на 0, 48 и 96 ч культивирования, просчитывая не менее 500 клеток каждого из морфотипов, данные выражали в долях от общего числа клеток в образце.

Все эксперименты повторяли многократно, при этом в каждой экспериментальной группе использовали 6–12 животных.

В качестве характеристик полученных выборок использовали среднее, стандартное отклонение, стандартную ошибку среднего, объём выборки. Статистическую достоверность различий между двумя группами данных оценивали с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни. Обработку результатов проводили с использованием программы Excel. Различия между данными контрольных и опытных вариантов считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

*Интенсивность роста первичных культур клеток костного мозга молодых и старых интактных животных и крыс с *Cu*-индуцированным фиброзом печени*

Количество клеток КМ молодых крыс увеличивалось на 44, 70 и 77 %, соответственно, на 1-е, 2-е и 3-е сутки по сравнению с исходным количеством, к 4-м суткам наступала стационарная фаза роста (рис. 2, а).

Если клетки КМ получали у старых животных, то их количество в культуре увеличивалось на 1-е, 2-е и 3-е сутки в 2 раза быстрее, чем у молодых, соответственно, на 113, 140 и 171 % по сравне-

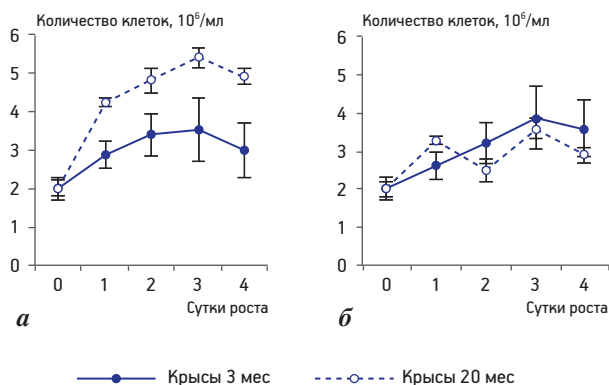


Рис. 2. Количество клеток костного мозга в первичной культуре, выделенной у интактных крыс 3 мес и 20 мес (а) и у крыс 3 мес и 20 мес с Си-индуцированным фиброзом печени (б)

нию с исходным количеством, при сохранении характера кривой роста (см. рис. 2, а).

Следовательно, у старых животных интенсивность пролиферации в первичной культуре клеток КМ выражена в большей степени по сравнению с молодыми животными. Это свидетельствует о том, что клеток КМ (мезенхимальных стволовых клеток, прежде всего), способных к пролиферации, было больше у старых животных, чем у молодых. Известно, что при наличии патологий, в частности фиброза печени, мезенхимальные стволовые клетки КМ мигрируют в очаг воспаления и обеспечивают регенерационные процессы в патологически измененном органе [5].

В следующей серии экспериментов индуцировали фиброз печени у молодых и старых животных [1], и у этих животных определяли пролиферативную активность клеток КМ в культуре. Оказалось, что количество клеток КМ, выделенных у молодых животных с фиброзом печени, также увеличивалось в первичной культуре, как и в случае интактных животных. Так, на 1-е, 2-е и 3-е сутки культивирования их количество увеличивалось на 30, 60 и 95 % по сравнению с исходным количеством (см. рис. 2, б).

В то же время, количество клеток КМ в первичной культуре, выделенных у старых животных с фиброзом печени, увеличивалось в меньшей степени, чем в случае интактных старых животных, и мало отличалось от этого показателя у молодых животных с фиброзом (см. рис. 2, б).

Необходимо обратить внимание на то, что количество клеток в культуре, полученных у старых животных с фиброзом, изменялось не линейно, а ритмически. Так, их количество увеличивалось

на 65, 25 и 80 % против 113, 140 и 171 % для интактных животных (см. рис. 2, а, б). Такой характер изменения количества клеток в культуре свидетельствует о том, что на 2-е сутки в первичной культуре преобладают процессы деградации клеток над процессами деления.

Следовательно, пролиферативная активность в первичной культуре клеток КМ, полученных у молодых животных с фиброзом печени, практически не отличалась от таковой, полученной у интактной контрольной группы, и значительно уменьшалась у старых животных с фиброзом печени по сравнению со старыми интактными животными.

Так как фиброз печени был индуцирован последовательными введениями животным сульфата меди, то нельзя исключить и того, что ионы меди могут оказывать как прямое, так и опосредованное влияние на количество и свойства клеток костного мозга. Более того, эти изменения могут иметь и возрастзависимый характер ответа на введение ионов меди.

Влияние ионов экзогенной меди на интенсивность роста культуры клеток костного мозга молодых и старых животных и крыс с фиброзом печени

В следующей серии экспериментов определяли влияние ионов меди, которую вносили непосредственно в культуру клеток *in vitro*, при этом в одном случае клетки были выделены у интактных животных, а в другом случае клетки были выделены у животных молодых и, соответственно, старых с Си-индуцированным фиброзом печени (см. рис. 1).

Такой экспериментальный подход должен дать ответ на следующие вопросы: изменяется ли ответная реакция клеток КМ в культуре на действие экзогенных ионов меди (токсикантов) в зависимости от исходного состояния клеток (интактные животные и животные с фиброзом); существует ли возрастзависимый характер ответа на экзогенное влияние ионов меди; можно ли использовать такой экспериментальный подход для оценки интегрального состояния клеток КМ. Оказалось, что если клетки КМ для дальнейшего культивирования были получены у интактных 3-месячных животных и в такую культуру вносили 4 ммоль экзогенного сульфата меди, то спустя 1 и 2 сут количество клеток не изменялось по сравнению с исходным количеством ($2 \cdot 10^6$ кл/мл), то есть культура не росла (рис. 3, а).

Однако на 3-и сутки их количество увеличивалось по сравнению с исходным значением на 70 % и не отличалось от контрольной культуры, то есть без внесения экзогенной меди (см. рис. 2, а). В том случае, если в культуру вносили 8 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, то количество клеток с 1-х по 4-е сутки оставалось постоянным и составляло около $2 \cdot 10^6$ кл/мл (см. рис. 3, а).

Сохранение количества клеток КМ на неизменном уровне с 1-х по 4-е сутки культивирования можно объяснить тем, что число погибших клеток соответствовало числу вновь появившихся в результате пролиферации.

Жизнеспособность клеток в культуре оценивали в тесте с трипановым синим. Было обнаружено, что если в исходной суспензии жизнеспособность клеток составляла 96–98 %, то к 4-м суткам — $75 \pm 1,2$ %. Внесение в культуру КМ 8 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ сопровождалось незначительным (до 10 %) увеличением нежизнеспособных клеток.

В том случае, если клетки КМ выделяли у интактных животных 20 мес и вносили в культуру 4 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, то количество клеток КМ уже на 1-е, 2-е сутки культивирования было увеличено на 38, 50 и 71 % по сравнению с их исходным количеством (см. рис. 3, б).

После внесения 8 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в культуру клеток, полученных у 20-месячных животных, был отмечен парадоксальный эффект по интенсивности роста по сравнению с внесением 4 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и по сравнению с такой же дозой для клеток КМ, выделенных у 3-месячных животных (см. рис. 3, а, б).

Так, после внесения в культуру 8 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ количество клеток КМ на 1-е сутки увеличивалось на 71 %, на 3-и сутки — на 112 % и не отличалось от количества клеток, полученных у интактных животных без внесения ионов меди (см. рис. 3, б), то есть ионы меди в данном случае не ингибировали рост культуры, как у молодых животных. Однако на 3-и и 4-е сутки количество клеток КМ уменьшилось и не отличалось от количества клеток после внесения в культуру 4 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (см. рис. 3, б), то есть имело место «запаздывание» в проявлении токсического эффекта меди. Следовательно, после внесения ионов меди выявляется дозозависимый ответ культуры клеток КМ, который был разным для клеточных культур, полученных у молодых и старых животных.

В следующей серии экспериментов определяли влияние экзогенной меди, которую вносили в культуры клеток молодых и старых живот-

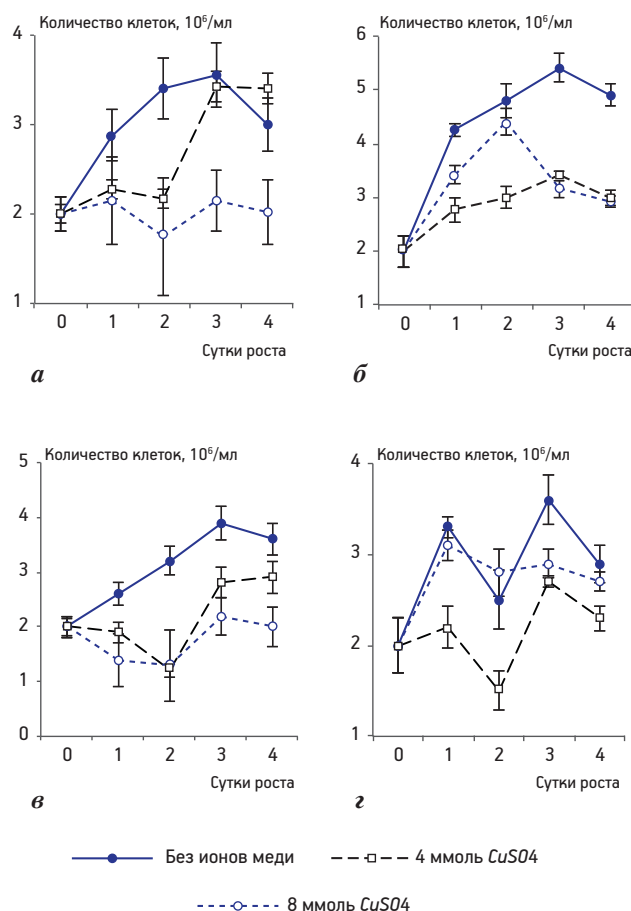


Рис. 3. Количество клеток костного мозга в первичной культуре, выделенной у интактных крыс 3 мес (а) и 20 мес (б) и у крыс 3 мес (в) и 20 мес (г) с Cu -индуцированным фиброзом печени без внесения ионов меди в культуру, после внесения 4 ммоль CuSO_4 и 8 ммоль CuSO_4 в начале культивирования

ных с Cu -индуцированным фиброзом печени. Оказалось, что если в культуру клеток КМ, выделенных у молодых животных с Cu -индуцированным фиброзом печени, вносили 4 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, то количество клеток в культуре уменьшалось на 5 и 40 % на 1-е и 2-е сутки культивирования по сравнению с их исходным количеством. Спустя 2 сут количество клеток увеличивалось на 40 % по сравнению с исходным количеством на 3-и сутки и оставалось таким же на 4-е сутки (см. рис. 3, в). Если в эту культуру клеток вносили 8 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, то на 1-е сутки количество клеток уменьшалось на 30 % и в дальнейшем не изменялось по сравнению с исходным количеством (см. рис. 3, в).

В том случае, если клетки КМ выделяли у старых животных с Cu -индуцированным фиброзом печени и к ним вносили 8 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, то количество клеток уменьшалось на 2-е сутки

и увеличивалось к 3-м суткам, а в дальнейшем достоверно не изменялось, то есть доля ингибирования роста культуры была выражена в меньшей степени, чем у молодых животных (см. рис. 3, з). После внесения в культуру клеток КМ старых животных 4 ммоль $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ наблюдали увеличение количества клеток на 1-е сутки на 55% от исходного значения и в дальнейшем оставалось на этом же уровне до 4-х суток, то есть 4 ммоль оказывали меньший эффект ингибирования, чем 8 ммоль, как и для клеток интактных животных (см. рис. 3, б, г). Следовательно, возрастзависимый характер ответной реакции клеток КМ на сульфат меди сохранялся независимо от состояния организма. В то же время, эффект ингибирования эндогенной медью пролиферации в клетках КМ, выделенных у животных с фиброзом печени, был выражен в большей степени, чем в случае выделения клеток КМ у интактных животных.

Паттерн основных морфотипов клеток костного мозга у интактных животных и у молодых и старых крыс с Си-индуцированным фиброзом печени

Как известно, популяция клеток КМ представлена чрезвычайно разнообразными типами, то есть является высоко гетерогенной [5, 23]. Такая гетерогенность по морфотипам клеток КМ обусловлена несколькими причинами: функциональной особенностью КМ (КМ — место дифференцировки

клеток крови и иммунокомпетентных клеток); различием в скорости дифференцировки и транспорта синтезированных клеток в кровотоки; функциональным «запросом» организма на тип иммунокомпетентных клеток и клеток крови; различием ответных реакций клеток КМ на факторы микроокружения.

В наших экспериментах морфологически четко было выявлено восемь основных морфотипов клеток КМ у молодых и старых животных. Количество этих морфотипов у исследуемых животных представлено на рис. 4. Оказалось, что на эти восемь морфотипов у молодых интактных животных приходилось 58,6% от всех клеток КМ (см. рис. 4, а).

Из этого следует, что остальные 41,4% — это морфологически неидентифицируемые типы клеток. В то же время, у интактных старых животных на эти восемь морфотипов приходилось 79%, то есть неидентифицированные типы клеток составили только 21% (см. рис. 4, в).

У молодых животных с фиброзом количество выявляемых морфотипов уменьшилось по сравнению с интактными животными на 13,4%, а у старых животных — увеличилось на 10% и составило 89% (см. рис. 4).

У старых животных было изменено не только число идентифицируемых морфотипов, но и соотношение между типами клеток (см. рис. 4, б, з).

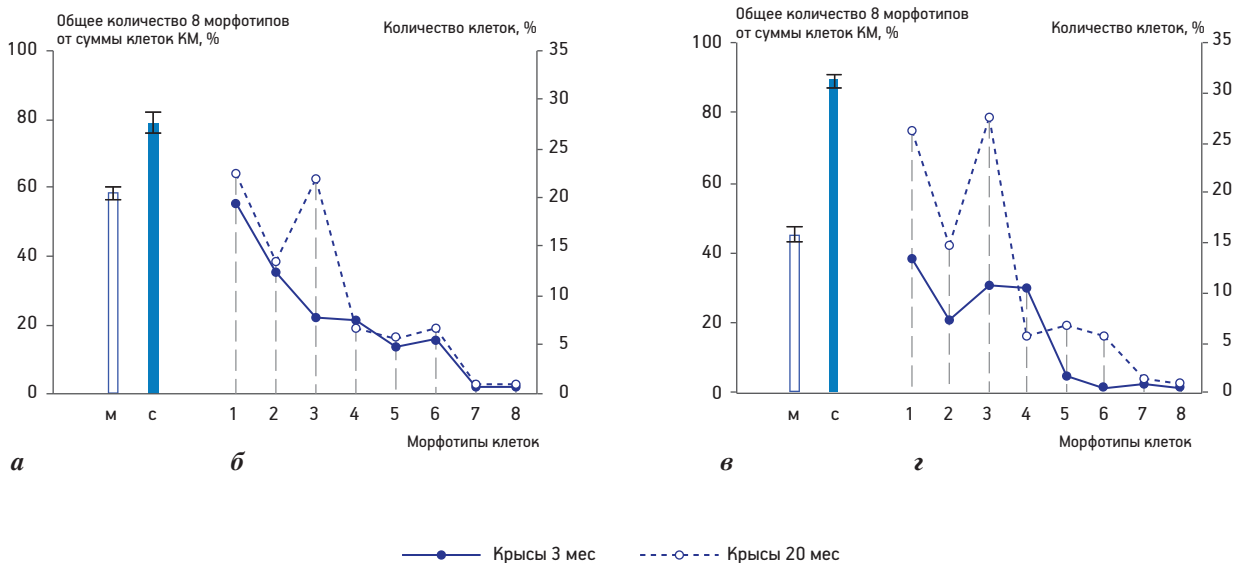


Рис. 4. Суммарное количество клеток костного мозга от общего количества выделенных у молодых (м) и старых (с) крыс; выделенных у интактных животных (а) и животных с фиброзом печени (в); паттерн морфотипов клеток костного мозга, соответственно: 1 — палочкоядерные нейтрофилы; 2 — метамиелоциты; 3 — лимфоциты; 4 — нейтрофилы сегментоядерные; 5 — миелоциты; 6 — эозинофилы; 7 — базофилы; 8 — моноциты у молодых и старых животных, для интактных групп (б) и групп с фиброзом (з)

Наибольшие различия между молодыми и старыми животными были выявлены в содержании лимфоцитов: у старых животных их было в 2,8 раза больше, чем у молодых (см. рис. 4, б).

Индукция фиброза сопровождалась изменениями паттерна морфотипов, и это было в большей степени выражено для молодых животных по сравнению с интактными старыми животными. Так, у них уменьшалось содержание палочкоядерных нейтрофилов и миелоцитов (в 2,9 раза), эозинофилов (в 11 раз) по сравнению с интактными животными того же возраста (см. рис. 4, б, г).

В то же время, у старых животных с фиброзом печени паттерн морфотипов мало изменялся по сравнению с интактными животными — значительно увеличивалось содержание палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, не изменялось содержание метамиелоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, миелоцитов, эозинофилов, базофилов и моноцитов (см. рис. 4, б, г). Следовательно, молодые и старые животные различались между собой не только по общему количеству идентифицируемых морфотипов, но и соотношением этих клеток (паттерн распределения). Развитие фиброза печени изменяло паттерн морфотипов у молодых животных и не влияло на него у старых животных.

Как известно, клетки КМ сильно различаются по продолжительности жизни — от нескольких сут до десятка лет [11, 17]. В следующей серии экспериментов определяли время сохранения некоторых типов клеток КМ в культуре, условно их «продолжительность жизни» в культуре.

«Продолжительность жизни» клеток костного мозга в первичной культуре с 0 до 96 ч у молодых и старых интактных животных и у крыс с Си-индуцированным фиброзом печени

Как известно, нейтрофилы — это самая многочисленная группа лейкоцитов. Созревание нейтрофилов осуществляется в КМ из стволовой клетки и проходит ряд стадий: промиелоцит → миелоцит → метамиелоцит → палочкоядерный нейтрофил [14].

Перевод миелоцитов в первичную культуру, где отсутствуют факторы дифференцировки, может сопровождаться быстрой деградацией. Мы полагаем, что скорость их разрушения может быть разной у молодых и старых, интактных животных и животных с Си-индуцированным фиброзом печени. Эти различия могут быть связаны с эпигенетическими особенностями, стадиями дифференцировки

и, как следствие, разными ответами на новую систему микроокружения (*in vitro*).

Оказалось, что сохранение — «продолжительность жизни» — разных типов клеток в первичной культуре, выделенных у молодых и старых животных, различалось. Так, количество миелоцитов в первичной культуре, которые были получены у молодых интактных животных, уменьшалось почти линейно и спустя 48 ч их оставалось 48 %, а через 96 ч — 39 % от исходного количества (рис. 5, а). Если же миелоциты были получены у старых животных, то их количество уменьшалось с меньшей скоростью, и спустя 48 ч их было 78 %, а через 96 ч — 66 %, то есть их было почти в 2 раза больше, чем у молодых в это же время (см. рис. 5, а).

Однако если миелоциты были получены у молодых животных с фиброзом печени, то скорость их деградации была большей, чем для клеток интактных животных. В этом случае через 96 ч после перевода их в культуру оставалось только 1,8 %, а у старых — 17 % от исходного количества (см. рис. 5, б). Следовательно, наличие фиброза печени у животных оказывало влияние на «продолжительность жизни» миелоцитов в первичной культуре.

Содержание метамиелоцитов в процессе культивирования уменьшалось с меньшей скоростью по сравнению с миелоцитами, если они были получены у интактных животных (рис. 6, а). Так, спустя 96 ч их количество для молодых интактных животных составляло 63 %, а для старых — 74 % от исходного. Наличие фиброза печени у экспериментальных животных сокращало «продолжительность жизни» метамиелоцитов в первичной культуре для молодых в 7,6 раза по сравнению с молодыми интактными и в 4,3 раза — для клеток старых животных спустя 96 ч культивирования (см. рис. 6, а, б).

Содержание палочкоядерных нейтрофилов в первичной культуре молодых и старых интактных животных уменьшалось в одинаковой степени (рис. 7, а). Наличие фиброза печени у молодых животных по-разному влияло на сохранность палочкоядерных нейтрофилов в культуре клеток молодых и старых животных (см. рис. 7, б).

Количество сегментоядерных нейтрофилов не изменялось на протяжении 96 ч культивирования, если они были получены у интактных как молодых, так и старых животных (рис. 8, а). Однако если они были получены у молодых животных с фиброзом печени, то их количество линейно

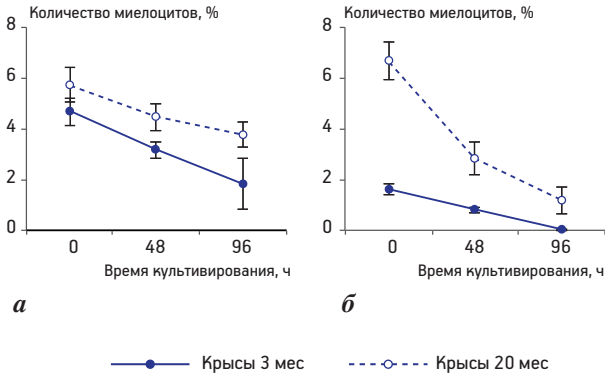


Рис. 5. Количество миелоцитов в первичной культуре, полученной от интактных животных 3 мес и 20 мес (а) и у животных 3 мес и 20 мес с Си-индуцированным фиброзом печени (б)

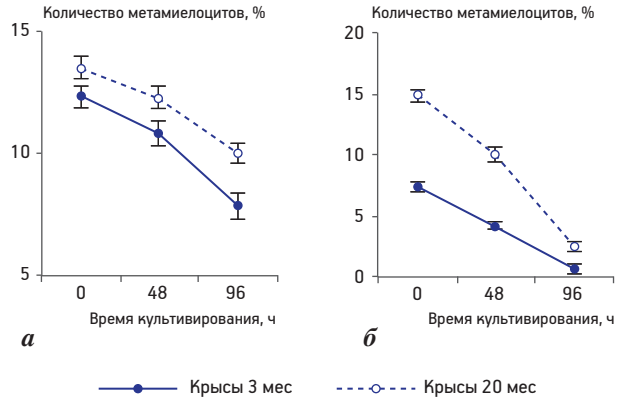


Рис. 6. Количество метамиелоцитов в первичной культуре, полученной у интактных животных 3 мес и 20 мес (а) и у животных 3 мес и 20 мес с Си-индуцированным фиброзом печени (б)

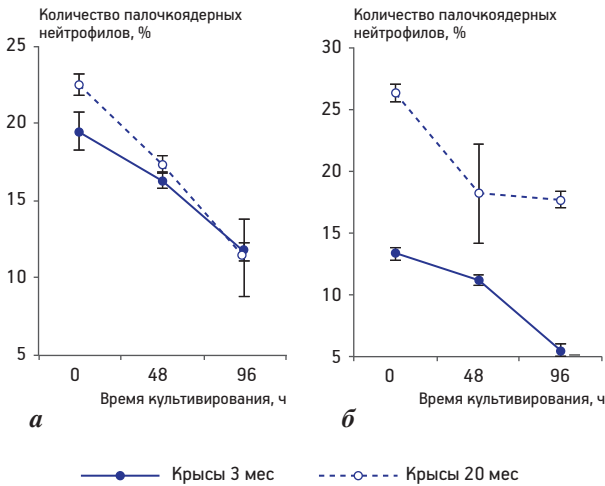


Рис. 7. Количество палочкоядерных нейтрофилов в первичной культуре, полученной у интактных животных 3 мес и 20 мес (а) и у животных 3 мес и 20 мес с Си-индуцированным фиброзом печени (б)

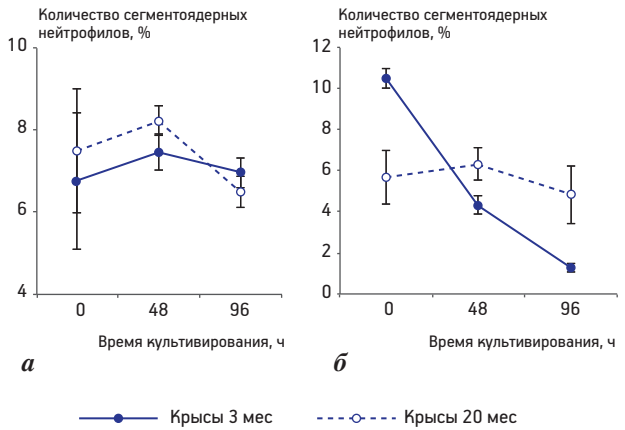


Рис. 8. Количество сегментоядерных нейтрофилов в первичной культуре, полученной у интактных животных 3 мес и 20 мес (а) и у животных 3 мес и 20 мес с Си-индуцированным фиброзом печени (б)

уменьшалось, и через 96 ч их было не более 12 % от исходного. В то же самое время, количество сегментоядерных нейтрофилов, полученных у старых животных с фиброзом, не изменялось в процессе культивирования (см. рис. 8, б).

Следовательно, «продолжительность жизни» в первичной культуре зависит от возраста животных. Наличие фиброза печени ускоряло процесс гибели различных морфотипов клеток, за исключением сегментоядерных нейтрофилов старых животных. Результаты работы могут быть сведены к двум основным положениям:

- пролиферативный потенциал клеток КМ старых животных не уступал или превосходил таковой молодых животных, по крайней мере в системе *in vitro*;

- общий пул клеток КМ старых животных отличался от такового молодых животных по клеточному составу, способности отвечать на действие экзогенных ионов меди в первичной культуре, по «продолжительности жизни» в культуре и по формированию ответа при фиброзе печени.

Эти результаты могут указывать на то, что клетки КМ в процессе онтогенеза претерпевают эпигенетические изменения, которые влияют не только на соотношение морфотипов клеток, но и на функциональные особенности в рамках выявленных морфотипов.

Рассматривая этот вопрос, мы сталкиваемся с проблемой идентификации типов клеток и их функциональными особенностями. Как уже отмечалось, клетки КМ представлены высоко гетеро-

генной динамично меняющейся популяцией. Для идентификации типов клеток чаще всего используют морфометрический метод и/или характеристику поверхностных маркеров [14]. Идентификация клеток по морфологическим особенностям позволяет выявить только те типы клеток, которые имеют выраженные и длительно сохраняющиеся структурные особенности, к примеру лимфоциты, моноциты, нейтрофилы и др.

Однако этот метод не делает возможным выявление того широкого разнообразия морфофункциональных вариантов клеток, которые существуют в КМ, в частности мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) и клетки КМ, находящиеся на разных стадиях дифференцировки.

Для идентификации ММСК используют поверхностные антигенные маркеры. Как правило, в разных лабораториях используют свои наборы таких поверхностных маркеров. Попытки разработать стандартные методы определения характеристик ММСК пока не увенчались успехом. Это может объясняться отсутствием жесткой специфичности поверхностных маркеров для клеток ММСК. Задача еще сложнее, когда речь идет не о стволовых, а о других недифференцированных типах клеток. Мы полагаем, что эти затруднения в идентификации и определении ММСК у старых и молодых животных и приводят к неоднозначности и противоречивости ответа на этот вопрос. В подобной ситуации целесообразно оценивать не столько структурный состав клеточного пула КМ, сколько функциональный ответ клеток на разнообразные воздействия, что и было реализовано в настоящей работе.

Как известно, при культивировании различных типов клеток (от бактерий до эукариот) в режиме так называемого накопительного культивирования культура проходит разные стадии: лаг-фазу, экспоненциальную фазу роста, стационарную фазу и фазу гибели [3]. Общепринято, что интенсивность роста культуры всегда сменяется стационарной фазой, во время которой «выравниваются» два параллельно протекающих процесса (пролиферации и деградации), а преобладание процесса гибели над пролиферацией приводит к гибели культуры [9].

Следовательно, кривая роста культуры отражает взаимосвязь процессов появления новых клеток и уменьшения количества клеток за счет апоптоза, некроза или аутофагии клеток в культуре. Из этого следует, что большая интенсивность роста культуры клеток КМ старых интактных животных мо-

жет быть обусловлена как большим количеством делящихся клеток в культуре, так и меньшим количеством гибнущих клеток в культуре.

Определение скорости «гибели» миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в первичной культуре клеток КМ, полученных у интактных молодых и старых животных, показало, что у старых животных они имеют несколько большую «продолжительность жизни», чем клетки молодых животных в системе *in vitro*.

Необходимо обратить внимание на большие различия в «продолжительности жизни» клеток КМ старых и молодых животных с фиброзом печени. Так, если у молодых животных с фиброзом печени на 96-й час культивирования выявилось только 1,8 % миелоцитов и 8,2 % метамиелоцитов, то у старых животных — 17 и 17 %, соответственно. Следовательно, клетки КМ, полученные у животных с фиброзом печени, гораздо быстрее разрушались в первичной культуре, чем клетки, полученные у интактных животных. Однако это происходило с различной скоростью для разных типов клеток и животных разного возраста. Скорость разрушения клеток КМ у молодых животных была выше как для клеток, полученных у интактных животных, так и для клеток КМ, полученных у животных с фиброзом печени.

Так, если количество миелоцитов молодых животных с фиброзом за 96 ч культивирования уменьшалось в 21 раз быстрее, чем в случае интактных клеток КМ в культуре, то старых — только в 3,8 раза. Эта разница для метамиелоцитов, выделенных у молодых животных с фиброзом печени, была больше в 7,6 раза, а у старых — в 4,3. Медленнее разрушались палочкоядерные нейтрофилы у молодых животных с фиброзом печени, а у старых их разрушение не отличалось от него же у интактных животных. В случае сегментоядерных нейтрофилов у молодых животных они разрушались быстрее в 7,2 раза и только в 1,2 раза — у старых животных.

Следовательно, на «продолжительность жизни» клеток КМ в первичной культуре влияют:

- возраст донора (у старых животных клетки КМ сохраняются дольше в первичной культуре);
- наличие фиброза печени (ускоряет процесс гибели, но в большей степени у молодых животных);
- стадии дифференцировки по срокам хранения реализуются в такой последовательности: сегментоядерные нейтрофилы → палочкоядерные ней-

трофилы и метамиелоциты → миелоциты для молодых и для старых животных.

Вместе с тем, меньшая скорость элиминации клеток КМ в культуре, полученных у старых животных, не позволяет объяснить двукратное увеличение количества клеток с 1-х по 3-и сутки роста по сравнению с таковыми молодых животных.

В процессе онтогенеза не столько уменьшается пул стволовых клеток, сколько происходят эпигенетические изменения в клетках КМ. Эти эпигенетические изменения обусловлены фундаментальными свойствами темпоральности функционирования, что проявляется в накоплении метаболической памяти. И такие клетки приобретают новые характеристики и по-иному, по сравнению с клетками молодых животных, реагируют на одни и те же воздействия.

Выводы

Способность клеток костного мозга к пролиферации в первичной культуре у старых животных не уступала или превосходила таковую у молодых.

Наличие фиброза печени сопровождалось уменьшением общего количества идентифицированных типов клеток (палочкоядерные нейтрофилы, метамиелоциты, лимфоциты, нейтрофилы сегментоядерные, миелоциты, эозинофилы, базофилы, моноциты) у молодых животных и увеличением количества неидентифицированных типов клеток, а у старых животных — напротив, увеличивалось количество идентифицированных и уменьшалось количество неидентифицированных типов клеток.

Культуры клеток костного мозга молодых и старых животных по-разному отвечали на внесение экзогенных ионов: они в большей степени ингибировали пролиферацию у молодых животных с проявлением прямой дозовой зависимости. Клетки костного мозга старых животных менее чувствительны к ионам меди, и для них была выявлена обратная дозовая зависимость как для интактных, так и для животных с фиброзом печени.

«Продолжительность жизни» клеток костного мозга в первичной культуре старых животных была большей, чем у молодых животных. Наличие фиброза ускоряло скорость гибели клеток в первичной культуре как у молодых, так и у старых животных.

Литература

1. Божков А., Никитченко Ю., Климова Е. и др. Молодые и старые животные используют различные метаболичес-

кие стратегии адаптации к *Cu*-индуцированному фиброзу печени // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 4. С. 555–566.

2. Amend S., Valkenburg K., Pienta K. Murine hind limb long bone dissection and bone marrow isolation // J. Visualized Exp. 2016. Vol. 2016. P. 12–22.

3. Bara J., Richards R., Alini M. et al. Concise review: Bone marrow-derived mesenchymal stem cells change phenotype following in vitro culture: implications for basic research and the clinic // Stem Cells. 2014. Vol. 32. P. 1713–1723.

4. Beane O., Fonseca V., Cooper L. et al. Impact of aging on the regenerative properties of bone marrow-, muscle-, and adipose-derived mesenchymal stem/stromal cells // Plos One. 2014. Vol. 12. P. e115963.

5. Berardis S., Sattwika P., Najimi M. et al. Use of mesenchymal stem cells to treat liver fibrosis: Current situation and future prospects // Wrlld J. Gastroenterol. 2015. Vol. 21. P. 742–758.

6. Bianco P., Cao X., Frenette P. et al. The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal stem cells into medicine // Nature Med. 2013. Vol. 19. P. 35–42.

7. Blach-Olszewska Z., Zaczynska E., Gustaw-Rotherberg K. et al. The innate immunity in Alzheimer disease — relevance to pathogenesis and therapy // Curr. pharm. Des. 2015. Vol. 21. P. 3582–3588.

8. Bozhkov A., Kabachnyy V., Kolot N. et al. Hormesis effect and the influence of ultra-low glycosides doses on the bone marrow cells proliferative activity in culture // J. Harmonized Res. Pharm. 2014. Vol. 3. P. 154–166.

9. Cooper S. Distinguishing between linear and exponential cell growth during the division cycle: Single-cell studies, cell-culture studies, and the object of cell-cycle research // Theor. Biol. Med. Modelling. 2006. Vol. 3. P. 10.

10. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official J. Europ. Union. 1986. № L 358. P. 0001–0028.

11. Ding L., Morrison S. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches // Nature. 2013. Vol. 495. P. 231–235.

12. Franco R. Measurement of red cell lifespan and aging // Med. Hemother. 2012. Vol. 39. P. 302–307.

13. Gekas C., Graf T. CD41 expression marks myeloid-biased adult hematopoietic stem cells and increases with age // Blood. 2013. Vol. 121. P. 4463–4472.

14. Glasser L., Fiederlein R. Functional differentiation of normal human neutrophils // Blood. 1987. Vol. 69. P. 937–944.

15. Ideker T., Galitski T., Hood L. A new approach to decoding life: systems biology // Ann. Rev. Genomics Hum. Genet. 2001. Vol. 2. P. 343–372.

16. Kim J.M., Kim J., Kim Y. et al. Comparative secretome analysis of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells during osteogenesis // J. cell. Physiol. 2013. Vol. 228. № 1. P. 216–224.

17. Kolaczowska E., Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation // Nat. Rev. Immunol. 2013. Vol. 13. № 3. P. 159–175.

18. Krause D., Fulzele K., Catic A. et al. Differential regulation of myeloid leukemias by the bone marrow microenvironment // Nature Med. 2013. Vol. 19. P. 1513–1517.

19. Krause D., Theise N., Collector M. et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell // Cell. 2001. Vol. 105. № 3. P. 369–377.

20. Lewandowski K., Kowalik M., Pawlaczyk R. et al. Microscopic examination of bone marrow aspirate in healthy adults — comparison of two techniques of slide preparation // Int. J. Lab. Hematol. 2012. Vol. 34. P. 254–261.

21. McCracken J., Allen R. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease // J. Cell Death. 2014. Vol. 7. P. 15–23.

22. Mezey E., Chandross K., Harta G. et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow // *Science*. 2000. Vol. 290. № 5497. P. 1779–1782.
23. Morrison S., Scadden D. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells // *Nature*. 2014. Vol. 505. P. 327–334.
24. Orlic D., Kajstura J., Chimenti S. et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium // *Nature*. 2000. Vol. 410. P. 701–705.
25. Pang W., Price E., Sahoo D. et al. Human bone marrow hematopoietic stem cells are increased in frequency and myeloid-biased with age // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 2011. Vol. 108. P. 20012–20017.
26. Pellicoro A., Ramachandran P., Iredale J. et al. Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ // *Nat. Rev. Immunol.* 2014. Vol. 14. P. 181–194.
27. Rando T., Wyss-Coray T. Stem cells as vehicles for youthful regeneration of aged tissues // *J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2014. Vol. 69. P. 39–42.
28. Rossi D., Bryder D., Zahn J. et al. Cell intrinsic alterations underlie hematopoietic stem cell aging // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 2005. Vol. 102. № 26. P. 9194–9199.
29. Sharpless N., DePinho R. How stem cells age and why this makes us grow old // *Nat. Rev. Molec. Cell Biol.* 2007. Vol. 8. P. 703–713.
30. Sudo K., Ema H., Morita Y. et al. Age-associated characteristics of murine hematopoietic stem cells // *J. exp. Med.* 2000. Vol. 192. № 9. P. 1273–1280.
31. Zhou S., Greenberger J., Epperly M. et al. Age-related intrinsic changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and their differentiation to osteoblasts // *Aging Cell*. 2008. Vol. 7. P. 335–343.

Adv. geront. 2017. Vol. 30. № 3. P. 457–467

*A. I. Bozhkov, S. L. Ohienko, Yu. A. Kuznetsova, A. Yu. Bondar', V. P. Marchenko,
M. S. Gumennaya*

**DONOR AGE AFFECTS ON THE «BEHAVIOR» AND THE SENSIBILITY BONE MARROW CELLS
IN ON COPPER ION OF THE PRIMARY CULTURE**

Research Institute of Biology, V. N. Karazin National University of Kharkov, 4, Svobody sq., Kharkov, Ukraine,
61022; e-mail: bozhkov@univer.kharkov.ua

The changes of bone marrow cells (BMC) number in the primary culture from 0 to 96 hours, the pattern (the distribution of cells) of cells morphotypes and «lifespan» (the time of cell life after isolation) of myelocytes, metamyelocytes, band and segmented neutrophils, isolated of the young (3 months) and old (20 months) animals, were investigated. The number of the BMC obtained from intact old animals increased faster in primary culture, than from young animals. The Cu-induced fibrosis had different influence on the rate of BMC culture growth of old and young animals. The adding of 4 mM and 8 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ in the BMC culture of young and old animals resulted in a dose-dependent inhibition of growth rate of young animal cells. If copper ions were added into the culture of BMC of old animals, the decreased of the BMC number was described less than for cells of young animals. The adding of 8 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ inhibited proliferation less, than the adding of 4 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. The Cu-induced liver fibrosis had accelerated the BMC rate death of both old and young animals. However, this effect was more pronounced in young animals. It is suggested, that during the ontogenesis the BMC undergo such epigenetic changes, which change functional properties.

Key words: bone marrow cells, age, liver fibrosis, primary culture

КОНКУРС НА ЛУЧШУЮ РАБОТУ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ РОССИИ ПО ГЕРОНТОЛОГИИ В 2017 г.

Президиум правления Геронтологического общества РАН объявляет прием работ на конкурс на лучшую работу молодых ученых по геронтологии в 2017 г. На конкурс представляются опубликованные в текущем году в отечественных и зарубежных журналах, сборниках, книгах работы по физиологии, биохимии, биофизике, молекулярной биологии, генетике старения, а также по клинической геронтологии и гериатрии, психологии, социологии и демографии, в которых отражены вопросы геронтологии и гериатрии.

К рассмотрению принимаются работы, в которых ведущим автором является исследователь в возрасте до 35 лет.

На конкурс представляются: отпечатки или ксерокопии опубликованной работы (работ), анкета участника конкурса: фамилия, имя, отчество; дата рождения; место работы (учреждение, отдел, лаборатория); должность; список научных работ.

В случае, если у работы несколько соавторов, анкета представляется на каждого соискателя премии. Работа должна быть сопровождена письмом научного руководителя, рекомендующего её на конкурс, в котором отражен вклад соискателя (соискателей) в данное исследование (если работа выполнена несколькими авторами).

Все документы отправлять до 31 декабря 2017 г. на имя президента Общества чл.-кор. РАН В.Н. Анисимова по адресу:

197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный-2,
ул. Ленинградская, 68, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова —
с пометкой на конверте «На конкурс молодых ученых».

Решение о присуждении премии будет объявлено не позднее 31 марта 2018 г.